

Protective Effect of P-Coumaric Acid against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity and Hepatotoxicity in Rats

Zeynab Mohamadi Yarijani¹,

Houshang Najafi²,

Seyed Hamid Madani³

¹ MSc in Physiology, Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

² Associate Professor, Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

³ Professor, Molecular Pathology Research Center, Imam Reza Hospital, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

(Received December 8, 2019 ; Accepted April 12, 2020)

Abstract

Background and purpose: Cisplatin is used in chemotherapy for cancer patients. But, it has adverse effects on some organs, including the kidney and liver. P-coumaric acid is a polyphenolic substance with multiple biological properties. The present study aimed to investigate the effect of p-coumaric acid on renal and hepatic side effects of cisplatin.

Materials and methods: This experimental study was performed in 21 male rats that were randomly divided into three groups. In the sham group, 20% ethanol was gavaged for 7 days. The experimental group I received 20% ethanol for 7 days + a single dose of cisplatin (8 mg/kg) at day 5. The experimental group II received cisplatin (8 mg/kg at day 5) + p-coumaric acid (100 mg/kg/day) for 7 days. The functional disturbances of kidney and liver were assessed by measuring the blood levels of creatinine, urea-nitrogen, AST, ALT, and ALP. Also, measuring MDA and FRAP levels in kidney and liver tissues were used to assess oxidative stress. The tissue damages were also assessed by studying H&E stained slides.

Results: Cisplatin administration increased the concentrations of creatinine, urea-nitrogen, AST, ALT, ALP, MDA, tissue damages, and decreased FRAP. Application of p-coumaric acid led to complete or relative improvements in functional parameters of kidney and liver, and reduced tissue damages and MDA level. The FRAP level was found to increase by the p-coumaric acid.

Conclusion: P-coumaric acid demonstrated a protective effect against the side effects of cisplatin in the kidneys and liver.

Keywords: cisplatin, p-coumaric acid, nephrotoxicity, hepatotoxicity, oxidative stress

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 30 (185): 1-13 (Persian).

* **Corresponding Author: Houshang Najafi** - Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran (E-mail: hnajafi@kums.ac.ir)

اثر محافظتی p-کوماریک اسید بر آسیب های کلیوی و کبدی ناشی از سیس پلاتین در مدل رت

زینب محمدی یاریجانی^۱

هوشنگ نجفی^۲

سید حمید مدنی^۳

چکیده

سابقه و هدف: سیس پلاتین در شیمی درمانی برای بیماران سرطانی مورد استفاده قرار می گیرد. اما مصرف آن با عوارض جانبی در اندام های مختلف از جمله کلیه و کبد همراه است. p-کوماریک اسید یک ترکیب پلی فنولی با خواص متعدد است. هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر p-کوماریک اسید بر اثرات جانبی سیس پلاتین در کلیه و کبد است.

مواد و روش ها: این مطالعه تجربی بر روی ۲۱ سر رت نر و در سه گروه انجام شد. در گروه شاهد اتانول ۲۰ درصد به مدت ۷ روز گاوژ شد. گروه سیس پلاتین مانند گروه شاهد بود اما تک دوز سیس پلاتین (۸ mg/kg) را در روز پنجم دریافت کرد. در گروه سوم (سیس پلاتین به علاوه p-کوماریک اسید) علاوه بر دریافت سیس پلاتین در روز پنجم، p-کوماریک اسید با دوز ۱۰۰ mg/kg/day به مدت ۷ روز گاوژ شد. اختلالات عملکردی کلیه و کبد بوسیله اندازه گیری غلظت کراتینین، اوره- نیتروژن و آنزیم های کبدی AST، ALT و ALP پلازما ارزیابی شد. جهت ارزیابی استرس اکسیداتیو، سطح مالون دی آلدئید (MDA) و قدرت آنتی اکسیدانی توتال (FRAP) در بافت کلیه و کبد اندازه گیری شد. آسیب های بافتی از طریق مطالعه اسلایدهای رنگ آمیزی شده با H&E بررسی شد.

یافته ها: سیس پلاتین سبب افزایش سطح کراتینین، اوره- نیتروژن، AST، ALT و ALP و MDA و آسیب های بافتی و کاهش FRAP در کلیه و کبد شد. p-کوماریک اسید منجر به بهبود نسبی یا کامل پارامترهای عملکردی کلیه و کبد، کاهش آسیب های بافتی و سطح MDA و افزایش سطح FRAP شد.

استنتاج: گاوژ p-کوماریک اسید قادر به محافظت از کلیه و کبد در برابر اثرات جانبی سیس پلاتین می باشد.

واژه های کلیدی: سیس پلاتین، p-کوماریک اسید، نفروتوکسیسیته، هپاتوتوکسیسیته، استرس اکسیداتیو.

مقدمه

سیس پلاتین (سیس دی کلرو دی آمین پلاتینیوم) و برخی دیگر از تومورها استفاده می شود (۱). با وجود این نشان داده شده که این دارو دارای عوارض جانبی متعددی از جمله بیضه، تخمدان، مثانه، ریه، سر و گردن

E-mail: hnajafi@kums.ac.ir

مؤلف مسئول: هوشنگ نجفی - کرمانشاه: دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی

۱. کارشنای ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۲. دانشیار، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۳. استاد، مرکز تحقیقات پاتولوژی ملکولی، بیمارستان امام رضا، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۱۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۸/۹/۲۵ تاریخ تصویب: ۱۳۹۹/۱/۲۴

هپاتوتوکسیسیته (۵،۴) و نورو توكسیسیته (۶) می باشد. اگرچه مکانیسم دقیق نفرو توكسیسیته ناشی از سیس پلاتین هنوز به طور کامل شناخته نشده است، اما مشخص شده که استرس اکسیداتیو نقش مهمی بازی می کند (۷). استرس اکسیداتیو با افزایش سطح آنیون سوپراکسید و رادیکال های هیدروکسیل و ایجاد گونه های فعال اکسیژن (ROS) می تواند به پروتئین های سلولی، چربی ها و DNA آسیب برساند (۸). همچنین مشخص شده که سیس پلاتین با فعال کردن سیتوکین ها و کموکین ها و در نتیجه ایجاد التهاب باعث اختلال در عملکرد کلیه ها می شود، به طوری که اینترلوکین-۱۰ سبب محافظت از کلیه در برابر آسیب های ناشی از ایسکمی و سیس پلاتین می گردد (۹). در کلیه سیس پلاتین در قطعه S3 توپول پروگزیمال تجمع پیدا می کند و باعث کاهش میزان فیلتراسیون گلومرولی و توانایی تغلیظ ادرار، تغییر حجم ادرار (۱۰) و در نتیجه افزایش غلظت اوره و کراتینین خون می شود (۱۱). همچنین مشخص شده که سیس پلاتین می تواند باعث آسیب به کبد نیز شود (۵،۴). اطلاعات خیلی کمی در مورد مکانیسم ایجاد آسیب کبدی متعاقب به کارگیری سیس پلاتین وجود دارد، اما مشخص شده که استرس اکسیداتیو از طریق ایجاد گونه های فعال اکسیژن و کاهش سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در آن مشارکت دارد (۱۲). علاوه بر این، آسیب به ساختار و عملکرد میتوکندری، آپوپتوز، اختلال در هومئوستاز Ca^{2+} و القای بیان ژن آنزیم های پیش التهابی، مانند COX-2 و نیتریک اکسید سنتتاز قابل القا (iNOS)، می تواند نقش مهمی در مکانیسم هپاتوتوکسیسیته القا شده توسط سیس پلاتین ایفا نماید (۵). سیس پلاتین باعث افزایش پروکسیداسیون لیپیدهای غشایی در کبد (افزایش MDA)، و افزایش آنزیم های کبدی ALT و AST نیز می شود (۱۳،۱۴).

P-کوماریک اسید (4-hydroxyphenyl-2-) propenoic acid) یک ترکیب پلی فنولی است که از سینامیک اسید و توسط آنزیم ۴-سینامیک اسید

هیدروکسیلاز سنتز می گردد (۱۵،۱۶). منبع اصلی p-کوماریک اسید در میوه ها (مثل سیب و گلابی)، سبزیجات (مثل لوبیا، سویا، سیب زمینی و گوجه فرنگی)، نوشیدنی ها (مثل چای و قهوه) و شکلات است (۱۷). مطالعات In vivo و In vitro متعددی بر روی p-کوماریک اسید انجام شده است و نشان داده اند که دارای خواص مختلفی از جمله مهار تجمع پلاکتی (۱۸)، ممانعت از اکسیداسیون لیپوپروتئین های با دانسته پایین (LDL) از طریق حذف رادیکال های آزاد (۱۹)، محافظت از روده کوچک در برابر التهاب ناشی از دکستران سولفات سدیم (۲۰)، اثرات ضد التهابی (۲۱،۲۲)، محافظت از قلب در برابر استرس اکسیداتیو القا شده توسط دوکسورویسین (۲۳)، محافظت از کلیه در برابر کادمیوم کلراید (۲۴) و کاهش بیان سیتوکین های پیش التهابی (TNF α , IL-1b, IL-6, IL-17) و آنزیم های التهابی (COX-2 و iNOS) است (۲۵-۲۷).

همچنین، Akdemir و همکاران در مطالعه ای نشان دادند p-کوماریک اسید به واسطه خواص آنتی اکسیدانی خود سبب کاهش آسیب های سلولی ناشی از سیس پلاتین در کلیه و کبد می شود (۱۴). با وجود این، در این مطالعه اثرات محافظت کنندگی p-کوماریک اسید در برابر اختلالات عملکردی ناشی از سیس پلاتین در کلیه و کبد مورد بررسی قرار نگرفته است. لذا مطالعه حاضر به نحوی طراحی شد تا با اندازه گیری پارامترهای عملکردی، استرس اکسیداتیو و آسیب های بافتی، اثرات محافظت کنندگی p-کوماریک اسید در برابر سیس پلاتین در کلیه و کبد را مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی بر روی ۲۱ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار و در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم انجام شد. حیوانات در شرایط یکسان و کنترل شده از نظر میزان نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و

دمای محیط ($23 \pm 1^\circ \text{C}$) و در داخل قفس پلی‌پروپیلن نگهداری شدند و در طول آزمایش دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد داشتند. در هر گروه حداقل تعداد حیوانات مورد نیاز در نظر گرفته شد و در صورتی که در طول آزمایش هر کدام از حیوان‌ها علائمی که بیانگر درد و رنج ناخواسته باشد را نشان می‌دادند (شامل ناتوانی، کاهش تحرک و حالت غیر نرمال) از آزمایش خارج شده و بوسیله بیهوشی عمیق معدوم می‌شدند. تمام آزمایشات و پروسیجرها بر اساس اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد و تکنیک مطالعه نیز توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه مورد تصویب قرار گرفت (Approval number: IR.KUMS.REC.1397.272).

پروتکل آزمایش: حیوانات مورد آزمایش به طور تصادفی به ۳ گروه تقسیم شدند. گروه اول (شاهد) اتانول ۲۰ درصد را به مدت ۷ روز بصورت گاوآژ دریافت کرد و در روز پنجم به جای سیس پلاتین، نرمال سالین به صورت داخل صفاقی تزریق شد. گروه دوم گروه دریافت کننده سیس پلاتین بود که تک دوز سیس پلاتین (8 mg/kg) را در روز پنجم دریافت کرد (۱۳) و از روز اول تا هفتم اتانول ۲۰ درصد به صورت گاوآژ داده شد. گروه سوم گروه دریافت کننده سیس پلاتین بعلاوه p-کوماریک اسید بود که به مدت ۷ روز p-کوماریک اسید را با دوز 100 mg/kg در اتانول ۲۰ درصد به صورت گاوآژ دریافت کرد (۲۳) و در روز پنجم تک دوز سیس پلاتین (8 mg/kg) به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

در پایان روز هفتم حیوان‌ها با استفاده از پنتوباریتال سدیم (50 mg/kg) بیهوش شدند و شکم آن‌ها باز شد. ابتدا یک نمونه خون از آئورت نزولی گرفته شد و سپس کلیه‌ها و کبد خارج شدند. کلیه راست و مقداری از بافت کبد به صورت آبی در نیتروژن مایع فریز شد و جهت بررسی وضعیت استرس اکسیداتیو، از طریق اندازه‌گیری سطح مالون دی‌آلدهید (MDA) و قدرت

آنتی‌اکسیدانی توتال بافت (FRAP)، به فریزر -70°C درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. آنگاه کلیه چپ و یک نمونه از بافت کبد جهت بررسی آسیب بافتی و اینفیلتراسیون لکوسیتی در محلول فرمالین ۱۰ درصد نگهداری گردید تا با هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ آمیزی شود (۱۳). در پایان آزمایش نیز حیوان‌ها با استفاده از بیهوشی عمیق معدوم شدند.

اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی: جهت ارزیابی عملکرد کلیه، غلظت کراتینین و اوره-نیتروژن پلاسما با استفاده از اتوانالایزر اندازه‌گیری شد (Biosystem, Cat no: 28514, 28101). همچنین جهت بررسی اختلالات عملکردی کبد، آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) اندازه‌گیری شدند (Biosystem, Cat no: 33571, 33322, 33371).

اندازه‌گیری میزان استرس اکسیداتیو: جهت بررسی وضعیت استرس اکسیداتیو سطح مالون دی‌آلدهید (MDA) که محصول نهایی پروکسیداسیون لیپیدهای غشایی توسط گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد و همچنین FRAP که بیانگر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی توتال بافت است، به روش رنگ سنجی در بافت کلیه و کبد همان گونه که در مطالعات قبلی توضیح داده شده است (۲۸، ۱۳)، اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه، نحوه اندازه‌گیری MDA این گونه بود که پس از هموژنیزه کردن بافت در بافر فسفات، اسید استیک ۲۰ درصد، تیوباریتوریک اسید $0/8$ درصد، سولفات دئودوسیل سدیم $8/1$ درصد و عصاره بافتی به همه لوله‌های آزمایش اضافه شد و به مدت ۶۰ دقیقه در water bath با دمای 95°C گرما داده شد. کمپلکس رنگی حاصل با افزودن ۱- بوتانل استخراج و جذب نوری آن توسط اسپکتروفتومتر در طول موج 532 nm اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری سطح FRAP نیز ابتدا معرف FRAP تازه تهیه شد که حاوی محلول TPTZ 10 میلی‌مولار در اسید کلریدریک 40 میلی‌مولار، FeCl_3 20 میلی‌مولار و بافر استات $0/3$

یافته ها

تاثیر p-کوماریک اسید بر اختلالات عملکردی کلیوی و کبدی ناشی از سیس پلاتین

همان گونه که در جدول شماره ۱ مشاهده می شود سیس پلاتین باعث افزایش غلظت کراتینین و اوره-نیترژن پلاسما نسبت به گروه شاهد گردید ($P < 0.001$) که استفاده همزمان سیس پلاتین و p-کوماریک اسید توانست باعث کاهش معنی دار غلظت کراتینین و اوره-نیترژن پلاسما نسبت به گروه سیس پلاتین شود ($P < 0.05$). با وجود این، همچنان غلظت کراتینین ($P < 0.001$) و اوره-نیترژن پلاسما ($P < 0.001$) در گروه دریافت کننده همزمان سیس پلاتین و p-کوماریک اسید بیش تر از گروه شاهد بود.

جدول شماره ۱: تاثیر گاوژ p-کوماریک اسید بر تغییرات پارامترهای عملکردی کلیه و آنزیم های کبدی ناشی از سیس پلاتین

پارامتر	شاهد	سیس پلاتین	گروه های آزمایشی سیس پلاتین + کوماریک اسید
کراتینین (mg/dl)	0.48 ± 0.04	1.43 ± 0.14 ***	1.03 ± 0.03 **†
اوره نیترژن (mg/dl)	15.1 ± 0.7	82.6 ± 1.3 ***	62.6 ± 1.6 ***†
AST (unit/l)	69.5 ± 4.2	85.0 ± 5.5 *	72.4 ± 4.9 †
ALT (unit/l)	50.5 ± 2.8	79.9 ± 4.3 ***	55.8 ± 2.9 †††
ALP (unit/l)	278.7 ± 40.0	569.2 ± 6.1 ***	431.6 ± 24.3 *††

مقادیر به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار برای کراتینین، اوره-نیترژن، آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در گروه های تحت مطالعه ($n=7$ در هر گروه).

$P < 0.05$ * و $P < 0.01$ ** و $P < 0.001$ *** در مقایسه با گروه شاهد.
 $P < 0.05$ † و $P < 0.01$ †† و $P < 0.001$ ††† در مقایسه با گروه سیس پلاتین

همچنین، سیس پلاتین باعث افزایش معنی دار سطح AST، ALT و ALP پلاسما در مقایسه با گروه شاهد شد (جدول شماره ۱).

گاوژ p-کوماریک اسید با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن توانست منجر به کاهش قابل ملاحظه سطح هر سه آنزیم در مقایسه با گروه دریافت کننده سیس پلاتین به تنهایی گردد. به طوری که سطح AST و ALT به حدود مقدار آن ها در گروه شاهد رسید و

مولار بود. آنگاه عصاره بافتی اضافه شد و به دمای 37°C رسانده شد. سطح FRAP با اندازه گیری جذب نوری کمپلکس حاصل در طول موج 593 nm محاسبه گردید. ارزیابی آسیب های بافتی کلیه و کبد: جهت ارزیابی آسیب های بافتی کلیه و کبد، برش های رنگ آمیزی شده با همتو کسلیلین و اتوزین تهیه شد و توسط میکروسکپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. برای این منظور بافت کلیه و کبد تحت مراحل تثبیت، آبگیری، شفاف سازی و قالب گیری قرار گرفت و سپس برش های با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شد. سپس برش ها با همتو کسلیلین و اتوزین رنگ آمیزی شدند و با میکروسکپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. آسیب های بافتی کلیه از نظر بزرگ شدن اندازه فضای بومن، نکروز توبولی، احتقان عروقی، کست های پروتئینی داخل توبولی، ادم دور عروقی و اینفیلتراسیون لکوسیت ها در ۱۰ فیلد میکروسکوپ و با عدسی چشمی ۴۰ بررسی شد. همچنین میزان اینفیلتراسیون لکوسیت ها، فیروز سلولی، اتساع سینوزوئیدی و احتقان عروقی در اسلایدهای کبد مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس درصدی از کل ناحیه مورد مطالعه در زیر میکروسکوپ که دچار آسیب شده بود مورد محاسبه قرار گرفت. این درصدها به این صورت درجه بندی شدند که به نبود آسیب درجه صفر، ۱-۲۰ درصد درجه ۱، ۲۱-۴۰ درصد درجه ۲، ۴۱-۶۰ درصد درجه ۳، ۶۱-۸۰ درصد درجه ۴ و ۸۰ درصد به بالا درجه ۵ تعلق گرفت. سپس تمام آسیب ها جمع و درجه کل آسیب هیستوپاتولوژیک محاسبه شد (۲۹).

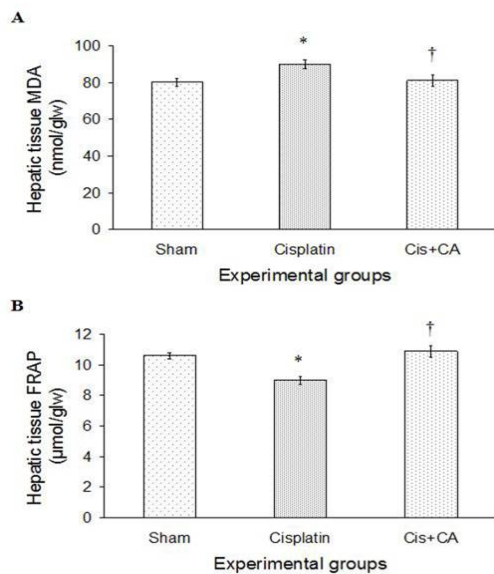
آنالیز آماری: داده ها توسط نرم افزار آماری SPSS 23 مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. جهت مقایسه دیتاهای مربوط به عملکرد کلیه و کبد و همچنین استرس اکسیداتیو از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون Tukey post hoc استفاده شد. جهت مقایسه درجه هیستوپاتولوژیک کل در کلیه و کبد نیز از تست Non-parametric Kruskal-Wallis multiple comparison استفاده گردید. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی داری داده ها در نظر گرفته شد.

فاقء ءفاوء معنى ءار با يكءىكر بوءنء، اما سطح ALP همچنان به طور معنى ءار بالا ءر از مقءار آن ءر گروه شاهد بوء ($P < 0.05$).

ءاءىر p-كومارىك اسىء بر پروكسىءاسىون لىپىءءا و ظرفىء آءنى اكسىءانى ءو ءال باءء كللىه و كبء

نموءار شماره ۱ نشان مى ءءء كه مىزان پروكسىءاسىون لىپىءءا (MDA) ءر باءء كللىه گروه ءرىاءء كنءنءه سىس پلاءىن به طور معنى ءارى نسبء به گروه شاهد افزائش يافءه اسء ($P < 0.01$). همچنىن، ظرفىء آءنى اكسىءانى ءو ءال (FRAP) باءء كللىه ءر گروه ءرىاءء كنءنءه سىس پلاءىن به طور معنى ءارى كم ءر از گروه شاهد اسء ($P < 0.05$). ءرىاءء p-كومارىك اسىء با سىس پلاءىن ءوانسء مانع افزائش MDA و كاهش FRAP ءوسء سىس پلاءىن كرءء، كه ءنها كاهش MDA نسبء به گروه سىس پلاءىن معنى ءار بوء ($P < 0.05$).

به علاوه، به كارگىرى سىس پلاءىن سبب افزائش معنى ءار مىزان MDA و كاهش FRAP باءء كبء شء (نموءار شماره ۲). مصرف همزمان p-كومارىك اسىء و سىس پلاءىن ءوانسء سطح MDA باءء كبء را كاهش و FRAP را افزائش ءءء ($P < 0.05$). به طورى كه هرءو مءغىر به سطح مقاءىر آنءا ءر گروه شاهد رسىءنء و فاقد ءفاوء معنى ءار با آن بوءنء.



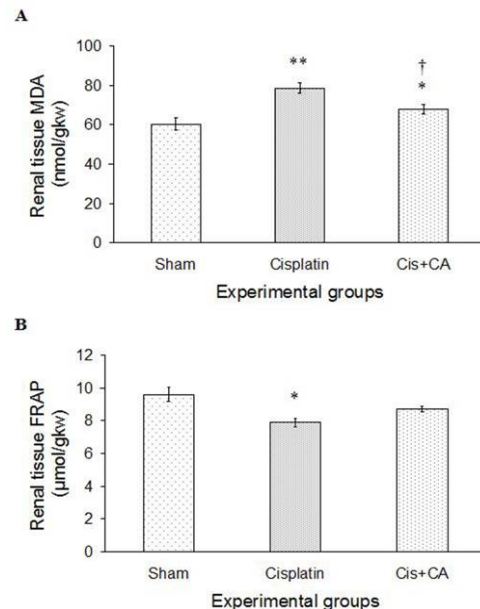
نموءار شماره ۲: مىانگىن $\pm$ خطاى معىار برائى مقاءىر مالون ءى آلءهىء (A) و ءءرء اءىا كنءنءگى (B) باءء كبء ءر گروه ءرىاءء كنءنءه نرمال سالىن (sham)، سىس پلاءىن (Cis) و ىا سىس پلاءىن به علاوه p-كومارىك اسىء (Cis+CA)، $n=7$ ءر هر گروه.

* $P < 0.05$ ءر مقابسه با گروه شاهد

† $P < 0.05$ ءر مقابسه با گروه سىس پلاءىن

ءاءىر p-كومارىك اسىء بر آسىب هاى سلولى القا شءه ءوسء سىس پلاءىن ءر باءء كللىه و كبء

سىس پلاءىن باءء افزائش انءازء فضائى بومن با ءرءه ۲/۸، نكروز سلولءهاى ءوبولى با ءرءه ۱/۵، اءءقان عروقى با ءرءه ۲/۴، ءشكىل كسءهاى پروءىنى ءاآل ءوبولى با ءرءه ۱/۹، اءم ءور عروقى با ءرءه ۰/۷ و اىنفىلءراسىون لكوسىءها با ءرءه ۱/۶ نسبء به گروه شاهد شء (ءءول شماره ۲ و ءصوىر شماره ۱). به طورى كه ءرءه هىسءوپاءولوءرىك كل ءر گروه ءرىاءء كنءنءه



نموءار شماره ۱: مىانگىن $\pm$ خطاى معىار برائى مقاءىر مالون ءى آلءهىء (A) و ءءرء اءىا كنءنءگى (B) باءء كللىه ءر گروه ءرىاءء كنءنءه نرمال سالىن (sham)، سىس پلاءىن (Cis) و ىا سىس پلاءىن به علاوه p-كومارىك اسىء (Cis+CA)، $n=7$ ءر هر گروه

* $P < 0.05$ و ** $P < 0.01$ ءر مقابسه با گروه شاهد

† $P < 0.05$ ءر مقابسه با گروه سىس پلاءىن

سیس پلاتین برابر ۱۰/۹ گردید که به طور معنی دار بیش تر از گروه شاهد بود ($P < ۰/۰۵$). مصرف همزمان p-کوماریک اسید و سیس پلاتین منجر به بهبود نسبی تمام این آسیب‌ها شد، به طوری که درجه هیستوپاتولوژیک کل در گروه دریافت کننده p-کوماریک اسید به علاوه سیس پلاتین برابر ۲/۵ بود که تفاوت معنی دار با مقدار آن در گروه سیس پلاتین دارد ($P < ۰/۰۵$).

جدول شماره ۲: تاثیر گاوژ p-کوماریک اسید بر آسیب های بافتی کلیوی القا شده توسط سیس پلاتین

آسیب بافتی	گروه های آزمایشی		
	شاهد	سیس پلاتین	سیس پلاتین + کوماریک اسید
افزایش اندازه فضای بومن	۰	۲/۸	۰/۳
نکروز سلول های توبولی	۰	۱/۵	۰
احتقان عروقی	۰/۳	۲/۴	۱/۱
کست های پروتئینی داخل توبولی	۰	۱/۹	۰
ادم دور عروقی	۰/۲	۰/۷	۰/۴
اینفیلتراسیون لکوسیت ها	۰/۱	۱/۶	۰/۷
درجه کل آسیب بافتی	۰/۶	۱۰/۹ **	۲/۵ *†

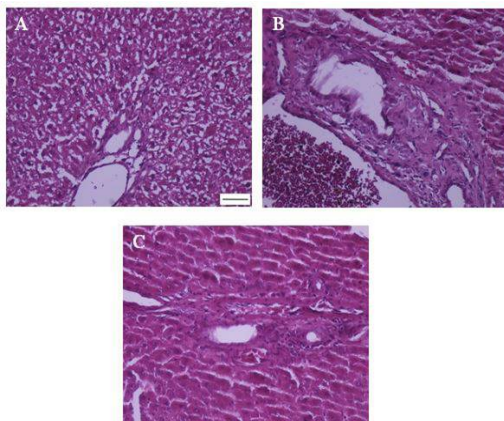
درجات آسیب های بافتی کلیوی در گروه دریافت کننده نرمال سالین، سیس پلاتین و یا سیس پلاتین بعلاوه p-کوماریک اسید $P < ۰/۰۵$ * و $P < ۰/۰۱$ ** در مقایسه با گروه شاهد $P < ۰/۰۵$ † در مقایسه با گروه سیس پلاتین

همچنین، سیس پلاتین باعث افزایش اینفیلتراسیون لکوسیت ها، فیروز سلولی، اتساع سینوزویدی و احتقان عروقی در بافت کبد شد. به طوری که درجه هیستوپاتولوژیک کل در این گروه به طور معنی دار بیش تر از میزان آن در گروه شاهد بود ($P < ۰/۰۱$). گاوژ p-کوماریک اسید منجر به بهبود نسبی تمام این آسیب‌ها در بافت کبد شد و درجه آسیب هیستوپاتولوژیک کل در این گروه به طور معنی دار ($P < ۰/۰۵$) نسبت به مقدار آن در گروه سیس پلاتین کاهش یافت (جدول شماره ۳ و تصویر شماره ۲).

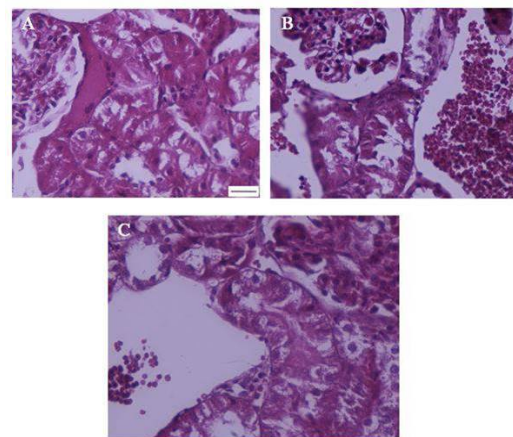
جدول شماره ۳: تاثیر گاوژ p-کوماریک اسید بر آسیب های بافتی کبدی القا شده توسط سیس پلاتین

آسیب بافتی	گروه های آزمایشی		
	شاهد	سیس پلاتین	سیس پلاتین + کوماریک اسید
اینفیلتراسیون لکوسیت ها	۰	۲/۱	۰/۹
فیروز سلولی	۰	۲	۰/۳
گشاد شدن سینوزویدی	۰/۶	۱/۸	۰/۶
احتقان عروقی	۰/۵	۲/۳	۱/۱
درجه کل آسیب بافتی	۱/۱	۸/۲ **	۲/۹ †

درجات آسیب های بافتی کبدی در گروه دریافت کننده نرمال سالین (شاهد)، سیس پلاتین و یا سیس پلاتین بعلاوه p-کوماریک اسید $P < ۰/۰۱$ ** در مقایسه با گروه شاهد $P < ۰/۰۵$ † در مقایسه با گروه سیس پلاتین



تصویر شماره ۲: تصاویر میکروسکپ نوری برای نشان دادن آسیب های بافتی کبد در گروه دریافت کننده نرمال سالین (A)، سیس پلاتین (B) و یا سیس پلاتین به علاوه p-کوماریک اسید (C). رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، بزرگنمایی ۲۰۰ و مقیاس (Scale) برابر ۱۰۰ میکرومتر



تصویر شماره ۱: تصاویر میکروسکپ نوری برای نشان دادن آسیب های بافتی کلیه در گروه دریافت کننده نرمال سالین (A)، سیس پلاتین (B) و یا سیس پلاتین بعلاوه p-کوماریک اسید (C). رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، بزرگنمایی ۴۰۰ و مقیاس (Scale) برابر ۲۰۰ میکرومتر

بحث

سيس پلاتين يك داروي شيمي درمانی موثر برای بسياری از تومورها است. اما دارای اثرات جانبی قابل ملاحظه‌ای بر اندام‌های مختلف از جمله کبد و کلیه است که هنوز رویکرد محافظتی موثری برای این آسیب‌ها در طول شیمی درمانی شناخته نشده است (۴،۱). اخیراً استفاده از مکمل‌های گیاهی به‌طور وسیعی برای محافظت در برابر برخی بیماری‌ها رواج پیدا کرده که به خاطر عوارض جانبی کم‌تر آن‌ها می‌باشد. لذا هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر پيش درمانی با p-کوماريك اسيد بر آسیب‌های کلیوی و کبدی القا شده توسط سيس پلاتين در رت بود. نتایج این مطالعه نشان داد سيس پلاتين سبب افزایش غلظت کراتينين، اوره-نيتروژن، AST، ALT، و ALP پلاسما، افزایش سطح MDA و کاهش FRAP در بافت کلیه و کبد و همچنین افزایش آسیب‌های سلولی در بافت کلیه و کبد می‌گردد. گاوآژ p-کوماريك اسيد با دوز ۱۰۰ mg/kg توانست تمام این آسیب‌ها را به‌طور نسبی یا کامل بهبود دهد.

نتایج مطالعه ما نشان داد سيس پلاتين سبب افزایش استرس اکسيداتيو در بافت کلیه و کبد می‌شود. مکانيسم ایجاد آسیب کلیوی توسط سيس پلاتين بطور کامل شناخته نشده است، اما اخیراً پیشرفت‌های قابل ملاحظه‌ای در این زمینه حاصل شده است. سيس پلاتين توسط مویرگ‌های دور توبولی به غشاء بازولترال سلول‌های اپی‌تلیال کلیه می‌رسد و توسط ناقل کاتیون آلی-۲ (OAT2) و همچنین ناقل‌های آنیون آلی ۱ و ۳ (OAT1 و OAT3) وارد آن‌ها می‌گردد (۳۰). آن‌گاه ناقل‌های موجود در غشاء اپیکال سيس پلاتين را به داخل توبول انتقال می‌دهند تا از طریق ادرار دفع گردد. در صورتی که برداشت توسط غشاء بازولترال افزایش یابد و یا انتقال آن از غشاء اپیکال دچار مشکل شود، سيس پلاتين در داخل سلول تجمع پیدا می‌کند و از راه‌های مختلف سبب ایجاد و توسعه نفروتوکسیستیتی

می‌گردد (۳۱). یکی از این راه‌ها ایجاد استرس اکسيداتيو است که توسط گونه‌های فعال اکسيژن و نيتروژن ایجاد می‌شود. سيس پلاتين باعث آسیب میتوکندری، توقف انتقال الکترون در زنجیره تنفسی و در نتیجه نشت الکترون‌های زنجیره انتقال الکترونی می‌گردد. این الکترون‌های آزاد به داخل اکسيژن یا نيتروژن نفوذ کرده و گونه‌های فعال اکسيژن یا نيتروژن را تشکیل می‌دهند (۳۲). به‌علاوه، سيس پلاتين از راه‌های دیگر از جمله واکنش با گلوکوتائون و غیر فعال کردن آن و همچنین فعال‌سازی مسیر میکروزومی از طریق سيتوکروم P450 منجر به ایجاد استرس اکسيداتيو می‌شود (۳۳). گلوکوتائون یک آنتی‌اکسیدان شناخته شده در سلول است که کاهش آن می‌تواند سبب افزایش استرس اکسيداتيو شود. بنابراین سيس پلاتين از طریق افزایش تولید گونه‌های فعال و تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی منجر به القای استرس اکسيداتيو می‌گردد که در مطالعه حاضر نیز به‌صورت افزایش پروکسیداسيون لیپيدها (افزایش MDA) و کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی (FRAP) خود را نشان داده است. به‌کارگیری p-کوماريك اسيد سبب کاهش MDA و افزایش FRAP بافت کلیه و کبد در گروه‌های دریافت‌کننده همزمان سيس پلاتين و p-کوماريك اسيد در مقایسه با گروه دریافت‌کننده آنتی‌اکسيداتيو آن است. بررسی ساختار شیمیایی p-کوماريك اسيد نشان داده که گروه فیل‌هیدروکسیل موجود در آن مسئول خاصیت آنتی‌اکسيداتيو آن بوده و همچنین دارای خاصیت اسکاوئجری برای رادیکال‌های آزاد خصوصاً رادیکال‌های هیدروکسیل است (۱۹،۳۴). به‌علاوه، مطالعات تجربی نیز نشان داده اند p-کوماريك اسيد دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است و سبب محافظت قلب در برابر استرس اکسيداتيو القا شده توسط دوکسوروبيسين (۲۳) و کاهش استرس اکسيداتيو متعاقب ایسکمی/خون‌رسانی مجدد مغزی می‌شود (۳۵). همچنین، نتایج این مطالعه همسو با پژوهش انجام شده

توسط Akdemir و همکاران است که نشان دادند p-کوماریک اسید سبب کاهش استرس اکسیداتیو در بافت کلیه و کبد متعاقب مصرف سیس پلاتین می گردد (۱۴).

در این مطالعه ما دریافتیم که سیس پلاتین سبب افزایش چشمگیر نکروز سلولی و آسیب‌های پاتولوژیک در کلیه و کبد می شود و گاوژ p-کوماریک اسید توانست منجر به بهبودی نسبی یا کامل آئین آسیب‌ها گردد. نشان داده شده که سیس پلاتین از طریق آسیب DNA و فعالسازی p53 و همچنین تولید گونه های فعال اکسیژن منجر به شروع آپوپتوز می شود (۳۳،۳۲). از طرف دیگر پس از ورود سیس پلاتین به سلول، واکنش با محیط سلولی سبب می شود به یک الکتروفیل با شارژ مثبت تبدیل گردد که تمایل بالایی برای DNA دارد (۳۶). اتصال سیس پلاتین به DNA سبب تشکیل پیوندهای متقابل در DNA و متوقف شدن سنتز و رونویسی می شود که خود منجر به توقف سیکل سلولی می گردد (۳۳). به علاوه، اخیراً مشخص شده که تحت شرایط فیزیولوژیک میتوکندری طبیعت دینامیک داشته و پیوسته تحت شکافت و همجوشی قرار دارد که تعادل دینامیک بین این دو پدیده برای زنده ماندن و عملکرد میتوکندری حیاتی است. با وجود این، سیس پلاتین با قطع این دینامیک میتوکندری منجر به تخریب آن، نشت از غشاء سلول تخریب شده و مرگ سلولی می گردد (۳۸،۳۷). پیشنهاد شده که احتمالاً مسیرهای سیگنالینگ آپوپتوز و نکروز در مسمومیت با سیس پلاتین مشترک باشند، زیرا عوامل محافظت کننده کلیه سبب مهار آپوپتوز و نکروز هردو در کلیه متعاقب دریافت سیس پلاتین می شوند (۳۹). بنابراین ممکن است p-کوماریک اسید به واسطه خاصیت آنتی اکسیداتیو خود و یا از مسیرهای ناشناخته دیگری سبب کاهش آسیب‌های بافتی در کلیه و کبد شده باشد که روشن شدن مکانیسم دقیق آن نیازمند تحقیقات بیش تر است.

در مطالعه حاضر سیس پلاتین سبب افزایش میزان اینفیلتراسیون لکوسیت ها به فضای بینابینی شد که

می تواند ناشی از القای التهاب باشد و به کارگیری p-کوماریک اسید منجر به کاهش قابل ملاحظه آن گردید. نشان داده شده که سیس پلاتین سبب القای التهاب نیز می شود. آسیب داخل سلولی ایجاد شده توسط سیس پلاتین منجر به آزاد شدن "ملکول‌های الگوی ملکولی همراه آسیب" (DAMPs) می شود که در زمان آسیب بافتی تولید می گردند. این ملکول‌ها از طریق اثر بر TLRs باعث فعال سازی سیستم ایمنی و آزاد شدن سیتوکاین ها (مثل $TNF-\alpha$) و کموکاین ها و جذب سلول‌های التهابی می شوند (۴۱،۴۰) و استفاده از اینترلوکین-۱۰ به عنوان یک سایتوکاین ضد التهاب یا مهار $TNF-\alpha$ سبب محافظت از کلیه در برابر سیس پلاتین می گردد (۲۷،۹). نشان داده شده که p-کوماریک اسید سبب کاهش فاکتورهای پیش التهابی (از جمله $TNF-\alpha$) و همچنین آنزیم‌های التهابی (iNOS و COX-2) می گردد (۲۵) و دارای خاصیت ضدالتهابی در مدل‌های مختلف التهاب است (۲۲،۲۱،۱۸).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد سیس پلاتین سبب افزایش غلظت کراتینین و اوره-نیتروژن پلاسما می شود که این امر بیانگر کاهش میزان فیلتراسیون گلومرولی (GFR) است و همسو با نتایج مطالعات قبلی می باشد (۱۳). نشان داده شده که سیس پلاتین از طریق القای التهاب، استرس اکسیداتیو، آسیب و مرگ سلول‌های توبولی، آسیب عروقی و کاهش تولید NO از اندوتلیوم، انقباض شریانچه آوران کلیه و همچنین کاهش ضریب فیلتراسیون گلومرولی منجر به کاهش GFR و در نتیجه افزایش غلظت مواد زائد نیتروژنی در خون می شود (۴۳،۴۲،۱). به کارگیری p-کوماریک اسید مانع افزایش غلظت کراتینین و اوره-نیتروژن پلاسما متعاقب سیس پلاتین گردید. همان گونه که ذکر شد p-کوماریک اسید دارای خواص ضد التهابی، ضد استرس اکسیداتیو و محافظت کنندگی سلولی است و ممکن است از این راه ها منجر به بهبود میزان GFR و در نتیجه کاهش غلظت کراتینین و اوره-نیتروژن

محدودیت این مطالعه این بود که جهت بررسی التهاب نتوانستیم فاکتورهای پیش التهابی را اندازه گیری نماییم و تنها اینفیلتراسیون لکوسیت ها به عنوان شاخص التهاب در نظر گرفته شد.

در کل می توان این گونه نتیجه گیری کرد که سیس پلاتین می تواند سبب القای استرس اکسیداتیو، التهاب، آسیب های سلولی و در نتیجه اختلال در عملکرد کلیه و کبد شود و گاواژ p-کوماریک اسید از طرق خواص ضد التهابی، ضد استرس اکسیداتیو و مهار کنندگی iNOS می تواند مانع این آسیب ها گردد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از نتایج طرح تحقیقاتی شماره ۹۷۲۷۹ مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه می باشد که بدین وسیله از همکاری ایشان کمال تشکر و قدردانی به عمل می آید.

پلازما شده باشد. همچنین، در مطالعه حاضر سیس پلاتین سبب افزایش آنزیم های کبدی و آسیب های سلولی در کبد شد که همسو با نتایج مطالعات قبلی است. مطالعات مختلف نشان داده اند مکانیسم ایجاد آسیب کبدی توسط سیس پلاتین شبیه آسیب های کلیوی بوده و مهم ترین راه های آن ایجاد استرس اکسیداتیو و نیتروزیو، القای iNOS و در نتیجه افزایش گزانتین اکسیداز و NO در فضای بینابینی سلول ها، آسیب های عملکردی و ساختاری میتو کندری، آسیب های سلولی، التهاب و اختلال در هومئوستاز کلسیم است (۴،۵،۴۴). پیش درمانی با p-کوماریک اسید توانست سطح آنزیم های کبدی، استرس اکسیداتیو و آسیب های بافتی آن را به حدود آن ها در گروه شاهد برساند که بیانگر اثرات محافظتی p-کوماریک اسید در برابر اختلالات کبدی ناشی از سیس پلاتین است. این اثر محافظت کنندگی ممکن است از طریق مهار iNOS (۲۵)، مهار التهاب (۱۸)، مهار استرس اکسیداتیو (۱۹) و یا مسیرهای ناشناخته دیگری باشد که نیازمند مطالعات بیش تر در آینده است.

References

1. Pabla N, Dong Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney Int* 2008; 73(9): 994-1007.
2. Singh G. A possible cellular mechanism of cisplatin-induced nephrotoxicity. *Toxicology* 1989; 58(1): 71-80.
3. Rybak LP, Mukherjea D, Jajoo S, Ramkumar V. Cisplatin ototoxicity and protection: clinical and experimental studies. *Tohoku J Exp Med* 2009; 219: 177-186.
4. Liao Y, Lu X, Lu C, Li G, JinY, Tang H. Selection of agents for prevention of cisplatin-induced hepatotoxicity. *Pharmacol Res* 2008; 57(2): 125-131.
5. Karta A, Cigremis Y, Karaman M, Ozen H. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) ameliorates cisplatin-induced hepatotoxicity in rabbit. *Exp Toxicol Pathol* 2010; 62(1): 45-52.
6. Kanat O, Ertas H, Caner B. Platinum-induced neurotoxicity: A review of possible mechanisms. *World J Clin Oncol* 2017; 8(4): 329-335.
7. Lee SH, Kim BK, Nam Y, Sohn UD, Park ES, Hong SA, et al. Protective role of phosphatidylcholin against cisplatin-induced renal toxicity and oxidative stress in rats. *Food Chem Toxicol* 2013; 58: 388-393.
8. Petrovic M, Todorovic D. Biochemical and molecular mechanisms of action of cisplatin in cancer cells. *Medicine and Biology* 2016; 18(1): 12-18.

9. Deng J, Kohda Y, Chiao H, Wang Y, Hu X, Hewitt S, et al. Interleukin-10 inhibits ischemic and cisplatin-induced acute renal injury. *Kidney Int* 2001; 60(6): 2118-2128.
10. Abouzeinab NS. Antioxidant effect of silymarine on cisplatin-induced renal oxidative stress in rats. *J Pharmacol Toxicol* 2015; 10(1): 1-19.
11. Atessahin A, Ceribasi AO, Yuce A, Bulmus O, Cikim G. Role of ellagic acid against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2007; 100(2): 121-126.
12. Niu C, Ma M, Han X, Wang Z, Li H. Hyperin protects against cisplatin-induced liver injury in mice. *Acta Cir Bras* 2017; 32(1): 633-640.
13. Mohamadi yarijani Z, Godini A, Madani SH, Najafi H. Reduction of cisplatin-induced renal and hepatic side effects in rat through antioxidative and anti-inflammatory properties of *Malva sylvestris* L. extract. *Biomed Pharmacother* 2018; 106: 1767-1774.
14. Ekinci Akdemir FN, Albayrak M, Çalik M, Bayir Y, Gülçin I. The protective effects of p-coumaric acid on acute liver and kidney damages induced by cisplatin. *Biomedicines* 2017; 5(2): E18.
15. Moneim AA, El-Twab SMA, Ashour MB, Yousef AI. Hepato-renal protective effects of gallic acid and p-coumaric acid nicotinamide/streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Bioassays* 2016; 5(6): 4641-4649.
16. Kong CS, Jeong CH, Choi JS, Kim KJ, Jeong JW. Antiangiogenic effects of p-coumaric acid in human endothelial cells. *Phytother Res* 2013; 27(3): 317-323.
17. King A, Young G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J Am Diet Assoc* 1999; 99(2): 213-218.
18. Luceri C, Giannini L, Lodovici M, Antonucci E, Abbate R, Masini E, et al. p-coumaric acid, a common dietary phenol, inhibits platelet activity in vitro and in vivo. *Br J Nutr* 2007; 97(3): 458-463.
19. Zang LY, Cosma G, Gardner H, Shi X, Castranova V, Vallyathan V. Effect of antioxidant protection by p-coumaric acid on low-density lipoprotein cholesterol oxidation. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 279(4): 954-960.
20. Luceri C, Guglielmi F, Lodovici M, Giannini L, Messerini L, Dolara P. Plant phenolic 4-coumaric acid protects against intestinal inflammation in rats. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39(11): 1128-1133.
21. Pragasaam SJ, Murunikkara V, Sabina EP, Rasool M. Ameliorative effect of p-coumaric acid, a common dietary phenol, on adjuvant-induced arthritis in rats. *Rheumatol Int* 2013; 33(2): 325-334.
22. Zhao Y, Liu Y, Liu Ch, Zeng X, Li X, Zhao J. Anti-Inflammatory Effects of p-coumaric acid in LPS-stimulated RAW264.7 Cells: Involvement of NF-κB and MAPKs pathways. *Med Chem* 2016; 6(5): 327-330.
23. Abdel wahab MH, Elmahdy MA, Abdellah MF, Helal GK, Khalifa F, Hamada FM. Influence of p-coumaric acid on doxorubicin-induced oxidative stress in rat's heart. *Pharmacol Res* 2003; 48: 461-465.
24. Navaneethan D, Rasool MK. An experimental study to investigate the impact of p-coumaric acid, a common dietary polyphenol, on cadmium chloride-induced renal toxicity. *Food Funct* 2014; 5(10): 2438-2445.
25. Neog MK, Joshua Pragasaam S, Krishnan M, Rasool M. p-coumaric acid, a dietary polyphenol ameliorates inflammation and curtails cartilage and bone erosion in the

- rheumatoid arthritis rat model. *Biofactors* 2017; 43(5): 698-717.
26. Kheiripour N, Amidi N, Moradkhani SH, Sedaghat M, Khiripour N, Larki A, et al. Effect of green tea on inflammation and oxidative stress in cisplatin- induced experimental liver function. *J HerbMed Pharmacol* 2016; 5(3): 99-102.
 27. Ramesh G, Reeves WB. Salicylate reduces cisplatin nephrotoxicity by inhibition of tumor necrosis factor-alpha. *Kidney Int* 2004; 65(2): 490-499.
 28. Changizi-Ashtiyani S, Alizadeh M, Najafi H, Babaei S, Khazaei M, Jafari M, et al. *Physalis alkekengi* and *Alhagi maurorum* ameliorate the side effect of cisplatin-induced nephrotoxicity. *Cancer Gene Ther* 2016; 23(7): 235-240.
 29. Najafi H, Mohamadi Yarijani Z, Changizi-Ashtiyani S, Mansouri K, Modarresi M, Madani SH, et al. Protective effect of *Malva sylvestris* L. extract in ischemia-reperfusion induced acute kidney and remote liver injury. *Plos One* 2017; 12(11): e0188270.
 30. Hu S, Leblanc AF, Gibson AA, Hong KW, Kim JY, Janke LJ, et al. Identification of OAT1/OAT3 as contributors to cisplatin toxicity. *Clin Transl Sci* 2017; 10(5): 412-420.
 31. Perazella MA. Drug-induced acute kidney injury: diverse mechanisms of tubular injury. *Curr Opin Crit Care* 2019; 25(6): 550-557.
 32. Yang Y, Liu H, Liu F, Dong Z. Mitochondrial dysregulation and protection in cisplatin nephrotoxicity. *Arch Toxicol* 2014; 88(6): 1249-1256.
 33. Manohar S, Leung N. Cisplatin nephrotoxicity: a review of the literature. *J Nephrol* 2018; 31(1): 15-25.
 34. Pei K, Ou J, Huang J, Ou S. P-coumaric acid and its conjugates: dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities. *J Sci Food Agric* 2016; 96(9): 2952-2962.
 35. Guven M, Aras AB, Akman T, Sen HM, Ozkan A, Salis O, et al. Neuroprotective effect of p-coumaric acid in rat model of embolic cerebral ischemia. *Iran J Basic Med Sci* 2015; 18(4): 356-363.
 36. Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4(4): 307-320.
 37. Chan DC. Fusion and fission: interlinked processes critical for mitochondrial health. *Annu Rev Genet* 2012; 46: 265-287.
 38. Youle RJ, Vander Blik AM. Mitochondrial fission, fusion, and stress. *Science* 2012; 337(6098):1062-1065.
 39. Faubel S, Ljubanovic D, Reznikov L, Somerset H, Dinarello CA, Edelstein CL. Caspase-1 deficient mice are protected against cisplatin-induced apoptosis and acute tubular necrosis. *Kidney Int* 2004; 66(6): 2202-2213.
 40. Gluba A, Banach M, Hannam S, Mikhailidis DP, Sakowicz A, Rysz J. The role of Toll-like receptors in renal diseases. *Nat Rev Nephrol* 2010; 6(4): 224-235.
 41. Kono H, Rock KL. How dying cells alert the immune system to danger. *Nat Rev Immunol* 2008; 8(4): 279-289.
 42. Sugiyama S, Hayakawa M, Kato T, Hanaki Y, Shimizu K, Ozawa T. Adverse effects of anti-tumor drug, cisplatin, on rat kidney mitochondria: disturbances in glutathione peroxidase activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 159(3): 1121-1127.
 43. Daugaard G, Abildgaard U. Cisplatin nephrotoxicity. A review. *Cancer Chemother Pharmacol* 1989; 25(1): 1-9.

44. Gaona-Gaona L, Molina-Jijon E, Tapia E, Zazueta C, Hernandez-Pando R, Calderon-Oliver M, et al. Protective effect of sulforaphane pretreatment against cisplatin-induced liver and mitochondrial oxidant damage in rats. *Toxicology* 2011; 286(1-3): 20-27.