Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:51 +0430 on Monday August 20th 2018

ORIGINAL ARTICLE

Protective Effects of Hydroalcoholic Extract of Nasturtium Officinale against Gentamicin Induced Mitochondrial Dysfunction in Rat Kidney

Somayeh Shahani[1],
Farzaneh Behzadfar[2],
Daniel Jahani[3],
Fatemeh Shaki[4]

[1] Assistant Professor, Department of Pharmacognosy and Biotechnololgy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Pharm.D. Student in Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] MSc Student in Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received September 10, 2016 ; Accepted January 28, 2017)

Abstract

Background and purpose: In this study, we evaluated the protective effects of hydroalcoholic extract of *Nasturtium officinale* (watercress) against GM-induced mitochondrial dysfunction on isolated rat kidney mitochondria.

Materials and methods: In this study, 36 Wistar rats were divided into six groups (n=6 per group): control, solvent, GM (80 mg/kg IP), and GM and three doses (50, 100, 200 mg/kg/day, IP) of hydroalcoholic extract of aerial parts of watercress. After 10 consecutive days of injection, the animals were killed and kidney tissues were separated. Then, the mitochondria were isolated using different centrifuge technique and the parameters of mitochondrial damage were evaluated.

Results: Administration of GM for 10 days resulted in decrease in mitochondrial function in MTT test and also the glutathione content in kidney isolated mitochondria. Compared with the control group, increase in lipid peroxidation and mitochondrial swelling was observed in GM group. The *Nasturtium officinale* extract could significantly reduce (dose dependent) the increase in glutathione oxidation, lipid peroxidation and mitochondrial swelling due to GM on kidney isolated mitochondria.

Conclusion: With the considering the protective effects of *Nasturtium officinale* in attenuating GM-induced mitochondrial damage, it can be suggested for prevention of pathological condition caused by mitochondrial damage.

Keywords: gentamicin, *Nasturtium*, mitochondria, nephrotoxicity

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 26 (145): 152-164 (Persian).

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:51 +0430 on Monday August 20th 2018

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و ششم شماره ۱۴۵ بهمن سال ۱۳۹۵ (۱۶۴-۱۵۲)

اثرات محافظتی عصاره گیاه علف چشمه در برابر اختلال عملکرد میتوکندریایی ناشی از داروی جنتامایسین در بافت کلیه رت

سمیه شاهانی[۱]
فرزانه بهزادفر[۲]
دانیال جهانی[۳]
فاطمه شکی[۴]

چکیده

سابقه و هدف: ما در این مطالعه، اثرات محافظتی عصاره هیدروالکلی گیاه علف چشمه (*Nasturtium officinale*) را روی سمیت میتوکندریایی ناشی از جنتامایسین در میتوکندری‌های ایزوله از کلیه رت مورد بررسی قرار می‌دهیم.

مواد و روش‌ها: در این بررسی، تعداد ۳۶ رت نژاد ویستار در ۶ گروه شش تایی مورد بررسی قرار گرفتند. گروه ها شامل گروه کنترل، گروه دریافت کننده حلال، گروه دریافت کننده جنتامایسین خالی mg/kg ۸۰، ۳ گروه دریافت کننده جنتامایسین به علاوه عصاره با دوزهای مختلف (۵۰ -۱۰۰-۲۰۰ mg/kg) بوده که به مدت ده روز به صورت داخل صفاقی تجویز گردید و ۲۴ ساعت بعد از پایان تجویزها، کلیه حیوان جدا و میتوکندری آن‌ها با روش سانتریفیوژ متعدد جداسازی شد و پارامترهای آسیب میتوکندری بررسی شدند.

یافته‌ها: تجویز جنتامایسین به صورت معنی‌داری سبب کاهش فعالیت میتوکندری در تست MTT و گلوتاتیون احیا در میتوکندری‌های ایزوله از کلیه رت شد. هم چنین افزایش لیپید پراکسیداسیون و تورم میتوکندری در گروه دریافت کننده جنتامایسین نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. تجویز عصاره هیدروالکلی علف چشمه سبب افزایش میزان زنده ماندن میتوکندری‌ها نسبت به گروه جنتامایسین شد. کاهش معنی‌دار و وابسته به غلظت اکسیداسیون گلوتاتیون، لیپید پراکسیداسیون و تورم میتوکندری ناشی از جنتامایسین در میتوکندری‌های ایزوله از کلیه رت در گروه دریافت کننده عصاره علف چشمه مشاهده شد.

استنتاج: هم‌چنین با توجه به اثر محافظتی علف چشمه در کاهش آسیب میتوکندریایی ناشی از جنتامایسین در میتوکندری ایزوله کلیه، می‌توان از عصاره علف چشمه در شرایط پاتولوژیک ناشی از آسیب میتوکندری استفاده کرد.

واژه های کلیدی: جنتا مایسین، علف چشمه، میتوکندری، سمیت کلیه

مقدمه

جنتامایسین یک آنتی‌بیوتیک از دسته آمینوگلیکوزیدها می‌باشد که به طور گسترده علیه عفونت‌های باکتری هایی گرم منفی هوازی و برخی باکتری‌های گرم مثبت مورد استفاده قرار می‌گیرد و با

مولف مسئول: فاطمه شکی– ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندارن، دانشکده داروسازی E-mail: fshaki.tox@gmail.com
۱. استادیار، گروه فارماکوگنوزی و بیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندارن، ساری، ایران
۲. دانشجوی داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندارن، ساری، ایران
۳. دانشجوی کارشناسی ارشد داروسازی ، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندارن، ساری، ایران
۴. استادیار، گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندارن، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/۶/۲۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۵/۶/۲۳ تاریخ تصویب : ۱۳۹۵/۱۱/۹

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:51 +0430 on Monday August 20th 2018

توجه به طیف گسترده‌ی اثر علیه باکتری‌های گرم منفی مثل عفونت‌های ناشی از سودوموناس، پروتئوس و سراشیا از آن استفاده می‌شود(۱). اما متاسفانه اثر بخشی و کاربرد آن‌ها به دلیل این که در بیش‌تر از ۳۰ درصد بیماران تحت درمان باعث ایجاد اختلالات کلیوی می‌شود، محدود شده است. جنتامایسین هم چنین باعث مرگ سلولی از طریق تولید رادیکال های آزاد H2O2 و رادیکال هیدروکسیل OH و لیز فسفولیپیدها، تحریک رسپتورهای حساس به کلسیم خارج سلولی و فاجعه انرژیک، کاهش جریان خون و التهاب نیز می‌شود(۲) مطالعات متعددی نقش استرس اکسیداتیو و آسیب به میتوکندری را در بروز عوارض جنتامایسین نشان داده است(۸-۳). طی یک بررسی، به این نتیجه رسیدند که اگر افراد برای بیش از ۷ روز از آمینوگلیکوزیدها استفاده کنند، در بیش از ۳۰ درصد افراد عوارض جانبی سمیت کلیوی را خواهیم داشت که حتی در بعضی از موارد به ناچار منجر به قطع مصرف دارو می‌شوند. القای سمیت کلیوی جنتامایسین از طریق عدم توانایی در دفع روزانه‌ی محصولات اضافی و دفعی بدن مثل اوریک اسید و کراتینین و... می‌باشد(۳). میتوکندری یکی از مهم‌ترین ارگانل‌های داخل سلولی است که نقش اصلی را در تولید گونه‌های فعال اکسیژن ایفا می‌کند. هم‌چنین میتوکندری به طور بالقوه بیش‌تر از دیگر ارگانل‌ها به استرس اکسیداتیو حساس است و آسیب اکسیداتیو به میتوکندری منجر به شروع مسیر مرگ سلولی می‌شود(۹). جنتامایسین موجب افزایش تولید ROS مانند آنیون‌های سوپراکسید رادیکال هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن در کلیه می‌شود. بنابراین، جاذب‌های (پاک‌کننده‌های) ROS و مولکول‌های آنتی‌اکسیدان برای کاهش نسبی یا از بین بردن اثرات زیان آور ناشی از جنتامایسین مناسب و جز گزینه‌های انتخابی‌اند(۵). بنابراین یکی از مهم‌ترین راه‌کارها برای بهبود سمیت کلیوی آمینوگلیکوزیدها، حفاظت از میتوکندری کلیه می‌باشد. در مطالعات گذشته هم از طریق محافظت میتوکندری، اثرات سمی برخی از داروهای درمانی را کاهش دادند(۱۱،۱۰). گیاهان جنس *Nasturtium* (خانواده: شب بو)، گیاهانی چندساله و علفی می‌باشند. گونه *N. officinale* W.T.Aiton با نام های فارسی آب تره، علف چشمه، بولاغ اوتی و تره تیزک آبی در اغلب نقاط ایران، آسیای معتدله و اروپا می‌روید(۱۳،۱۲). یکی از کاربردهای گسترده این گیاه، استفاده از آن به عنوان سبزی سالاد می‌باشد(۱۴) که دارای ترکیبات غذایی مهمی هم‌چون آهن، ید، کلسیم و منگنز و نیز ویتامین‌های A، E و C می‌باشد. به دلیل وجود مقادیر بالای ویتامین C در این گیاه، از زمان های قدیم برای درمان آسکوربوت کاربرد داشته است. کاربرد این گیاه برای درمان زکام در Commission E مورد تایید است. در طب کودکان در آلمان، این گیاه به عنوان داروی ضد باکتری در درمان عفونت دستگاه ادراری تحتانی کاربرد دارد. برگ پودر شده این گیاه در هند به عنوان خلط آور استفاده می‌شود(۱۳). در طب مردمی ایران، از گیاه به عنوان عامل حفاظت قلب(۱۵) و در درمان بیماری‌هایی مثل دیابت و برونشیت استفاده می‌شود(۱۶). مطالعات مختلفی بر روی اثر آنتی اکسیدانی گیاه انجام شده است(۱۹-۱۷). گیاه علف چشمه هم‌چون سایر گیاهان خانواده شب بو (Cruciferae)، منبع غنی از ترکیبات گلوکوزینولات می‌باشد که دارای خصوصیات ضد سرطانی می‌باشند(۲۰). تاکنون هیچ مطالعه‌ای بر روی اثرات محافظت میتوکندریایی این خانواده انجام نشده است. لذا با توجه به ترکیبات موثره این گیاه و اثرات گزارش شده آن، در این مطالعه برای اولین بار به بررسی اثر عصاره گیاه علف چشمه در برابر آسیب میتوکندریایی ناشی از جنتامایسین می‌پردازیم.

مواد و روش ها

عصاره گیری

اندام هوایی گیاه علف چشمه از منطقه هزارجریب شهرستان نکاء استان مازندران در اردیبهشت ماه

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:51 +0430 on Monday August 20th 2018

جمع‌آوری شد و پس از آن در سایه و در دمای اتاق خشک گردید. نمونه هربایومی آن پس از تایید توسط متخصص سیستماتیک گیاهی با شماره ۱۰۰۶ در هرباریوم دانشکده داروسازی نگهداری می شود. به میزان ۱۷۰ گرم از اندام هوایی خشک شده گیاه علف چشمه پس از آسیاب کردن دستی، به روش ماسراسیون و با استفاده از حلال اتانولی ۸۰ درصد در دمای اتاق عصارگیری شد. عمل عصاره‌گیری ۳ بار و به فاصله زمانی ۴۸ ساعت انجام گرفت. عصاره‌های به دست آمده توسط دستگاه روتاری تغلیظ شد و در نهایت به کمک دستگاه فریزدرایر، کاملاً خشک گردید. وزن عصاره اتانولی ۸۰ درصد به دست آمده از ۱۷۰ گرم گیاه حدود ۳۷/۳ گرم بوده است.

مطالعات حیوانی

در این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی، از رت نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم که در شرایط استاندارد از نظر دسترسی به آب و غذا و سیکل ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی نگه‌داری شدند، استفاده شد. ۳۶ رت نژاد ویستار در ۶ گروه شش تایی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. گروه ها شامل گروه کنترل منفی (نرمال سالین)، گروه دریافت‌کننده حلال، گروه دریافت‌کننده جنتامایسین خالی 80 mg/kg (۲۲،۲۱)، ۳ گروه دریافت کننده جنتامایسین به علاوه عصاره با دوزهای مختلف (۵۰ ,۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg) (۲۴،۲۳) بود که به مدت ده روز تجویز گردید. تمامی تزریقات به صورت داخل صفاقی انجام شد. حیوانات ۲۵ ساعت قبل از انجام آزمایشات ناشتا نگه داشته می‌شدند و ۲۴ ساعت بعد از پایان تجویزها، رت‌ها را با اتر بیهوش کرده و بلافاصله با جراحی کلیه را خارج کرده و در بافر مانیتول سرد (مانیتول ۰/۲۵۵، ساکارز ۷۴ mM، EDTA ۰/۲ mM) شست و شو داده شدند و سپس بافت هموژن تهیه شد. بافت هموژن شده، ابتدا با سرعت 2000 xg به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس محلول رویی با سرعت 10000 x g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ کرده و محلول رویی را دور ریخته و رسوب ته لوله را که حاوی میتوکندری است، در بافر تریس (ساکارز ۰/۲۵ M پتاسیم کلراید ۲۰ mM، منیزیم کلراید ۲ mM، دی سدیم هیدروژن فسفات ۱ mM، تریس ۰/۰۰۵mM) سرد پراکنده شد(۱۶) و میتوکندری آن‌ها با روش سانتریفیوژ متعدد جداسازی شد و پارامترهای بیوشیمیایی در میتوکندری بررسی شدند. کلیه آزمایش‌های انجام شده، با توجه به دستورالعمل‌های ثبت شده در کمیته آزمایشات حیوانی دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران صورت گرفت.

تعیین غلظت پروتئین

نرمالیز کردن داده‌ها

تعیین غلظت پروتئین با روش برادفورد انحام می شود. برای هر کدام از شاخص‌های موردنظر می‌توان میزان فعالیت را برحسب پروتئین بافتی نرمالایز کرد. غلظت پروتئین با معرف کوماسی بلو با استفاده از آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد در تمامی آزمایشات از سوسپانسیون میتوکندری با غلظت پروتئینی یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر استفاده شد(۲۵). برای هر آزمایش، میتوکندری‌ها به صورت تازه تهیه شد و حداکثر چهار ساعت بعد از جداسازی مورد استفاده قرار گرفت. تمامی فرآیندهای گفته شده روی یخ انجام شد تا جداسازی میتوکندری با کیفیت بالا انجام گیرد. تمامی آزمایشات سه بار تکرار شد.

ارزیابی عملکرد میتوکندی

ارزیابی سمیت میتوکندریایی براساس اندازه‌گیری میزان احیای MTT توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز انجام شد. آنزیم سوکسینات دهیدروژناز، یک آنزیم میتوکندریایی است که در هنگام اختلال در عملکرد میتوکندری از کار افتاده و تبدیل MTT به ترکیب بنفش رنگ MTT- فورمازون صورت

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:51 +0430 on Monday August 20th 2018

نمی‌گیرد. میتوکندری‌های ایزوله از کلیه رت با غلظت‌های مختلف جنتامایسین به علاوه عصاره و جنتامایسین به تنهایی تماس داده شده و سپس ۱۰۰ µL از سوسپانسیون میتوکندری در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته و محلول MTT (۴ درصد) به همراه سوکسینات (۱۰ mM) را به هر چاهک اضافه کرده و به دور از نور، در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت نیم ساعت انکوبه شد. کریستال‌های فورمازون تشکیل شده را با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر از DMSO حل کرده و سپس جذب نمونه‌ها در ۵۷۰ نانومتر با استفاده از الایزا ریدر خوانده شد. درصد تغییر در فعالیت آنزیم با سنجیدن جذب گروه‌ها در برابر جذب گروه کنترل محاسبه شد(۲۶).

اندازه گیری پراکسیداسیون لیپیدی

بر اساس روش تیوباربیتوریک اسید اندازه گیری می شود. بدین‌ترتیب که به ۰/۲ml از سوسپانسیون میتوکندری، ۰/۱ ml از معرف TBA شامل ۰/۵HCl نرمال، TCA ۱۵ درصد و TBA ۰/۳ درصد اضافه شد و به خوبی مخلوط و در حمام آب گرم به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه می‌گردد. بعد از سرد شدن به آن ۰/۲ ml n- بوتانل اضافه کرده و خوب تکان داده و سپس در rpm ۳۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کرده، لایه n- بوتانول برای سنجش در طول موج ۵۳۲ nm جدا شده و مقدار TBARs از روی منحنی استاندارد محاسبه می‌گردد(۲۷).

اندازه گیری گلوتاتیون

یک میلی‌لیتر از هموژن بافتی برداشته و به آن ۰/۲۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد اضافه کرده و بعد از ورتکس کردن به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰ xg سانتریفیوژ گردید. یک میلی‌لیتر از محلول شفاف رویی را برداشته و به آن ۲ میلی‌لیتر دی سدیم هیدروژن فسفات ۰/۳ مولار و ۰/۵ میلی‌لیتر DTNB 0.4 درصد اضافه کرده و ورتکس می‌شود و ۱۵ دقیقه انکوبه می‌شود تا واکنش کامل شود. سپس میزان جذب در طول موج ۴۱۲ نانومتر خوانده می‌شود. غلظت گلوتاتیون از روی منحنی استاندارد گلوتاتیون برحسب nmol/ml به دست آورده می‌شود(۲۸).

اندازه گیری تورم میتوکندری

میتوکندری های به دست آمده در بافر تورم که حاوی ساکارز (70mM)، مانیتول (230mM)، HEPES (3mM)، تریس (2mM)، سوکسینات (5mM) و روتنون (1µM) می‌باشد، به حالت سوسپانسیون در آورده شد. در لوله ی آزمایش ۱/۸ سی‌سی میتوکندری همراه هر کدام از مقادیر تعیین شده از گروه‌های مختلف اضافه شد. بعد از ورتکس کردن، ۲۰۰ µl از سوسپانسیون به هر چاهک اضافه شده و در طول موج ۵۴۰ نانومتر، هر ۱۵ دقیقه جذب اندازه‌گیری شد(۲۶).

آنالیز آماری

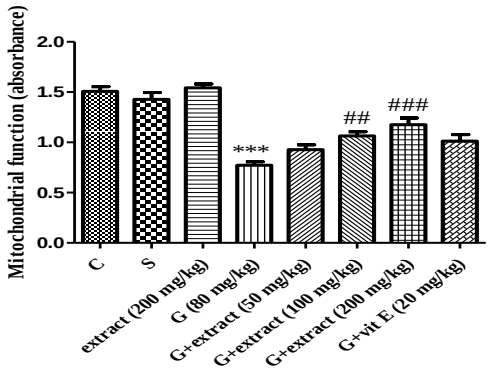
نتایج برحسب میانگین± انحراف معیار حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده و همه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۷ انجام شد. تست‌های آماری مورد استفاده شامل one-way ANOVA test با پست تست Tukey استفاده شد. حد معنی‌داری p <۰/۰۵ تعریف شد.

یافته ها

در نمودار شماره ۱، میزان میتوکندری‌های فعال بر حسب میانگین و انحراف معیار نشان داده شده است. با توجه به این نمودار مشاهده می‌شود که تجویز جنتامایسین به تنهایی با دوز ۸۰ mg/kg سبب کاهش معنی‌دار میتوکندری های فعال شد (p <۰/۰۰۱). وقتی که از دوزهای مختلف عصاره علف چشمه برای محافظت استفاده شد، درصد میتوکندری های فعال در گروه‌های جنتامایسین به همراه عصاره با غلظت های ۲۰۰ mg/kg، ۱۰۰، ۵۰ به ترتیب از غلظت کم به زیاد

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:51 +0430 on Monday August 20th 2018

58/66±5/50، 70/66±4/50 و 77/33±4/50 بـــــود. بـیش‌تـرین درصـد میتوکنـدری‌هـای فعـال در گـروه جنتامایسـین بـه همـراه عصـاره بـا غلظـت ۲۰۰mg/kg و کم‌ترین مقدار در گروه دریافت کننـده جنتامایسـین بـه تنهایی (55/66±6/11) مشاهده شـده اسـت. نتـایج نشـان مـی‌دهـد درصـد میتوکنـدری‌هـای فعـال در گـروه دریافت‌کننده جنتامایسـین بـه همـراه عصـاره بـا غلظـت ۲۰۰mg/kg نسبت به گروه دریافت کننده جنتامایسین به تنهـایی، افـزایش معنـی‌داری داشـته اسـت (p <۰/۰۰۱). هم‌چنین از ویتامین E که یک آنتی‌اکسیدان شناخته شده است، به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. نتایج نشـان داد اثرات محافظتی عصاره با غلظـت ۲۰۰mg/kg نسـبت بـه ویتامین E (65/33±5/05) بهتر بود.



نمودار شماره ۱: اثر عصاره گیاه علف چشمه در فعالیت میتوکندری بعد از تماس با جنتامایسین

فعالیت آنزیم سوکسینات دهیدروژناز، در میتوکنـدری هـای ایزولـه شده از کلیه رت در گروه کنترل (C)، حلال (S) و بعد از تمـاس بـا جنتامایسین (G) و غلظت‌های مختلـف عصـاره بـا اسـتفاده از تسـت MTT سنجیده شد.

نتایج بـه صـورت Mean±SD حاصـل از شـش بـار تکـرار آزمـایش گزارش شده است.

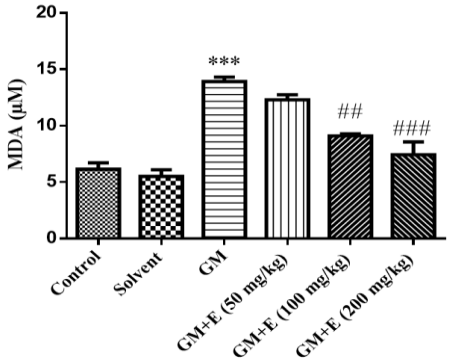
***: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل است (p <۰/۰۰۱).

نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه جنتامایسین است (p <۰/۰۵).

##: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه جنتامایسین است (p <۰/۰۱).

اندازه گیری لیپید پراکسیداسیون

همان طور که در نمودار شماره ۲ مشاهده می شود، میزان لیپید پراکسیداسـیون، در میتوکنـدری‌هـای ایزولـه شـده بـا غلظـت‌هـای مختلـف mg/kg ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ از عصاره و mg/kg ۸۰ از جنتامایسین با اسـتفاده از معـرف TBA سنجیده شد. سطح مالون دی آلدئیـد (MDA) در گروه‌هایی که غلظت‌های ۲۰۰mg/kg، ۱۰۰، ۵۰ عصـاره به همـراه جنتامایسـین دریافـت کـرده‌انـد (بـه ترتیـب از غلظـت کـم بـه زیـاد در میتوکنـدری ۰/۷۸ ± ۱۲/۲۹، ۰/۳۱ ± ۹/۰۹ و ۱/۹۴ ± ۷/۴۳ میکرومـولار) در مقایسـه بـا گـروه دریافـت‌کننـده جنتامایسـین بـه تنهـایی (در میتوکنـدری ۰/۶۷ ± ۱۳/۹۱ میکرومـولار) کـاهش نشـان داده اســت کــه در میتوکنــدری در غلظــت‌هــای ۲۰۰mg/kg، ۱۰۰ از عصاره از نظر آماری معنـی‌دار بـود به ترتیب (p <۰/۰۰۱) و (p <۰/۰۱).



نمودار شماره ۲: مقایسه میانگین غلظت مالون دی آلدهید (MDA) در میتوکندری کلیه در تماس با جنتامایسین (GM) و عصاره علف چشمه غلظت MDA بر حسب میکرومـولار مـالون دی آلدهیـد حاصـل از شش بار تکرار آزمایش به صـورت میـانگین و انحـراف معیـار بیـان شده است.

***: نشان دهنده اختلاف معنادار با گروه کنترل است (p <۰/۰۰۱).

##: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه جنتامایسین است (p <۰/۰۱).

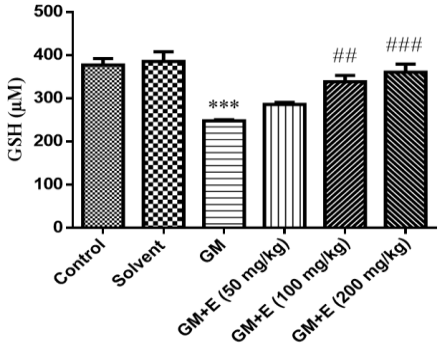
###: نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار باگروه جنتامایسین است(p <۰/۰۰۱).

اندازه گیری میزان گلوتاتیون احیا

گلوتاتیون یکی از مهم‌ترین سیستم‌هـای دفـاعی غیـر آنزیمی در میتوکندری است که نقش مهمـی را در خنثـی کردن گونه‌های فعال اکسیژن تولید شـده در میتوکنـدری به عهده دارد. ما غلظت گلوتاتیون را در میتوکنـدری‌هـای ایزولـه کلیـه رت، بعـد از تمـاس بـا غلظـت ۸۰mg/kg

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:51 +0430 on Monday August 20th 2018

جنتامایسین اندازه‌گیری کردیم. در نمودار شماره ۳ مشاهده می‌شود که جنتامایسین باعث کاهش در میزان گلوتاتیون احیا در میتوکندری‌های ایزوله کلیه (در میتوکندری (۵/۵۲ ± ۲۴۸/۰۵) نسبت به گروه کنترل (در میتوکندری (۲۹/۸۰± ۳۷۷/۱۹) شد که این میزان از نظر آماری معنی‌دار بود (p <۰/۰۰۱). هم‌چنین با توجه به نتایج، استفاده از غلظت‌های ۲۰۰mg/kg، ۱۰۰، ۵۰ سبب افزایش در میزان گلوتاتیون احیا در میتوکندری های ایزوله شد (به ترتیب از غلظت کم به زیاد عصاره در میتوکندری: ۹/۰۲± ۲۸۶/۱۶ و ۲۹/۸۳± ۳۳۸/۳۷ و ۳۷/۶۸± ۳۶۰/۶۷ و میکرومولار) که این میزان در غلظت ۲۰۰mg/kg و ۱۰۰ در میتوکندری از نظر آماری معنی‌دار بود، به ترتیب از غلظت کم به زیاد (p <۰/۰۱) و (p <۰/۰۰۱).



نمودار شماره ۳: مقایسه میزان گلوتاتیون احیا در میتوکندری های در تماس با جنتامایسین (GM) و عصاره علف چشمه

میزان گلوتاتیون احیا بعد از تماس میتوکندری های ایزوله شده با استفاده از معرف DTNB سنجیده شد.

نتایج به صورت Mean±SD حاصل از شش بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

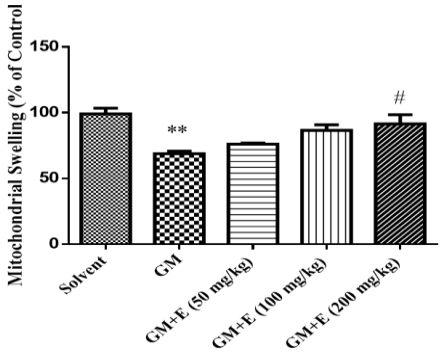
***: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل است (p <۰/۰۰۱).

##: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه جنتامایسین است (p <۰/۰۱).

###: نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار باگروه جنتامایسین است(p <۰/۰۰۱).

تست تورم میتوکندری

در این روش تغییرات جذب سوسپانسیون میتوکندری در ۵۴۰nm به منظور بررسی تورم میتوکندریایی ارزیابی شد که در نمودار شماره ۴ نشان داده شده است. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که میزان تورم میتوکندریایی بعد از تماس با جنتامایسین در میتوکندری‌های ایزوله شده از کلیه شده که افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل پیدا کرده است (p <۰/۰۱). هم‌چنین میزان تغییرات جذب سوسپانسیون میتوکندریایی بعد از تماس با غلظت های مختلف عصاره ی گیاه ارزیابی شد که مشاهده می‌شود در غلظت‌های mg/kg ۱۰۰، ۵۰ از آن، تغییرات معنادار نبود، ولی در غلظت mg/kg ۲۰۰، تورم میتوکندریایی تغییر معنی‌داری نسبت به گروه جنتامایسین به تنهایی داشت (p <۰/۰۵).



نمودار شماره ۴: مقایسه تورم میتوکندری در میتوکندری های در تماس با جنتامایسین (GM) و عصاره علف چشمه

نتایج به صورت Mean±SD حاصل از شش بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

**: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل است (p <۰/۰۱).

#: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه جنتامایسین است (p <۰/۰۵).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که جنتامایسین باعث اختلال در عملکرد میتوکندری‌های ایزوله از کلیه رت می‌شود. در این مطالعه نشان داده شد که جنتامایسین با ورود به کلیه، افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) وآسیب به میتوکندری شده که به دنبال آن، افزایش میزان لیپید پراکسیداسیون و کاهش گلوتاتیون احیا مشاهده می شود که سبب سمیت کلیوی می‌شوند و مرگ سلولی را به دنبال خواهند داشت. در ادامه با تجویز عصاره گیاه علف چشمه، خصوصاً دوز mg/kg

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:51 +0430 on Monday August 20th 2018

۲۰۰، کاهش فاکتورهای لیپید پراکسیداسیون و افزایش گلوتاتیون احیا ایجاد شد. هم‌چنین درصد میتوکندری‌های فعال افزایش یافت و درصد تورم نیز بهبود یافت که می‌تواند سبب مهار فرآیند مرگ سلولی و نیز مهار سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین شود. نتایج مطالعه بیانگر آن است که عصاره علف چشمه از اثرات سمیت جنتامایسین بر میتوکندری‌های ایزوله از کلیه رت جلوگیری می‌کند. مطالعات مختلف نشان داده است که جنتامایسین در طولانی مدت (برای بیش از ۷ روز) در بیش از ۳۰ درصد افراد عوارض جانبی سمیت کلیوی را ایجاد خواهد کرد که حتی در بعضی از موارد به ناچار منجر به قطع مصرف دارو می‌شوند(۳). هم‌چنین پیشنهاد شده است که استرس اکسیداتیو نقش محوری را در سمیت کلیوی ناشی از بسیاری از داروها، از جمله جنتامایسین بر عهده دارد. گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) میتوکندری، قادر به آسیب بسیاری از ماکرومولکول‌های سلولی‌اند (به عنوان مثال، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک) که می‌توانند به مرگ سلولی منجر شود(۲۹). اثرات سیتوتوکسیک برخی از داروهای درمانی، شامل استفاده از آن‌ها برای درمان ضد باکتریایی، می‌تواند با تغییر نفوذپذیری در غشای میتوکندری، به دنبال آن مرگ سلولی و نقص عضو همراه باشد(۳۰). استرس اکسیداتیو حالتی است که در اثر عدم توازن بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی پیش می‌آید. اصولاً استرس اکسیداتیو در انسان به علت کاهش فعالیت آنتی اکسیدانت‌های بدن یا افزایش گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد که یکی از مخرب‌ترین پیامدهای آن، پراکسیداسیون لیپیدی است(۳۱). میتوکندری یکی از مهم‌ترین اندامک‌های داخل سلولی است که نقش مهمی را در تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تولید ATP و فراهم آوردن انرژی مورد نیاز سلول دارد(۳۲). علاوه بر این، آسیب به میتوکندری سبب خروج فاکتورهای پروآپوپتوتیک از میتوکندری می‌شود که آغاز کننده مرگ سلولی است(۳۳). از طرفی میتوکندری نه تنها اصلی‌ترین منبع تولید ROS است، بلکه خود به عنوان هدف اصلی بسیاری از سموم اکسیدان هم می‌باشد(۲۶). یکی از اثرات تولید رادیکال‌های آزاد در یک محیط بیولوژیک مثل سلول، حمله به اسیدهای چرب غیراشباع موجود در ساختمان غشا سلولی است که به عنوان پراکسیداسیون لیپیدی شناخته شده که به صورت زنجیروار، باعث افزایش میزان رادیکال‌های آزاد شده و می‌تواند باعث پارگی غشای سلول، بروز نکروز و در نهایت فیبروز بافتی شود(۳۵،۳۴).

نتایج نشان داد که جنتامایسین، میزان از کار افتادگی را در میتوکندری‌ها در آزمون MTT موجب شده است و به عبارت دیگر، Viability در میتوکندری ها نسبت به گروه کنترل کاهش چشمگیری داشته است. هم‌چنین داده‌های حاصل از مطالعه ما بروز استرس اکسیداتیو ناشی از جنتامایسین در میتوکندری‌های ایزوله از رت را تایید کرد. جاروبگرهای (پاک‌کننده‌های) ROS و مولکول‌های آنتی‌اکسیدان برای کاهش نسبی یا از بین بردن اثرات زیان‌آور ناشی از جنتامایسین مناسب و جز گزینه‌های انتخابی‌اند(۱). آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند بدن انسان را در مقابل اثرات رادیکال‌های آزاد حفاظت کنند و پیشرفت بسیاری از بیماری‌های مزمن و پراکسیداسیون لیپیدها را به تأخیر بیندازند(۳۶). آنتی اکسیدان های متعددی با منشأ داخلی و خارجی وجود دارند که اجزای سلول را در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت می‌نمایند(۳۶).

در مطالعات گذشته هم استفاده از ترکیباتی با خاصیت آنتی اکسیدانی مانند لیکوپن، کورکومین، ملاتونین و Schisandrin B سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین را مهار نمودند که نشان‌دهنده اهمیت بروز آسیب اکسیداتیو در بروز سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین و موثر بودن ترکیباتی با خواص آنتی اکسیدانی در کاهش این عوارض است(۴۰-۳۷).

گیاهان جنس *Nasturtium* (خانواده شب بو)، گیاهانی چندساله و علفی می‌باشند. در ایران، گونه

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:51 +0430 on Monday August 20th 2018

N. officinale با نام‌های فارسی آب تره، علف چشمه، بولاغ اوتی و تره تیزک آبی در اغلب نقاط ایران، آسیای معتدله و اروپا می‌روید(۱۳،۱۲). مطالعات مختلفی بر روی اثر آنتی‌اکسیدانی گیاه انجام شده است(۱۹-۱۷). از جمله در مطالعه‌ای نشان داده شد که مصرف گیاه همراه با استامینوفن سبب کاهش متابولیت‌های اکسیداتیو این دارو می‌گردد(۴۱). عصاره هیدروالکلی گیاه باعث کاهش تری‌گلیسیرید و LDL در موش با رژیم پرچرب گردید(۱۷). اثر حفاظتی این گیاه در برابر کارسینوژن‌های موجود در تنباکو در افراد سیگاری گزارش شده است(۴۲). همان‌طور که در نتایج نشان داده شد، تجویز گیاه علف چشمه به خصوص در دوز ۲۰۰ mg/kg به صورت قابل توجهی از افزایش مارکرهای استرس اکسیداتیو (لیپید پراکسیداسیون و اکسیداسیون گلوتاتیون) ناشی از جنتامایسین در میتوکندری های ایزوله از کلیه رت جلوگیری کرد. این اثرات گیاه علف چشمه احتمالاً به خاطر وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدان موجود در عصاره گیاه است. مطالعات قبلی هم فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاه را در آزمایش‌های برون‌تنی نشان داد(۴۳،۱۷).

ترکیبات موثر دیگر در گیاه علف چشمه همچون سایر گیاهان خانواده شب بو (Cruciferae)، ترکیبات گلوکوزینولات می‌باشد که دارای خصوصیات ضد سرطانی می‌باشند(۲۰). Plumb و همکارانش طی مطالعه‌ای گزارش کردند ایزوتیوسیانات‌ها که حاصل شکسته شدن گلوکوزینولات هستند، باعث القای دفاع آنتی اکسیدانی داخلی بدن مانند القای گلوتاتیون-S ترانسفراز وکینون ردوکتاز می‌شوند(۴۴). هم‌چنین ایزوتیوسیانات‌ها با تنظیم وقایع اکسیداتیو و التهابی، قادرند اختلالات نورودژنراتیو را مدیریت کنند(۴۵).

فنتیل ایزوتیوسیانات (PEITC) یک ترکیب حاصل از هیدرولیز گلوکوناستورتین است که فراوان ترین گلوکوزینولات موجود در گیاه علف چشمه می‌باشد(۴۶). این ترکیب سبب بروز اثرات ضد التهابی و ضد سرطانی می‌شود(۴۸،۴۷).

سولفورافان (SFN)، یک ایزوتیوسیانات است که به‌طور طبیعی در خانواده شب بو وجود دارد. در یک مطالعه، اثر محافظتی این ترکیب در برابر آسیب کلیوی ناشی از جنتامایسین گزارش گردید که بروز این اثر را با محافظت از عملکرد میتوکندری مرتبط دانستند(۴۹). این ترکیب در مدل های آزمایشگاهی مختلف توانسته است آسیب بافتی ناشی از استرس اکسیداتیو را کاهش دهد. هم‌چنین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیر مستقیم می‌تواند بسیاری از پروتئین‌های محافظ سلولی مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را از طریق مسیر Nrf2 القاء کند(۵۰). هم‌چنین Guerrero-Beltran و همکاران طی مطالعه ای، اثرات محافظتی سولفورافان را در مقابل سمیت کلیوی داروی سیس پلاتین گزارش کردند(۵۱). با توجه به یافته‌های ما، گلوکوزینولات‌ها ممکن است مسئول بخشی از اثرات محافظتی مشاهده شده‌ی عصاره در برابر سمیت کلیوی جنتامایسین باشند. جنتامایسین باعث آسیب به غشا میتوکندری و باز شدن منافذ MPT و تورم میتوکندری در میتوکندری‌های ایزوله از کلیه رت شد. تجویز عصاره علف چشمه به‌طور معنی‌داری تورم میتوکندری ناشی از جنتامایسین را مهار کرد. در واقع یکی از مکانیسم‌های مهم در باز شدن منافذ MPT، که می‌تواند در نهایت شروع فرآیند مرگ سلولی و در نتیجه سمیت بافتی شود، اکسیداسیون گروه‌های سولفیدریل پروتئین‌هایی است که در غشای داخلی میتوکندری قرار دارند. پس از اکسیداسیون، این گروه‌ها به صورت گروه‌های S-S در می‌آیند که این اتصال متقاطع گروه‌های سولفیدریل منجر به تغییرات فضایی در ساختار میتوکندری و باز شدن منافذ PT و بروز پدیده‌ی MPT و در نهایت خروج سیتوکروم C از میتوکندری می‌شود(۵۲). بنابراین احتمالاً عصاره علف چشمه به واسطه ترکیبات گلوکوزینولاتی موجود در عصاره گیاه، از اکسیداسیون GSH ناشی از جنتامایسین در میتوکندری‌های ایزوله از کلیه رت جلوگیری کرده که در نهایت پدیده نفوذپذیری موقت میتوکندری را

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:51 +0430 on Monday August 20th 2018

مهار کرده و مانع شروع سیگنالینگ مرگ سلولی می‌شود. در مطالعات گذشته هم ترکیبات حاوی گروه‌های تیول مانند دی آلیل سولفید و آلیل سیستئین اثربخشی مناسبی را در جلوگیری از سمیت جنتامایسین نشان دادند که تاییدکننده مطالعات ما می‌باشد(۵۴،۵۳). بنابراین، گیاه علف چشمه با ویژگی آنتی‌اکسیدانی و خاصیت جاروب کنندگی رادیکال‌های آزاد، دارای اثرات محافظتی میتوکندریایی است. به نظر می‌رسد که می‌تواند انتخاب خوبی در محافظت آسیب اکسیداتیو و اختلال میتوکندریایی ناشی از جنتامایسین باشد.

سپاسگزاری

این مطالعه حاصل بخشی از پایان‌نامه دکترای داروسازی خانم فرزانه بهزادفر، مصوب دانشکده داروسازی ساری است. هم‌چنین نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران به دلیل حمایت و تأمین هزینه این طرح کمال تشکر را دارند.

References

1. Mahmoud AM, Ahmed OM, Galaly SR. Thymoquinone and curcumin attenuate gentamicin-induced renal oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. EXCLI J 2014; 13: 98-110.
2. Ali BH, Al Za'abi M, 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): 225-232.
3. Muthuraman A, Singla SK, Rana A, Singh A, Sood S. Reno-protective role of flunarizine (mitochondrial permeability transition pore inactivator) against gentamicin induced nephrotoxicity in rats. Yakugaku Zasshi 2011; 131(3): 437-443.
4. Plotnikov EY, Chupyrkina AA, Jankauskas SS, Pevzner IB, Silachev DN, Skulachev VP, et al. Mechanisms of nephroprotective effect of mitochondria-targeted antioxidants under rhabdomyolysis and ischemia/reperfusion. Biochim Biophys Acta (BBA) 2011; 1812(1): 77-86.
5. Mahmoud AM, Ahmed OM, Galaly SR. Thymoquinone and curcumin attenuate gentamicin-induced renal oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. EXCLI J 2014; 13: 98-110.
6. Qian Y, Guan M-X. Interaction of aminoglycosides with human mitochondrial 12S rRNA carrying the deafness-associated mutation. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53(11): 4612-4618.
7. Dehne N, Rauen U, De Groot H, Lautermann J. Involvement of the mitochondrial permeability transition in gentamicin ototoxicity. Hear Res 2002; 169(1-2): 47-55.
8. Félix L, Oliveira MM, Videira R, Maciel E, Alves ND, Nunes FM, et al. Carvedilol exacerbate gentamicin-induced kidney mitochondrial alterations in adult rat. Exp Toxicol Pathol 2016; 69(2): 83-92.
9. Plotnikov EY, Chupyrkina AA, Jankauskas SS, Pevzner IB, Silachev DN, Skulachev VP, et al. Mechanisms of nephroprotective effect of mitochondria-targeted antioxidants under rhabdomyolysis and ischemia/reperfusion. Biochim Biophys Acta. 2011; 1812(1): 77-86.
10. Szewczyk A, Wojtczak L. Mitochondria as a pharmacological target. Pharmacol Rev 2002; 54(1): 101-127.
11. Pereira GC, Silva AM, Diogo CV, Carvalho FV, Monteiro PJ. Oliveira P. Drug-induced cardiac mitochondrial toxicity and protection:

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:51 +0430 on Monday August 20th 2018

from doxorubicin to carvedilol. Curr Pharm Des 2011; 17(20): 2113-2129.

12. Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names. Tehran: Farhang Moaser; 2007.
13. Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J. Herbal Medicine. Expanded Commission E monographs. Newton, MA: Integrative Medicine Communications; 2000.
14. Martínez-Sánchez A, Gil-Izquierdo A, Gil MI, Ferreres F. A comparative study of flavonoid compounds, vitamin C, and antioxidant properties of baby leaf Brassicaceae species. J Agric Food Chem 2008; 56(7): 2330-2340.
15. Bahramikia S, Yazdanparast R. Effect of hydroalcoholic extracts of Nasturtium officinale leaves on lipid profile in high-fat diet rats. J Ethnopharmacol 2008; 115(1): 116-121.
16. Bahramikia S, Ardestani A, Yazdanparast R. Protective effects of four Iranian medicinal plants against free radical-mediated protein oxidation. Food Chem 2009; 115(1): 37-42.
17. Bahramikia S, Yazdanparast R. Antioxidant efficacy of Nasturtium officinale extracts using various in vitro assay systems. J Acupunct Meridian Stud 2010; 3(4): 283-290.
18. Ozen T. Investigation of antioxidant properties of Nasturtium officinale (watercress) leaf extracts. Acta Pol Pharm 2008; 66(2): 187-193.
19. Amiri H. Volatile constituents and antioxidant activity of flowers, stems and leaves of Nasturtium officinale R. Br. Nat Prod Res 2012; 26(2): 109-115.
20. Park NI ,Kim JK, Park WT, Cho JW, Lim YP, Park SU. An efficient protocol for genetic transformation of watercress (Nasturtium officinale) using Agrobacterium rhizogenes. Mol Biol Rep 2011; 38(8): 4947-4953.
21. Derakhshanfar A, Roshanzamir M, Bidadkosh A. Dose-related protecting effects of vitamin C in gentamicin-induced rat nephrotoxicity: a histopathologic and biochemical study. Comparat Clin Pathol 2013; 22(3): 441-447.
22. Poormoosavi S, Behmanesh M, Najafzadeh H. Effect of cimetidine on gentamicin-losartan induced-nephrotoxicity in rats. Afr J Pharm Pharm 2010; 4(6): 341-345.
23. Shahani S, Karami M, Nosrati A, Asghari H. Protective effects of Nasturtium officinale extracts against genetic damage induced by cyclophosphamide in mice bone marrow cells. Planta Med 2015; 81(16): PM_198.
24. Karami M, Nosrati A, Naderi M, Makhloogh M, Shahani S. Protective effects of Nasturtium officinale against gamma-irradiation-induced hepatotoxicity in C57 mice. Research Journal of Pharmacognosy (RJP) 2015; 2(2): 19-25.
25. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 72(1-2): 248-254
26. Shaki F, Hosseini M-J, Ghazi-Khansari M, Pourahmad J. Toxicity of depleted uranium on isolated rat kidney mitochondria. Biochim Biophys Acta (BBA) 2012; 1820(12): 1940-1950.
27. Zhang F, Xu Z, Gao J, Xu B, Deng Y. In vitro effect of manganese chloride exposure on energy metabolism and oxidative damage of mitochondria isolated from rat brain. Environ Toxicol Pharmacol 2008; 26(2): 232-236.
28. Jafarian I, Eskandari MR, Mashayekhi V, Ahadpour M, Hosseini M-J. Toxicity of valproic acid in isolated rat liver mitochondria. Toxicol Mech Methods 2013; 23(8):617-623.
29. Yousef JM, Chen G, Hill PA, Nation RL, Li J. Melatonin attenuates colistin-induced nephrotoxicity in rats. Antimicrob Agents

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:51 +0430 on Monday August 20th 2018

Chemother 2011; 55(9): 4044-4049.

30. Zorov DB. Amelioration of aminoglycoside nephrotoxicity requires protection of renal mitochondria. Kidney Int 2010; 77(10): 841-843.
31. Halliwell B, Gutteridge JM, Aruoma OI. The deoxyribose method: a simple "test-tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. Anal Biochem 1987; 165(1): 215-219.
32. Hosseini M-J, Shaki FS, Ghazi-Khansari M, Pourahmad J. Toxicity of arsenic (III) on isolated liver mitochondria: a new mechanistic approach. Iran J Pharm Res 2013; 12(Suppl): 121-138.
33. Hosseini M-J, Shaki F, Ghazi-Khansari M, Pourahmad J. Toxicity of vanadium on isolated rat liver mitochondria: a new mechanistic approach. Metallomics 2013; 5(2): 152-166.
34. Levine RL, Stadtman ER. Oxidative modification of proteins during aging. Exp Gerontol 2001; 36(9): 1495-1502.
35. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress. Sports Med 2006; 36(4): 327-358.
36. Fiala M, Liu Q, Sayre J, Pop V, Brahmandam V, Graves M, et al. Cyclooxygenase-2-positive macrophages infiltrate the Alzheimer's disease brain and damage the blood–brain barrier. Eur J Clin Invest 2002; 32(5): 360-371.
37. Karahan I, Ateşşahin A, Yılmaz S, Çeribaşı A, Sakin F. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. Toxicol 2005; 215(3): 198-204.
38. Farombi E, Ekor M. Curcumin attenuates gentamicin-induced renal oxidative damage in rats. Food Chem Toxicol 2006; 44(9): 1443-1448.
39. Chiu PY, Leung HY, Ko KM. Schisandrin B enhances renal mitochondrial antioxidant status, functional and structural integrity, and protects against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. Biol Pharm Bull 2008; 31(4): 602-605.
40. Sener G, Sehirli AÖ, Altunbas HZ, Ersoy Y, Paskaloglu K, Arbak S, et al. Melatonin protects against gentamicin- induced nephrotoxicity in rats. J Pineal Res 2002; 32(4): 231-236.
41. Chen L, Mohr SN, Yang CS. Decrease of plasma and urinary oxidative metabolites of acetaminophen after consumption of watercress by human volunteers. Clin Pharmacol Ther 1996; 60(6): 651-660.
42. Hecht SS, Chung FL, Richie JP, Akerkar SA, Borukhova A, Skowronski L, et al. Effects of watercress consumption on metabolism of a tobacco-specific lung carcinogen in smokers. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1995; 4(8): 877-884.
43. Yazdanparast R, Bahramikia S, Ardestani A. Nasturtium officinale reduces oxidative stress and enhances antioxidant capacity in hypercholesterolaemic rats. Chem Biol Interact 2008; 172(3): 176-184.
44. Plumb GW, Lambert N, Chambers SJ, Wanigatunga S, Heaney RK, Plumb JA, et al. Are whole extracts and purified glucosinolates from cruciferous vegetables antioxidants? Free Radic Res 1996; 25(1): 75-86.
45. Giacoppo S, Galuppo M, Montaut S, Iori R, Rollin P, Bramanti P, et al. An overview on neuroprotective effects of isothiocyanates for the treatment of neurodegenerative diseases. Fitoterapia 2015; 106: 12-21.
46. Palaniswamy UR, McAvoy RJ, Bible BB, Stuart JD. Ontogenic variations of ascorbic acid and phenethyl isothiocyanate concentrations in watercress (Nasturtium officinale R. Br.) leaves. J Agric Food Chem 2003; 51(18):

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:51 +0430 on Monday August 20th 2018

5504-5509.

47. Cavell BE, Syed Alwi SS, Donlevy AM , Proud CG, Packham G. Natural product-derived antitumor compound phenethyl isothiocyanate inhibits mTORC1 activity via TSC2. J Nat Prod 2012; 75(6): 1051-1057.
48. Park H-J, Kim S-J, Park S-J, Eom S-H, Gu G-J, Kim SH, et al. Phenethyl isothiocyanate regulates inflammation through suppression of the TRIF-dependent signaling pathway of Toll-like receptors. Life Sci 2013; 92(13): 793-798.
49. Negrette-Guzmán M, Huerta-Yepez S, Medina-Campos ON, Zatarain-Barrón ZL, Hernández-Pando R, Torres I, et al. Sulforaphane attenuates gentamicin-induced nephrotoxicity: role of mitochondrial protection. Evid Based Complement Alternat Med 2013: 135314.
50. Guerrero-Beltrán CE, Calderón-Oliver M, Pedraza-Chaverri J, Chirino YI. Protective effect of sulforaphane against oxidative stress: recent advances. Exp Toxicol Pathol 2012; 64(5): 503-508.
51. Guerrero-Beltrán CE, Calderón-Oliver M, Tapia E, Medina-Campos ON, Sánchez-González DJ, Martínez-Martínez CM, et al. Sulforaphane protects against cisplatin-induced nephrotoxicity. Toxicol Lett 2010; 192(3): 278-285.
52. Kowaltowski AJ, Netto LE, Vercesi AE. The Thiol-specific antioxidant enzyme prevents mitochondrial permeability transition evidence for the participation of reactive oxygen species in this mechanism. J Biol Chem 1998; 273(21): 12766-12769.
53. Maldonado PD, Barrera D, Rivero I, Mata R, Medina-Campos ON, Hernández-Pando R, et al. Antioxidant S-allylcysteine prevents gentamicin-induced oxidative stress and renal damage. Free Radic Biol Med 2003; 35(3): 317-324.
54. Pedraza-Chaverrí J, González-Orozco AE, Maldonado PD, Barrera D, Medina-Campos ON, Hernández-Pando R. Diallyl disulfide ameliorates gentamicin-induced oxidative stress and nephropathy in rats. Eur J Pharmacol 2003; 473(1): 71-78.