مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هجدهم، شماره ۷، تیر ۱۳۹۵، صفحه ۶۷-۶۲

اثر محافظتی عصاره آبی الکلی اسطوخودوس بر سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین در موش صحرایی

مجتبی کلانتر (PhD)[۱،۲]، غلامرضا هوشمند (PhD)[۲]، هادی کلانتر (PhD)[۳]، مرضیه اسدی (MSc)[۴]، مهدی گودرزی (PhD)[۲*]

۱-کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
۲-گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
۳-گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران
۴-گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

دریافت: ۹۴/۵/۸، اصلاح: ۹۴/۷/۶، پذیرش: ۹۴/۱۲/۱۲

خلاصه

سابقه و هدف: جنتامایسین یکی از آنتی‌بیوتیکهای آمینوگلیکوزیدی است که در درمان عفونت‌های باکتریایی گرم منفی استفاده می‌شود. با توجه به اینکه شیوع آسیب کلیوی در زمان مصرف دارو حدود ۱۰٪ گزارش شده است در این مطالعه اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی اسطوخودوس بر سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۰ موش صحرایی نر از نژاد ویستار به صورت تصادفی در پنج گروه ۶ تایی دسته‌بندی شدند. گروه اول نرمال سالین (۵ml/kg) و گروه دوم جنتامایسین با دوز ۸۰mg/kg از طریق داخل صفاقی به مدت ۱۰ روز دریافت نمودند. گروه های ۵-۳ به ترتیب دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰mg/kg عصاره اسطوخودوس را ۳ ساعت بعد از تزریق جنتامایسین از طریق صفاقی به مدت ۱۰ روز دریافت نمودند. یک روز بعد از آخرین دوز دارو میزان کراتینین سرمی، BUN، مالون‌دی‌آلدئید و گلوتاتیون در بافت کلیه چپ اندازه گیری شد. کلیه راست جهت تهیه نمونه بافتی و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین در فرمالین ۱۰٪ نگه‌داری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که جنتامایسین به طور معنی‌داری میزان کراتینین سرمی (۰/۲۷±۳/۴ mg/dl)، BUN (۴/۴۶±۶۲/۷۹ mg/dl)، مالون‌دی‌آلدئید بافت کلیه (۱۸۸/۱±۱۲۳۲ nmol/mg protein) و گلوتاتیون (۰/۳۳±۲/۸۲ nmol/mg protein) در موش‌های صحرایی را در مقایسه با گروه کنترل(به ترتیب ۰/۱۶±۰/۵۷، ۳/۳±۵۵/ ۱۹، ۵۸/۵۷±۳۶۹/۴۰و ۰/۷۴±۶/۲۲) تغییر داد($p<0/05$). عصاره با دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg به طور معنی‌داری افزایش سطوح کراتینین، BUN و مالون‌دی‌آلدئید ناشی از جنتامایسین را مهار کرد($p<0/05$). یافته‌های هیستوپاتولوژی نشان داد که جنتامایسین توانسته منجر به آسیب کلیوی و نکروز توبولی گردد.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی اسطوخودوس باعث کاهش اندکس‌های بیوشیمیایی و پارامترهای استرس اکسیداتیو در مقابل سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین گردید.

واژه‌های کلیدی: جنتامایسین، سمیت کلیوی، اسطوخودوس، موش صحرایی.

مقدمه

جنتامایسن از داروهای آمینوگلیکوزیدی است که دارای نقش اصلی در درمان بیماریهای عفونی و میکروبی می‌باشد. گزارشهای متفاوت نشان دهنده سمیت کلیوی مشخص این دارو در انسان و مدلهای آزمایشگاهی می‌باشد. شیوع آسیب کلیوی در زمان درمان با این دارو حدود ۱۰٪ می‌باشد(۱). با توجه به مطالعات اخیر تجمع انتخابی این دارو در قشر کلیه ها و تولید گونه‌های فعال اکسیژن(ROS) که منجربه ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب به توبول‌های پروگزیمال کلیه می‌شود، از دلایل سمیت کلیوی این دارو می‌باشند. گروه‌های آمین چندگانه بر روی مولکول آمینوگلیکوزید در pH فیزیولوژیک ایجاد یک شارژ کاتیونی می‌کنند. درنتیجه مولکول آمینوگلیکوزید به راحتی به فسفولیپیدهای آنیونی موجود در غشاء پلاسمایی سلولهای توبول پروگزیمال به شیوه اشباع پذیر الکترواستاتیک متصل می‌شوند سپس از طریق اندوسیتوز در اندامک‌های درون سلولی مانند میتوکندری و هسته تجمع می‌کنند. جنتامایسین سبب افزایش تولید آنیون سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن در میتوکندری‌های کلیه می‌شود. این رادیکال‌های آزاد با لیپیدهای اشباع نشده واکنش و سبب پراکسیداسیون لیپیدها و فسفولیپیدهای غشایی، تغییر سیالیت و افزایش نفوذپذیری غشاء و در نهایت منجر به آسیب سلولی می‌شوند. استرس اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن علاوه بر تخریب غشاء سلولی با اکسیداسیون پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، سبب دناتوره شدن پروتئین‌ها و شکسته شدن زنجیره DNA و آسیب بافتی شده که نتیجه آن کاهش فیلتراسیون گلومرولی و بروز سمیت حاد کلیوی می‌باشد(۴-۲). آنتی‌اکسیدانتها با خنثی سازی تاثیر

▣ این مقاله حاصل از طرح تحقیقات دانشجویی به شماره ۹۴S.۱۴ دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر مهدی گودرزی
آدرس: اهواز، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، دانشکده داروسازی، گروه فارماکولوژی و سم شناسی. تلفن: ۳۳۷۳۸۳۷۸ -۰۶۱
E-mail: gmehdi_787@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

متابولیت‌های فعال اکسیژن بر اجزای سلولی نقش موثری در جلوگیری از بروز آسیب اکسیداتیو و بیماری‌های مرتبط به آن ایفا می‌کنند. به همین دلیل یکی از مهمترین راههای پیشگیری از بیماری‌های ناشی از آسیب اکسیداتیو استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌باشد. تاکنون ترکیبات آنتی‌اکسیدان مختلفی شامل: ملاتونین، ویتامین E، پروبوکول، ان- استیل سیستئین، ال کارنیتین، تئوفیلین، فنول دوپام و... برای پیشگیری از سمیت کلیوی جنتامایسین و سایر آمینوگلیکوزیدها استفاده شده است (۱۰-۵). استفاده از گیاهان در معالجه تعداد بسیاری از بیماریها همواره بطور سنتی در سطح وسیعی متداول بوده است. امروزه درمان‌های گیاهی مانند استفاده از مکمل‌ها و عصاره گیاهانی که غنی از پلی‌فنول‌ها خصوصاً فلاونوئیدها و اسیدهای فنولی هستند در سراسر جهان معمول شده است. زیرا نشان داده شده که ترکیبات فنولی دارای اثرات محافظت‌کنندگی در برابر گونه‌های فعال اکسیژن بوده و نیز سیستم آنتی‌اکسیدان بدن را تقویت می‌کنند(۱۱-۹).

اسطوخودوس (لاوندا) به نام علمی *Lavandula officinalis* گیاهی است دائمی با بوته‌ای به ارتفاع حدودا یک متر و ساقه‌هایی چهار گوش که در قسمت-های پایین، چوبی می‌شوند. در طب سنتی ایرانی کاربردهای بسیاری از آن در درمان بسیاری از بیماری‌ها به اثبات رسیده است. محققان خواص متعدد درمانی از قبیل، ضد اظطراب، ضد افسردگی، ضد التهابی، ضد اسپاسم، ضد درد، ضد باکتری، ضد انگل، ضد ویروس، آرامبخشی و آنتی اکسیدانی از این گیاه گزارش کردند(۱۴-۱۱). با توجه به دارا بودن مواد موثره آنتی‌اکسیدانی در گیاه اسطخودوس، اثر محافظتی عصاره این گیاه در سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین در این مطالعه بررسی شد تا در صورت اثبات اثرات پیشگیرانه این گیاه، بتوان در بیمارانی که بدلیل عفونت‌های مقاوم مجبور به استفاده از این آنتی بیوتیک در دوزهای بالا و طولانی مدت هستند، توصیه به استفاده همزمان با مقدار مشخص روزانه گیاه اسطوخوددوس جهت پیشگیری از عوارض سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین نمود.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی: تترا اتوکسی پروپان، آلبومین سرم گاوی (BSA)، تیوباربیتوریک اسید (TBA)، دی تیو- بیس- نیترو بنزوئیک اسید (DTNB)، کوماسی بلو جی، تری کلرواستیک اسید (TCA)، گلوتاتیون احیاء (GSH) و دیگر مواد شیمیایی با درجه خلوص بالا از شرکت مرک تهیه گردید.

حیوانات: برای انجام این مطالعه تجربی، از ۳۰سر موش صحرایی نر، نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰±۲۰۰ گرم استفاده گردید. حیوانات از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز خریداری شدند. حیوانات در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات در دمای ۲±۲۰ درجه سانتی گراد در سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. آب لوله‌کشی شهری و غذای فشرده به میزان کافی در اختیار آنها قرار گرفت.

تهیه عصاره: پس از برداشت گیاه در فصل رویش آن و شناسایی و تأیید نام علمی، برگ گیاه خشک و سپس آسیاب گردید. مقدار ۲۰۰ گرم از پودر حاصل به مدت ۷۲ ساعت در حلال هیدروالکلی (۳۰ آب : ۷۰ اتانول) قرار گرفت، سپس عصاره بدست آمده از کاغذ صافی عبور داده شد و محلول صاف شده توسط دستگاه روتاری تغلیظ و پس از قرار دادن در آون ۴۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد عصاره خشک بدست آمد.

طراحی مطالعه: در این مطالعه تجربی، حیوانات به صورت تصادفی به پنج گروه شش تایی تقسیم شدند. گروه اول روزانه ۲ میلی لیتر سرم فیزیولوژی به مدت ۱۰ روز به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. گروه دوم جنتامایسین را با دوز ۸۰ mg/kg به مدت ۱۰ روز به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. گروه سوم، چهارم و پنجم به ترتیب ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg عصاره سه ساعت بعد از جنتامایسین با دوز ۸۰ mg/kg به مدت ۱۰ روز به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق(روز یازدهم)، پس از القای بیهوشی حیوانات به وسیله اتر، شکم آنها توسط قیچی جراحی باز و از قلب آنها ۲ میلی لیتر خون گرفته و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سرم جدا شده به آزمایشگاه بیوشیمی منتقل و برای ارزیابی آسیب کلیوی، دو شاخص نیتروژن اوره خون (BUN) و کراتینین سرم بررسی گردید. از هر موش کلیه سمت راست جدا شد و در محلول فرمالین ۱۰ درصد تثبیت و جهت تعیین میزان آسیب بافتی به آزمایشگاه پاتولوژی ارسال شد. کلیه های سمت چپ برای ارزیابی میزان مالون دی آلدئید و گلوتاتیون جدا شد.

برای این منظور نیم گرم از بافت کلیه در بافر فسفات ۰/۱ مولار با ۷/۴ =pHو با غلظت ۱۰ درصد حجمی/وزنی هموژنیزه گردید. برای تعیین غلظت پروتئین، از روش Bradford استفاده شد(۱۵). معرف برادفورد که شامل کوماسی بلو، اسید فسفریک ۸۵٪ و اتانول ۹۶ ٪ می‌باشد، تهیه گردید. جذب رنگ حاصل از مخلوط ۵۰ میکرولیتر از هموژنه بافتی رقیق شده و ۲/۵ میلی لیتر از معرف برافورد را با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر در معادله کالیبراسیون غلظتهای مشخص ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از آلبومین سرم گاوی قرار داده و غلظت پروتئین بدست آورده شد.

اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدئید: برای تعیین میزان مالون دی الدئید، از روش Satho استفاده شد(۱۶). به نیم میلی لیتر از بافت هموژنه، ۱/۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۱۰ درصد اضافه نموده و سپس با دور g ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. به ۱/۵ میلی لیتر از مایع رویی، ۲ میلی لیتر محلول ۰/۶۷ درصد تیو باربیتوریک اسید اضافه نموده و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش انکوبه شد. سپس ۲ میلی لیتر ۱- بوتانول به محلول اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه با دور g ۴۰۰۰ سانتریفوژ گردید. جذب محلول رویی صورتی رنگ به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت گردید. غلظت مالون دی آلدئید با استفاده از تترا اتوکسی پروپان به عنوان استاندارد، تعیین شده و نتایج به صورت نانومول بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد. جهت رسم منحنی کالیبراسیون از غلظت‌های ۰/۲- ۲۰ میکرومولار تترا اتوکسی پروپان در اسید سولفوریک ۱۰ ٪ استفاده گردید.

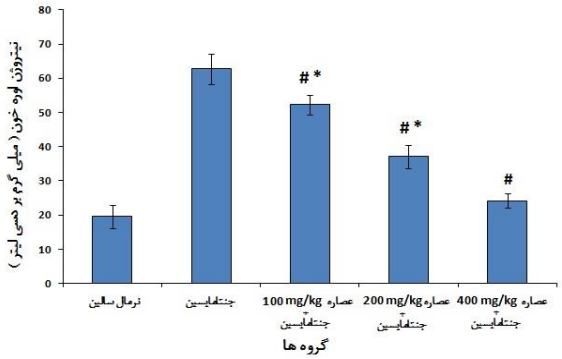
اندازه‌گیری میزان گلوتاتیون: محتوای گلوتاتیون توسط واکنش گلوتاتیون با معرف المن (DTNB) و ایجاد TNB (رنگ زرد) شناسایی و اندازه‌گیری می‌شود. (۱۷). به طور خلاصه ۱ میلی‌لیتر بافر Tris-EDTA با pH=۸/۶ به ۵۰ میکرولیتر بافت هموژنه اضافه و مخلوط گردید. سپس ۲۰ میکرولیتر معرف المن ۰/۰۱ مولار در متانول به مخلوط بالا اضافه و بعد از ۱۵ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، رنگ زرد ایجاد شده در طول موج ۴۱۲ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. از استاندارد گلوتاتیون در غلظت‌های مختلف برای رسم

Archive of SID
www.SID.ir

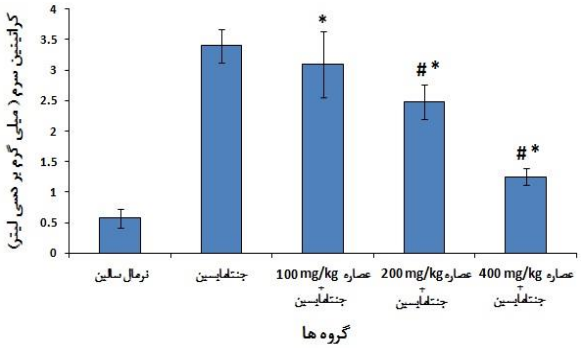
منحنی کالیبراسیون استفاده شد. با توجه به میزان پروتئین در هر میلی لیتر از هموژنه بافتی، محتوای گلوتاتیون بر حسب نانومول بر میلی‌گرم پروتئین بدست آمد. داده های آماری به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۸ و آزمونهای آماری آنالیز واریانس یک طرفه، آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شد و $p<۰/۰۵$ معنی دار درنظر گرفته شد

یافته ها

اثرات عصاره هیدروالکلی اسطوخودوس بر میزان BUN و کراتینین سرم: نتایج نشان داد که میزان کراتینین سرمی و BUN در گروه دریافت کننده جنتامایسین به ترتیب ۰/۲۷±۳/۴ و ۴/۴۶±۶۲/۷۹ و در گروه دریافت کننده نرمال سالین به ترتیب ۰/۱۶±۰/۵۷ و ۳/۳±۱۹/۵۵بود. تجویز جنتامایسین به تنهایی باعث افزایش معنی‌داری در میزان BUN و کراتینین سرم نسبت به گروه دریافت کننده نرمال سالین شد($p<۰/۰۵$) (نمودار ۱ و ۲). با توجه به نتایج، کمترین غلظت کراتینین و BUN مربوط به گروه دریافت کننده نرمال سالین و بیشترین غلظت مربوط به گروه دریافت کننده جنتامایسین می‌باشد. میزان BUN در گروه های دریافت کننده جنتامایسین و عصاره با دوزهای ۱۰۰،۲۰۰ و ۴۰۰mg/kg با گروه دریافت کننده جنتامایسین به تنهایی اختلاف معنی داری مشاهده شد($p<۰/۰۵$) به طوری که میزان BUN در گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۴۰۰mg/kg با گروه دریافت کننده نرمال سالین اختلاف معنی داری نداشت که نشان دهنده تاثیر مثبت عصاره در کاهش آسیب کلیوی ناشی از تزریق جنتامایسین می‌باشد.



نمودار۱. میانگین سطح نیتروژن اوره خون در گروه های مورد مطالعه



نمودار۲. میانگین سطح کراتینین سرمی در گروه‌های مورد مطالعه

* اختلاف معنی‌دار با نرمال سالین($p<۰/۰۵$)، # اختلاف معنی‌دار با گروه دریافت کننده جنتامایسین($p<۰/۰۵$) (هر دو نمودار)

اثرات عصاره هیدروالکلی اسطوخودوس بر میزان گلوتاتیون و مالون‌دی‌آلدئید در بافت کلیه: نتایج نشان داد که میزان مالون‌دی‌آلدئید و گلوتاتیون بافت کلیه در گروه دریافت کننده جنتامایسین به ترتیب ۱۸۸/۱±۱۲۳۲ و ۰/۳۳±۲/۸۲ نانو مول بر میلی‌گرم پروتئین و در گروه دریافت کننده نرمال سالین به ترتیب۵۸/۵۷±۳۶۹/۴۰و ۰/۷۴±۶/۲۲ نانو مول بر میلی‌گرم پروتئین بود. جنتامایسین مقدار مالون‌دی‌آلدئید در بافت کلیه را در مقایسه با گروه دریافت کننده نرمال سالین بصورت معنی‌داری افزایش داد($p<۰/۰۵$).

عصاره با دوزهای ۱۰۰،۲۰۰ و ۴۰۰mg/kg افزایش مالون‌دی‌آلدئید ناشی از جنتامایسین را بطور معنی‌داری کاهش دادند($p<۰/۰۵$) بطوریکه میزان مالون‌دی-آلدئید بین گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۴۰۰mg/kg و گروه دریافت کننده نرمال سالین اختلاف معنی داری وجود نداشت(جدول ۱). همچنین جنتامایسین مقدار گلوتاتیون در بافت کلیه را در مقایسه با گروه دریافت کننده نرمال سالین بصورت معنی داری کاهش داد($p<۰/۰۵$). عصاره با دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰mg/kg کاهش گلوتاتیون ناشی از جنتامایسین را بطور معنی داری افزایش دادند($p<۰/۰۵$).

جدول ۱. اثر عصاره اسطوخودوس بر میزان گلوتاتیون و مالون‌دی-آلدئید در بافت کلیه موش‌های صحرایی مواجهه با جنتامایسین

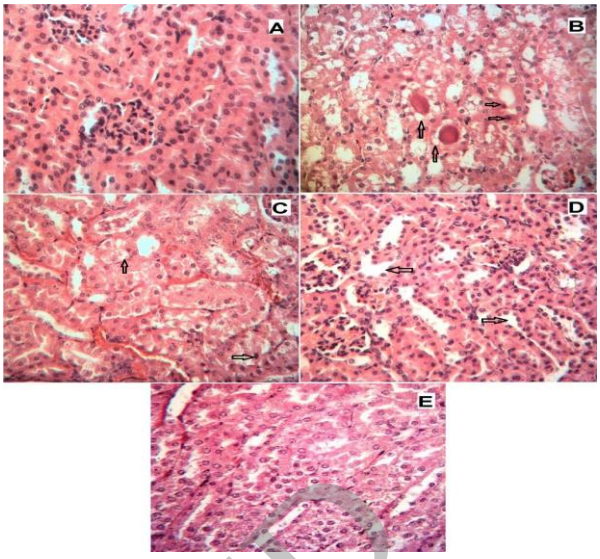
گروه	گلوتاتیون (نانومول بر میلی‌گرم پروتئین)	مالون دی آلدئید (نانومول بر میلی‌گرم پروتئین)
کنترل(نرمال سالین)	۶/۲۲±۰/۷۴^{b}	۳۶۹/۴۰±۵۸/۵۷^{b}
جنتامایسین	۲/۸۲±۰/۳۳^{a}	۱۲۳۲±۱۸۸/۱^{a}
جنتامایسین+عصاره ۱۰۰mg/kg	۳/۳۰±۰/۳۴^{a}	۸۶۵/۸±۱۴۱/۳^{a,b}
جنتامایسین+عصاره ۲۰۰mg/kg	۴/۳۱±۰/۵۳^{a,b}	۶۹۵/۲±۵۸/۷۴^{a,b}
جنتامایسین+ عصاره ۴۰۰mg/kg	۵/۱۵±۰/۶۰^{a,b}	۵۵۱/۴±۷۸/۷۳^{b}

a اختلاف معنی‌دار با نرمال سالین ($p<۰/۰۵$)، b اختلاف معنی‌دار با جنتامایسین ($p<۰/۰۵$)

اثرات عصاره هیدروالکلی اسطوخودوس بر هیستوپاتولوژی بافت کلیه: در گروه دریافت کننده سرم فیزیولوژی بافت کلیه دارای ساختار نرمال بوده و ضایعه پاتولوژیک خاصی مشاهده نگردید(شکل A۱). در گروه دریافت کننده جنتامایسین در سلولهای پوشاننده لوله‌های پروگسیمال کلیوی تورم سلولی مشاهده گردید. در برخی از لوله‌ها نکروز سلولی قابل توجهی قابل رویت بود (شکل B۱).

در گروه دریافت کننده جنتامایسین و عصاره اسطوخودوس با دوز ۱۰۰mg/kg، نکروز و تورم سلولی در سلول‌های پروکسیمال مشاهده شد(شکل C ۱). در گروه دریافت کننده جنتامایسین و عصاره اسطوخودوس با دوز ۲۰۰mg/kg، اثر محافظتی قابل توجهی به چشم می‌خورد و میزان آسیب وارد شده به کلیه کمتر است(شکل D۱). در بافت کلیه حیوانات گروه دریافت کننده جنتامایسین و عصاره اسطوخودوس با دوز ۴۰۰mg/kg، تورم سلولی مشاهده شد(شکل E۱).

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱. تصویر میکروسکوپی بافت کلیه موش صحرایی در گروههای مورد مطالعه. رنگ آمیزی هماتوکسین- ائوزین. بزرگنمایی X400

A تصویر میکروسکوپی بافت کلیه موش صحرایی در گروه کنترل، B تصویر میکروسکوپی بافت کلیه موش صحرایی در گروه جنتامایسین، C-E تصویر میکروسکوپی بافت کلیه موش صحرایی در گروههای دریافت کننده عصاره به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg

بحث و نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که تجویز توام عصاره اسطوخودوس همراه با جنتامایسین سبب پیشگیری از آسیب کلیوی ناشی از مصرف این دارو در موش‌های صحرایی می‌شود. این اثر به خواص آنتی‌اکسیدانی این گیاه و مهارکنندگی پراکسیداسیون لیپیدها مربوط می‌شود. همان‌گونه که در این مطالعه مشاهده شد، پارامترهای استرس اکسیداتیو و عملکرد دفعی کلیه‌ها در گروه‌های کنترل و دریافت کننده جنتامایسین اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند. جنتامایسین به‌طور فعال در توبول پروگزیمال بازجذب می‌شود و تجمع جنتامایسین در سلول‌های توبولار سبب آسیب به این قطعه و اختلال گردش خون کلیوی می‌شود که در نتیجه آن میزان فیلتراسیون گلومرولی کاهش یافته و غلظت کراتینین و BUN پلاسما افزایش می‌یابد(۱۸). در این مطالعه نیز مقایسه نتایج گروه جنتامایسین با گروه کنترل نشان می‌دهد که در گروه جنتامایسین، میزان کراتینین که بیانگر مقدار فیلتراسیون گلومرولی است کاهش یافته که منجر به افزایش شدید غلظت کراتینین و BUN پلاسمایی در این گروه شد. دریافت عصاره اسطوخودوس با دوزهای متفاوت توانست میزان کراتینین و BUN را به صورت وابسته به دوز کاهش دهد. در مطالعه Nasri و همکاران در ارزیابی تاثیر عصاره سیر بر درمان و پیشگیری از سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین، دو فاکتور کراتینین و BUN کاهش نشان داد. آنها کاهش میزان کراتینین و BUN در نتیجه تجویز عصاره سیر را به وجود ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی آن مرتبط می‌دانند(۱۹). در مطالعه حاضر نیز تاثیر دوز ۲۰۰mg/kg و ۴۰۰ عصاره اسطوخودوس بر پیشگیری از سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین در مقایسه باگروه دریافت کننده جنتامایسین به تنهایی معنی‌دار بود. همچنین به‌کارگیری عصاره گیاه اسطوخودوس توانست میزان مالون دی آلدئید را در بافت کلیه کاهش و میزان گلوتاتیون را افزایش دهد. این مسأله بیانگر کاهش میزان استرس اکسیداتیو و افزایش قدرت احیاءکنندگی بافت کلیه می‌باشد و این یافته همسو با نتایج تحقیقات دیگر می‌باشد(۹و۷-۵). در مطالعه‌ای دیگر Ashtiani و همکارانش که اثر عصاره گیاه مریم گلی بر سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین بررسی شد، نتایج نشان داد که میزان فیلتراسیون گلومرولی که توسط جنتامایسین کاهش یافته بود به‌طور نسبی توسط مصرف عصاره مریم‌گلی بهبود پیدا کرد که منجر به کاهش غلظت کراتینین و اوره- نیتروژن پلاسما گردید. همچنین میزان استرس اکسیداتیو که توسط جنتامایسین افزایش یافته بود توسط مصرف عصاره مریم‌گلی به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت لذا بدلیل تشابه مواد موثره موجود در عصاره اسطوخودوس و مریم گلی انتظار می‌رود که عصاره اسطوخودوس نیز اثرات مشابهی در کاهش میزان غلظت کراتینین و اوره –نیتروژن پلاسما درنتیجه تقویت عملکرد کلیوی و محافظت کلیوی از خود داشته باشد(۲۰). بنابراین می‌توان اثرات مشاهده شده محافظت کلیوی عصاره اسطوخودوس را نیز به محتوای بالای آنتی‌اکسیدانی این گیاه نسبت داد. میزان BUN و کراتینین ارتباط مستقیمی با میزان آسیب کلیوی و اختلال عملکرد کلیوی دارد که در واقع معیار و شاخصی جهت میزان عملکرد کلیوی و توبول پروکسیمال می‌باشد. در این مطالعه و دیگر مطالعات انجام شده این شاخص‌ها در گروه‌های حیوانی که عصاره گیاهی همراه با جنتامایسین دریافت نموده‌اند بطور معنی داری کاهش یافته‌اند که سندی بر بهبود عملکرد کلیوی و در واقع اثر پیشگیرانه این گیاهان بر سمیت کلیوی بوده است. Najafzadeh و همکارانش اثر محافظتی عصاره گیاه سیلیمارین (خارمریم) را در سمیت ناشی از جنتامایسین در سگ بررسی کردند که مطالعات هیستوپاتولوژیک نهایی از بافت کلیه نشان داد که عصاره گیاه خارمریم توانسته بود از گلومرولونفریت ناشی از جنتامایسین در بافت کلیه تا حد زیادی پیشگیری کند که این اثر سیلیمارین را ناشی از مواد موثره آنتی اکسیدانی موجود در این گیاه نسبت دادند(۲۱).

تحقیقات دیگری نیز نشان داده‌اند که به‌کارگیری عوامل آنتی‌اکسیدان می‌توانند مانع افزایش غلظت کراتینین و BUN بدنبال مصرف جنتامایسین گردند(۶). HajHashemi و همکارانش اثر ضد التهابی عصاره آبی الکلی و پلی فنولی و نیز اسانس این گیاه را بررسی و اثبات کردند(۲۲). با انجام آزمایشات کروماتوگرافی مشخص شد که این گیاه دارای ۲۶ ماده مختلف می‌باشد. اسانس اسطوخودوس اکثرا حاوی لینالول (Linalool)، لینالیل استات(Linalyl acetate)، اوسی‌من (Ocimene)، کامفر(Camphor) و کایوفیلین اکساید(Caryophyllene oxide) می‌باشد. از جمله سایر ترکیبات این گیاه می‌توان به تانن‌ها، کومارین، فلاوونوئیدها و فیتواسترول‌ها اشاره نمود(۲۳).از آن‌جایی‌که گیاه اسطوخودوس دارای اثرات آنتی‌اکسیدان و ضدالتهاب قدرتمندی می‌باشد بنابراین احتمالاً بواسطه اثرات آنتی‌اکسیدانی و از طریق حذف رادیکالهای آزاد توانسته است سبب کاهش اثرات سمی جنتامایسین بر سلولهای توبولی کلیه گردد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز به دلیل حمایت مالی از این تحقیق و همچنین از آقای دکتر مهدی اسماعیل زاده جهت همکاری در این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌گردد.

Archive of SID
www.SID.ir

Protective Effect of Hydroalcoholic Extract of Lavandula Officinalis L. on Gentamicin Induced Nephrotoxicity in Rats

M. Kalantar (PhD)[1,2], Gh. Houshmand (PhD) [2], H. Kalantar (PhD) [3], M. Asadi (MSc)[4], M. Goudarzi (PhD)* [2]

1. Student Research Committee, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, I.R.Iran
2. Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, I.R.Iran
3. Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran
4. Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 18(7); Jul 2016; PP: 62-7

Received: Jul 30th 2015, Revised: Sep 28th 2015, Accepted: Mar 2th 2016

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Gentamicin is an aminoglycoside antibiotic used in the treatment of Gram-negative bacterial infections. Given that the prevalence of kidney damage has been reported about 10% while taking the drugs. In this study, the protective effect of hydroalcoholic extract of *Lavandula officinalis* on gentamicin-induced nephrotoxicity was studied.

METHODS: In this experimental study, thirty Wistar male rats were divided randomly into five groups of six in each group. The first group received normal saline (5 ml/kg) and the second group received gentamicin 80 mg/kg intraperitoneally for 10 days. Groups 3-5 received respectively 100, 200 and 400 mg/kg of hydroalcoholic extract of *Lavandula officinalis* intraperitoneally 3 hours after gentamicin injection for 10 consecutive days. One day after the last injection, Serum creatinine, BUN, malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) were measured in left renal tissue. The right kidney was maintained in 10% formalin for Hematoxylin and Eosin (H&E) staining and histological examination.

FINDINGS: The results showed that gentamicin changed significantly serum creatinine (3.4±0.27 mg/dl), BUN (62.79±4.46 mg/dl), Kidney tissue MDA (1232±188.1 nmol/mg protein) and GSH (2.82±0.33 nmol/mg protein) in rats compared to controls (0.57±0.16, 19.55±3.3, 369.40±58.57 and 6.22±0.74 respectively) ($p<0.05$). Extract at a dose of 200 mg/kg 400 significantly inhibited gentamicin-induced enhancement of serum creatinine, BUN and tissue MDA levels ($p<0.05$). Histological results showed that gentamicin could lead to kidney damage and tubular necrosis.

CONCLUSION: The results showed that hydroalcoholic extract of *Lavandula officinalis* reduces biochemical indices and oxidative stress parameters against gentamicin-induced nephrotoxicity icity.

KEY WORDS: *Gentamicin, Nephrotoxicity, Lavandula officinalis, Rat.*

Please cite this article as follows:

Kalantar M, Houshmand Gh, Kalantar H, Asadi M, Goudarzi M. Protective Effect of Hydroalcoholic Extract of Lavandula Officinalis L. on Gentamicin Induced Nephrotoxicity in Rats. J Babol Univ Med Sci. 2016;18(7):62-7.

***Corresponding author: M. Goudarzi (PhD)**

Address: Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, I.R.Iran

Tel: +98 61 33738378

E-mail: gmehdi_787@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

References

1.Humes HD. Aminoglycoside nephrotoxicity. Kidney Int. 1988;33(4):900-11.
2.Mingeot-Leclercq M-P, Tulkens PM. Aminoglycosides: nephrotoxicity. Antimicrob Agents Chemother. 1999;43(5):1003-12.
3.Walker PD, Barri Y, Shah SV. Oxidant mechanisms in gentamicin nephrotoxicity. Ren fail. 1999;21(3-4):433-42.
4.Cuzzocrea S, Mazzon E, Dugo L, Serraino I, Di Paola R, Britti D, et al. A role for superoxide in gentamicin-mediated nephropathy in rats. Eur J Pharmacol. 2002;450(1):67-76.
5.Mazzon E, Britti D, De Sarro A, Caputi AP, Cuzzocrea S. Effect of N-acetylcysteine on gentamicin-mediated nephropathy in rats. Eur J pharmacol. 2001;424(1):75-83.
6.Farombi E, Ekor M. Curcumin attenuates gentamicin-induced renal oxidative damage in rats. Food chem Toxicol. 2006;44(9):1443-8.
7.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):231-6.
8.Kopple JD, Ding H, Letoha A, Ivanyi B, Qing DPY, Dux L, et al. l-carnitine ameliorates gentamicin-induced renal injury in rats. Nephrol Dial Transplant. 2002;17(12):2122-31.
9.Abdel-Naim AB, Abdel-Wahab MH, Attia FF. Protective effects of vitamin E and probucol against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. Pharmacol Res. 1999;40(2):183-7.
10.Derakhshanfar A, Bidadkosh A, Yazdi AM. Dopamine protects gentamicin early induced nephrotoxicity in Sprague–Dawley rats. Comp Clin Pathol. 2008;17(2):99-104.
11.Takaki I, Bersani-Amado L, Vendruscolo A, Sartoretto S, Diniz S, Bersani-Amado C, et al. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of Rosmarinus officinalis L. essential oil in experimental animal models. J Med Food. 2008;11(4):741-6.
12.Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M, Simin N. Antimicrobial and antioxidant activities of Melissa officinalis L.(Lamiaceae) essential oil. J Agric Food Chem. 2004;52(9):2485-9.
13.Rahmati B, Khalili M, Roghani M, Ahghari P. Anticonvulsant effect of hydro-alcoholic extract of Lavandula officinalis on seizures in pentylenetetrazol-induced kindling model in male mice.Shahid J System. 2012;19(98):25-32.[In Persian].
14.Abbasi Maleki S, Bekhradi R, Asgharpanah J, Abbasi Maleki F, Maleki Ahanghari N. Antidepressant- Like effect of aqueous and hydroalcoholic extracts of Lavandula angustifolia Mill in forced swim test and tail suspension test in male mice. Arak Univ Med Sci J. 2013;16(9):65-75.[In Persian].
15.Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochem. 1976;72(1):248-54.
16.Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clin Chim Acta. 1978;90(1):37-43.
17.Sadegh C, Schreck RP. The spectroscopic determination of aqueous sulfite using Ellman's reagent. MURJ. 2003;8:39-43.
18.Quiros Y, Vicente-Vicente L, Morales AI, López-Novoa JM, López-Hernández FJ. An integrative overview on the mechanisms underlying the renal tubular cytotoxicity of gentamicin. Toxicol Sci. 2011;119(2):245-56.
19.Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Preventive and Curative effect of garlic on nephrotoxic effect of gentamicin in rat. J Babol Univ Med Sci. 2014;16(2):42-8.[In Persian].
20.Ashtiani SC, Jafari M, Najafi H, Ahmadi M. Protective effects of salvia officinalis extract against gentamicin-induced nephrotoxicity in rat. J Kermanshah Univ Med Sci. 2013;17(4):212-20.[In Persian].
21.Najafzadeh VH, Esmaeilzadeh S, Morovati H, Avizeh R, Ezati GM. Protective effect of silymarin and vitamin E on gentamicin-induced pathological changes in kidney of dog. 2010;26(1):91-100.[In Persian].
22.Hajhashemi V, Ghannadi A, Sharif B. Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of Lavandula angustifolia Mill. J Ethnopharmacol. 2003;89(1):67-71.
23.Umezu T, Nagano K, Ito H, Kosakai K, Sakaniwa M, Morita M. Anticonflict effects of lavender oil and identification of its active constituents. Pharmacol Biochem Behav. 2006;85(4):713-21.

Archive of SID

www.SID.ir