مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۳۱ شماره ۱ بهار ۱۳۸۸ صفحات ۸۴- ۷۹

اثر آنتی اکسیدانی عصاره دانه هویج و نقش حفاظتی آن در موش صحرایی دریافت کننده جنتامایسین

محمّد نوری: گروه بیوشیمی بالینی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز تحقیقات کاربردی داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط
E-mail: nourimd@ yahoo.com
آرش خاکی: گروه پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد تبریز
فاطمه فتحی: گروه بیوشیمی داروئی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
حسن رضا زاده: گروه زهرشناسی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
همایون دولتخواه: دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
امیرمنصور وطن خواه: مرکز تحقیقات داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۶/۸/۲ **پذیرش**: ۸۷/۲/۱۴

چکیده

زمینه و اهداف: نشان داده شده که روغن دانه هویج دارای ظرفیّت جذب رادیکال اکسیژن بالایی می باشد که نشانگر ذخیره بسیار مناسب آنتی اکسیدانتهای طبیعی در دانه یاد شده است. به همین ترتیب ظرفیّت خنثی نمودن رادیکالی و توانایی بالای این عصاره در محافظت لیپیدهای غشاء، DNA و پروتئین ها در مقابل رادیکالهای آزاد در شرایط آزمایشگاهی گزارش شده است. هدف از این مطالعه نشان دادن تاثیر عصاره دانه هویج برروی میزان پراکسیداسیون لیپیدی، ظرفیّت آنتی اکسیدانت و سطح پاراکسوناز پلاسمائی در رت و نقش حفاظتی آن در مقابل استرس اکسیداتیو القاء شده بوسیله جنتامایسین می باشد.

روش بررسی: چهل رت نر بالغ بطور تصادفی به ۵ گروه هشت تایی تقسیم شدند. گروه اول (کنترل) روزانه نیم میلی لیتر محلول دی متیل سولفواکسید، گروه دوّم روزانه نیم میلی لیتر محلول دی متیل سولفواکسید حاوی ۲۰۰ mg/kg عصاره، گروه سوّم روزانه نیم میلی لیتر محلول دی متیل سولفواکسید حاوی ۴۰۰ mg/kg عصاره، گروه چهارم روزانه نیم میلی لیتر محلول دی متیل سولفواکسید حاوی ٤٠٠mg/kg عصاره همراه با ۵ mg/kg جنتامایسین و گروه پنجم نیم میلی لیتر محلول دی متیل سولفواکسید همراه با ۵ mg/kg جنتامایسین به مدت ٢٤ روز به صورت داخل پریتوانی دریافت نمودند. یک روز بعد از آخرین تزریق، از تمامی حیوانات خونگیری بعمل آمد. برای بررسی پراکسیداسیون لیپیدی در پلاسما مالون دی آلدئید با استفاده از واکنش تیوباربیتوریک اسید اندازه گیری گردید. میزان آنتی اکسیدانت تامّ، میزان فعّالیّت پاراکسوناز و آریل استراز پلاسما با روشهای استاندارد اندازه گیری شدند.

یافته ها : سطح پلاسمائی آنتی اکسیدان در گروه سوّم بیشترین و در گروه پنجم کمترین مقدار بد ست آمد. هم چنین اختلاف معنی داری بین غلظت آن در گروه دوّم و چهارم با گروه کنترل مشاهده نشد. میانگین غلظت پلاسمایی مالون دی آلدئید برابر ۰/۱۱ ±۲/۳، ۰/۱۰ ±۲/۱و ۰/۱۵ ±۳/٤ نانو مول در میلی لیتر به ترتیب در گروه کنترل، گروه سوّم و گروه پنجم محاسبه گردید که بررّسیهای آماری اختلاف معنی داری را ما بین گروه پنجم و سایر گروهها نشان داد. سطح فعّالیّت آنزیم پاراکسوناز در گروه سوّم افزایش و در گروه پنجم کاهش، در حالی که تغییر معنی داری در گروههای دوّم و چهارم نسبت به گروه کنترل مشاهده نگردید.

نتیجه گیری: مصرف عصاره دانه هویج به میزان ٤٠٠ mg/kg/day با افزایش سطح آنتی اکسیدانتهای خون و بالابردن میزان فعّالیّت پاراکسوناز، پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش و استرس اکسیداتیو را مهار می کند. همچنین این عصاره اثانولی نقش حفاظتی مناسبی در مقابل ترکیبات توکسیک و آپوپتیک ایفا می کند.

کلید واژه ها: عصاره دانه هویج، جنتامایسین، پاراکسوناز و پراکسیداسیون لیپیدی

مقدمه

صدمه اکسیدایتوبه اجـزاء سـلولی پـاتولوژی بیماریهـای مـزمن متعدّد از جمله سـرطان و اخـتلالات قلبـی –عروقـی، نـازائی و ... می باشد (۱–۳). گونـه هـای اکـسیژن فعـال بـا صـدمه بـه DNA سلولی می تواند به عنـوان کارسـینوژن نقـش مهمّـی در بیماریهـای مرتبط با سنّ ایفا نماید. بهمین ترتیب این ترکیبات با کـاهش سـطح فعّالیّت پاراکسوناز اکسیداسیون لیپو پروتئین با دانسیته کم را تـسریع و زمینه ایجاد آترواسکلروز را فـراهم مـی کننـد (٤و٥). بـه همـین علّت یکی از مهمّترین راههای پیشگیری بیماریهای مزمن وابسته بـه سنّ به حداقل رساندن صدمه اکسیداتیو ذکر شـده اسـت (٦). آنتـی اکسیدانتها با خنثـی نمـودن مـستقیم تـاثیر ترکیبـات اکـسیژن فعـال براجزاء سلولی اهمیت بسزائی در پیش گیری از بروز ایـن بیماریهـا ایفا می کنند (۷و۸). در بعضی از گیاهان و محـصولات کـشاورزی وجود ترکیبات آنتی اکـسیدانت بررّسـی و نـشان داده شـده اسـت (۹و۱۰). اخیراً روغن دانه بعضی از گیاهان استخراج و در دسـترس می باشد. این روغنها بدون داشـتن مـواد شـیمیائی اضـافی حـاوی ترکیبات متعدّد از جمله آنتی اکسیدانتها می باشند.

عصاره اتانولی دانه هـویج از نظـر ترکیـب اسـیدهای چـرب، پایداری اکسیداتیو و خصوصیّات آنتی اکسیدانتی اخیراً مورد مطالعـه قرارگرفته است. نزدیک به ۸۰٪ اسـیدهای چـرب موجـود در دانـه هویج اسید اولئیک گزارش شده اسـت (۱۱). نـشان داده شـده کـه ظرفیت جذب رادیکال اکـسیژن عـصاره دانـه هـویج در حـدود ۱٦۰ µmolTE/g می باشد که نـشانگر ذخیـره بـسیار بـالای آنتـی اکسیدانتهای طبیعی در دانه یاد شده اسـت (۱۲). بـه همـین ترتیـب ظرفیّت خنثی نمودن رادیکالی ومیزان ترکیبات فنولی بـرای عـصاره اتـــانولی دانـــه هـــویج حـــدود ۸/۹ µmolTE/g و ۱/۹۸ mgGE/g گزارش شـده کـه نـشاندهنده توانـایی بـالای ایـن عصاره در محافظت لیپیدهای غشاء، DNA و پروتئین هـا در مقابـل رادیکالهای آزاد و داشتن غلظت بالای ترکیبات فنـولی بـا خاصـیت آنتی اکسیدانت می باشـد (۱۲). بـا ایـن حـال مطالعـه تجربـی در ارتباط با نقش محافظتی و درمـانی عـصاره اتـانولی دانـه هـویج در حیوانات آزمایشگاهی به چاپ نرسیده است. هدف از ایـن مطالعـه نـشان دادن تـاثیر عـصاره اتـانولی دانـه هـویج بـرروی میـزان پراکسیداسیون لیپیدی، ظرفیت آنتی اکسیدانت و سـطح پاراکـسوناز پلاسمائی در رت و نقش حفاظتی آن در مقابل اثـرات جنتامایـسین (بعنوان یک ترکیب نکروتیک و آپوپتوتیک) می باشد.

مواد و روش ها

۸۰۰ گرم دانه هویج در آسیاب خرد و در ٤ درجه سانتی گـراد توسط دو لیتر اتانول ۹۹/۵٪ بـه مـدت ۲٤ سـاعت عـصاره گیـری گردید. عصاره های اتـانولی جمـع آوری و اتانـل آنهـا در دسـتگاه روتاری اواپراتـور در دمـای ۵۰ درجـه سـانتی گـراد کـاملا تبخیـر گردیده و عصاره حاصله برای تزریق داخل پریتـوان مـورد اسـتفاده قرارگرفت. ازحلّال دی متیل سولفوکساید بـه عنـوان حامـل جهـت تزریق عصاره به رت استفاده گردید.

چهل رت نر بالغ با وزن در محدوده ۱۸۰–۱۳۰ گـرم بـصورت تصادفی انتخاب و در شرایط استاندارد از نظر غـذا و آب بـه مـدت دو هفتـه نگهـداری شـدند. در انتهـای هفتـه دوّم حیوانـات بطـور تصادفی به ۵ گروه هـشت تـایی (گـروه کنتـرل، گـروه دوزپـایین، گروه دوز بالا، گروه دوز بالا + جنتامایـسین و گـروه جنتامایـسین) تقسیم گردیدند. گروه اول روزانه نیم میلـی لیتـر محلـول دی متیـل سولفواکسید(کنترل)، گروه دوم روزانه نـیم میلـی لیتـر محلـول دی متیل سولفواکسید حاوی عصاره اتـانولی دانـه هـویج ۲۰۰ mg/kg، گروه سوم روزانه نیم میلی لیتر محلول دی متیل سولفواکـسیدحاوی عصاره اتانولی دانه هویج ۴۰۰mg/kg، گروه چهارم روزانه نیم میلـی لیتر محلول دی متیل سولفواکسیدحاوی ۴۰۰ mg/kg عصاره همـراه با ۵ my/kg جنتامایسین (۱۸) و گروه پنجم نیم میلـی لیتـر محلـول دی متیل سولفواکسید همراه بـا ۵ mg/kg جنتامایـسین بـه مـدت ۲٤ روز به صورت داخل پریتوانی دریافـت نمودنـد. یـک روز بعـد از آخرین تزریـق سـه میلـی لیتـر خـون از تمـامی حیوانـات اخـذ و پلاسمای آنها بلافاصله جدا و تازمـان انجـام آزمـایش در منهـای ۷ درجه سانتی گراد خیره گردیدند .

برای اندازه گیـری پراکـسیداسیون لیپیـدی در پلاسـما از روش yagi (۱۳) استفاده شد. در این روش مقدار مالون دی آلدئید بعـد از راکسیون با تیوباربیتوریک اسید بطور اسـپکتروفلورومتری در طـول موجهای ۵۱۵و ۵۵۳ نانومتر انـدازه گیـری وغلظـت آن در پلاسـما برحسب مالون دی آلدئید محاسبه می گـردد. انـدازه گیـری سـطح پلاسمائی آنتی اکسیدانت تام بـه روش اسـپکتروفتومتری بـا دمـای کنترل شده صورت گرفت. در ایـن روش ۲ ، ۲ –آزینـو– دی (۳– اتیل بنزتیـازولین سـولفانات) بـا پراکـسیداز (مـت میوگلـوبین) و H_2O_2 انکوبه و تولید رادیکال کاتیونی $ABTS^+$ مـی کنـد کـه دارای جذب نوری در ٦۰۰ نانومترمی باشد. آنتی اکـسیدانتهای موجـود در نمونـه تولیـد رنـگ را مهـار مـی کنـد و جهـت اسـتاندارد از ٦– هیدروکسی –۲،۵،۷،۸ –تترامتیل کرومان –۲– کربوکسیلیک اسـید (کمپـانی رنـدوکس –انگلـستان) اسـتفاده مـی شـود. مقـدارآنتی اکسیدانت تام پلاسمابرحسب میلی مول درلیتر گزارش مـی گـردد. به همین صورت برای اندازه گیری سطح فعالیت پاراکـسوناز آریـل اسـتراز از روش Gan KN و همکـارانش کـه قـبلاً گـزارش شـده استفاده گردیـد کـه درایـن روش کـالریمتری بـا اسـتفاده از میـزان مصرف سوبسترای این آنزیم یعنی پاراکسون، بطـور مـستقیم میـزان فعّالیّت آنزیم اندازه گیری شد(١٤).

آنالیز آماری نتایج حاصله با اسـتفاده از روش تحلیـل واریـانس ناپارامتری توسط Kruskal-Wallis test صورت گرفته است. احتمال برابرو یا کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دارتلقی شده است. اعداد برحسب (SE ± میانگین) بیان شده است.

یافته ها

سطح پلاسمایی ترکیبات آنتی اکسیدانت تامل در پنج گروه مورد آزمایش در نمودار ۱ نشان داده شده است.گروه سوّم بیشترین مقدار (۰/۰۲ ± ۰/۹۵ mmol/L) وگروه پنجم کمترین مقدار (۰/۰۳ ± ۰/۵ mmol/L) آنتی اکسیدانت تام را داشته اند. بررّسی های آماری نشان داد که سطح پلاسمایی آنتی اکسیدان در گروه دوّم و چهارم با گروه کنترل(۰/۰٤ ± ۰/۷۸ mmol/L) اختلاف معنی داری ندارد.

غلظت پلاسمایی مالون دی آلدئید (محصول نهایی پر اکسیداسیون لیپیدی) برابر ۰/۱۱ ±۲/۳، ۰/۱۰± ۲/۱و ۰/۱۵± ۳/۴ نانو مول در میلی لیتر به ترتیب در گروه کنترل، گروه سوّم و گروه پنجم بود که از نظر آماری اختلاف معنی داری ما بین گروه پنجم و سایر گروههاوجود داشته است.هم چنین بررسی های آماری نشان داد که میزان پلاسمایی پر اکسیداسیون لیپیدی در سایر گروههای آزمایشی(دوّم وچهارم)برابر گروه کنترل می باشد(نمودار ۲).

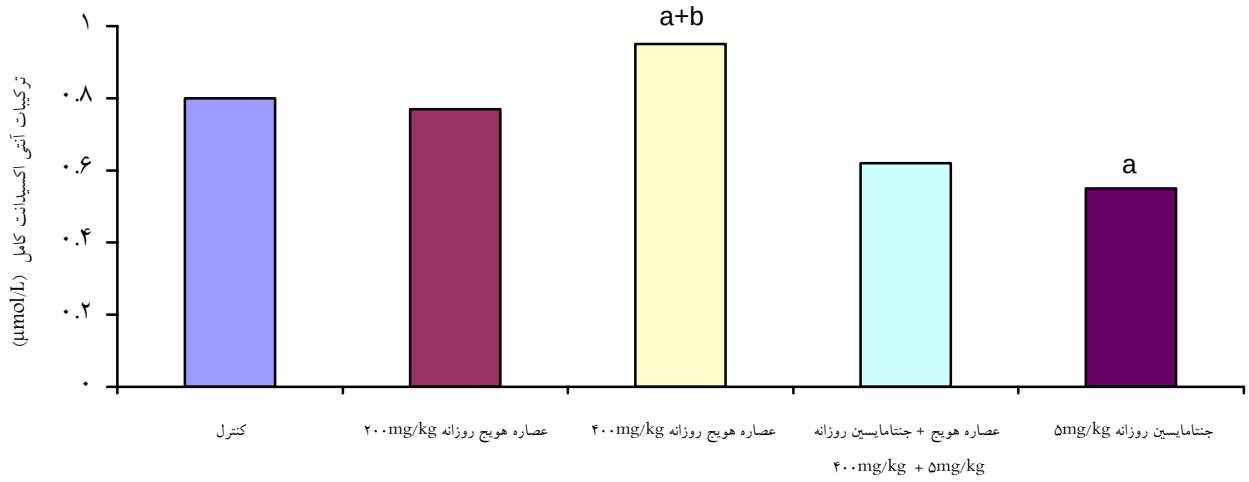
تغییرات میزان فعّالیّت آنزیم پاراکسوناز در پنج گروه رت مورد مطالعه در نمودار ۳ نشان داده شده است. برّرسیهای آماری نشان داد که سطح میزان فعّالیّت آنزیم یاد شده در گروه سوّم افزایش و در گروه پنجم کاهش در حالی که تغییر معنی داری در گروههای دوّم و چهارم نسبت به گروه کنترل مشاهده نگردید.

بحث

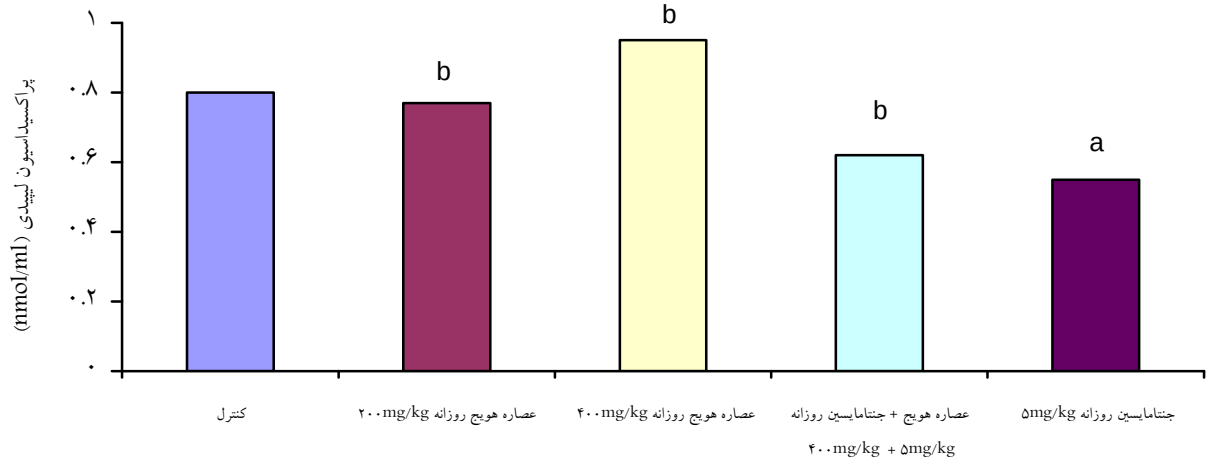
این مطالعه برای اوّلین بار نشان داد که تزریق داخل صفاقی ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره اتانولی دانه هویج موجب افزایش معنی دار سطح آنتی اکسیدانت پلاسمائی در رت می گردد. به همین صورت نقش محافظتی این عصاره در دوز یاد شده با تأمین ترکیبات آنتی اکسیدانت پلاسمائی در حضور آنتی بیوتیکها ثابت می گردد.

نقش بعضی از گیاهان داروئی در افزایش سطح ترکیبات آنتی اکسیدانت پلاسمائی در حیوانات آزمایشگاهی و یا انسان گزارش شده است (۱۵و۱۶). همچنین وجود قابل توجّه ترکیبات آنتی اکسیدانت در عصاره دانه هویج قبلاً نشان داده شده است (۱۱). با این حال این مطالعه نشان داد که مصرف روزانه ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره دانه هویج به مدت ۲۴ روز موجب افزایش قابل توجّه سطح آنتی اکسیدانت در رت می گردد.

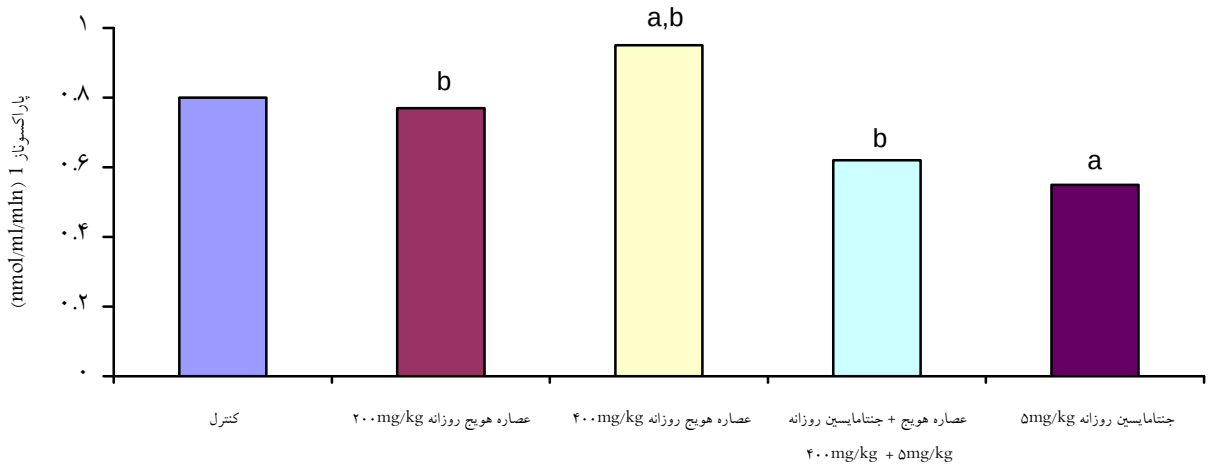
افزایش سطح پلاسمائی استرس اکسیداتیو (پراکسیداسیون لیپیدی) در رتهای دریافت کننده آنتی بیوتیک و کاهش معنی دار ترکیبات یاد شده در حیوانات دریافت کننده عصاره با دوز بالا نشان می دهد که می توان از عصاره دانه هویج در مهار تولید ترکیبات اکسیژن فعال، صدمات اکسیداتیو سلولی، جلوگیری از بروز بیماریهای مزمن و بعنوان آنتی کارسینوژن استفاده نمود. تغییرات پلاسمائی مالون دی آلدئید در حیوانات دریافت کننده عصاره نسبت به گروه کنترل با خصوصیّات عصاره که قبلاً گزارش شده همخوانی دارد (۱۱و۱۷).



نمودار ۱: تاثیر عصاره دانه هویج بر روی میزان ترکیبات آنتی اکسیدانت کامل رتهای تیمار شده با دوزهای مختلف عصاره در حضور و غیاب جنتامایسین. سطوح پلاسمایی بر اساس (SE±میانگین) نشان داده شده، P=۰/۰۳ [a] در مقایسه با گروه کنترل و P=۰/۰۲ [b] در مقایسه با گروه جنتامایسین.



نمودار ۲: تاثیر عصاره دانه هویج بر روی پراکسیداسیون لیپیدی رتهای تیمار شده با دوزهای مختلف عصاره در حضور و غیاب جنتامایسین. سطوح پلاسمایی بر اساس (SE±میانگین) نشان داده شده، P=۰/۰۳ [a] در مقایسه با گروه کنترل و P=۰/۰۲ [b] در مقایسه با گروه جنتامایسین.



نمودار ۳ : تاثیر عصاره دانه هویج بر روی میزان فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ رتهای تیمار شده با دوزهای مختلف عصاره در حضور و غیاب جنتامایسین. سطوح پلاسمایی بر اساس (SE±میانگین) نشان داده شده، P=۰/۰۳ [a] در مقایسه با گروه کنترل و P=۰/۰۲ [b] در مقایسه با گروه جنتامایسین.

توانائی بالای عصاره اتانولی دانه هویج در جذب رادیکالهای اکسیژن در شرایط آزمایشگاهی اخیراً نشان داده شده است که مؤیّد وجود آنتی اکسیدانت کافی در دانه هویج می باشد(۱۲). افزایش معنی دار سطح آنتی اکسیدانت پلاسمائی در رت بعد از ۴ هفته مصرف نیز نشانگر جذب خوب ترکیبات یاد شده از طریق مایع صفاقی و حضور آنها در خون می باشد. کاهش سطح مالون دی آلدئید پلاسمائی در حیوانات و مهار پراکسیداسیون لیپیدی در حیوانات دریافت کننده جنتامایسین نیز در ارتباط با جذب و افزایش این ترکیبات قابل توجیه است.

نقش ترکیبات اکسیژن فعال در نفروتوکسیسیتی القاء شده بوسیله جنتامایسین بخوبی نشان داده شده است(۱۸). Walker و همکارانش نشان داده اند که استرس اکسیداتیو ناشی از جنتامایسین عامل اصلی نفروتوکسیسیتی می باشد (۱۹). هم چنین Anurag و همکاران با استفاده از Spirulina استرس اکسیداتیو ناشی از تزریق

جنتامایسین را مهار و در نتیجه فونکسیون کلیوی را حفظ نمودند(۲۰). در این مطالعه نیز کاهش سطح مالون دی آلدئید پلاسمائی مهار پراکسیداسیون لیپیدی و حفظ سطح آنتی اکسیدانت تام پلاسمائی حیوانات گروه چهارم در محدوده گروه کنترل نشان دهنده نقش حفاظتی عصاره اتانولی دانه هویج در مقابل ترکیبات توکسیک و آپوپتوتیک می باشد.

کاهش ظرفیت ذرات HDL در محافظت لیپوپروتئین با دانسیته کم بر علیه اکسیداسیون منجربه افزایش میزان استرس اکسیداتیو در بیماران می گردد(۲۱). پاراکسوناز وابسته به HDL با هیدرولیز لیپیدهای اکسید شده اختصاصی ذرّات لیپوپروتئین با دانسیته کم و HDL را در مقابل اکسیداسیون محافظت می کند(۲۲). قبلاً نشان داده شده که مصرف خوراکی عصاره دانه هویج به مدت یک هفته و روزانه چهارصدمیلی گرم بر کیلوگرم توسط موشها موجب کاهش ۲۳٪ در کلسترول پلاسما شده است(۲۳).در این مطالعه میزان فعّالیّت پاراکسوناز در رتهای دریافت کننده عصاره اتانولی دانه هویج (به مدت چهار هفته و روزانه چهارصدمیلی گرم بر کیلوگرم) ۴۰ درصد نسبت به گروه کنترل افزایش نشان می دهد. کاهش کلسترول همراه با افزایش فعّالیّت پاراکسوناز ظرفیّت بسیار بالای این ترکیب در تنظیم سطح اکسیداسیون ـ آنتی اکسیداسیون خون می باشد.

نتایج این مطالعه نشان می دهد که مصرف عصاره اتانولی دانه هویج با افزایش سطح آنتی اکسیدانتهای خون و افزایش میزان فعّالیّت پاراکسوناز علیرغم خاصیّت پایین آورندگی کلسترول آن، پراکسیداسیون لیپیدها (و احتمالاً سایر ترکیبات خون) را کاهش و استرس اکسیداتیو را مهار می کند. این یافته ها بیانگر آن است که عصاره اتانولی دانه هویج یک ترکیب آنتی اکسیدانت طبیعی و با ظرفیّت بالا می باشد که در پیشگیری از بیماریهای مزمن کهنسالی می تواند مورد توجّه جدّی قرار گیرد. با توجه به عدم وجود مطالعه مشابه بر روی عصاره اتانولی دانه هویج پیشنهاد می گردد که نقش این عصاره در قالب مطالعات خودآزمائی بالینی مورد ارزیابی قرار گیرد.

References

1. Uchida K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases. *Free Radical Biology and Medicine* 2000; **28:**1685–1696.
2. Federico A, Morgillo F, Tuccillo C, Ciardiello F, Loguercio C. Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *Int J Cancer* 2007; **121**(11): 2381-6.
3. Appasamy M, Muttukrishna S, Pizzey AR, Ozturk O, Groome NP, Serhal P, et al. Relationship between male reproductive hormones, sperm DNA damage and markers of oxidative stress in infertility. *Reprod Biomed Online* 2007; **14**(2):159-65.
4. Marnett L. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis* 2000; **21**: 361–370.
5. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem* 2004; **266**(1-2): 37-56.
6. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; **160**(1):1-40.
7. Vijayavel K, Anbuselvam C and Balasubramanian M P. Antioxidant effect of the marine algae Chlorella vulgaris against naphthalene-induced oxidative stress in the albino rats. *Molecular and cellular biochemistry* 2007; **303**(1-2): 39-44.
8. Tarı´n J, J.Vendrell F, Ten J and Cano A. Antioxidant therapy counteracts the disturbing effects of di amide and maternal ageing on meiotic division and chromosomal segregation in mouse oocytes. *Molecular Human Reproduction* 1998; **4** (3): 281–288.
9. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. *Phytotherapy Research* 2000; **14:** 323–328.
10. Yu L, Haley S, Perret J, Harris M, Wilson J, Qian M. Free radical scavenging properties of wheat extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2002; **50**:1619–1624.
11. Yu L, Perret J, Davy B, Wilson J and Melby C L. Antioxidant properties of cereal products. *Journal of Food Science* 2002; **67**: 2600–2603.
12. Parry J, Yu L. Fatty acid content and antioxidant properties of cold-pressed black raspberry seed oil and meal. *Journal of Food Science* 2004; **69**:189–193.
13. Yagi k. Assay for blood plasma or serum. *Methods Enzymol* 1984; **105**: 328- 31.
14. Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, La DU BN. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos* 1991; **19**: 100–106.
15. Yamamoto Y, Aoyama S, Hamaguchi N, Rhi GS. Antioxidative and antihypertensive effects of Welsh onion on rats fed with a high-fat high-sucrose diet. *Biosci Biotechnol Biochem* 2005; **69**(7):1311-7.
16. Gorinstein S, Leontowicz H, Leontowicz M, Drzewiecki J, Najman K, Katrich E, et al. Raw and boiled garlic enhances plasma antioxidant activity and improves plasma lipid metabolism in cholesterol-fed rats. *Life Sci* 2006; **78**(6): 655-63.
17. Lucy Yu L, Kevin Zhou K, Parry J. Antioxidant properties of cold-pressed black caraway, carrot, cranberry, and hemp seed oils. food chemistry, 2005; **91**: 723-729.

18. Maldonado PD, Barrera D, Rivero I. Antioxidant S-allylcysteine prevents gentamicin-induced oxidative stress and renal damage. *Free Radic Biol Med* 2003; **35**: 317–324.
19. Walker PD, Barri Y, Shah SV. Oxidant mechanisms in gentamicin nephrotoxicity. *Ren Fail* 1999; **21**: 433–442.
20. Anurag K, Naveen T, Sangeeta P, Kanwaljit CH. Effect of spirulina, ablue green algae, on gentamicin-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. *Clinical Pharmacology* 2006; **20**:121-28.
21. Gowri MS, Vander Westhuyzen DR, Brodges SR, Anderson JW. Decreased protection by HDL from poorly controlled type 2 diabetic subject against LDL oxidation may be due to the abnormal composition of HDL. *Arterioscler thrombVasc Biol* 1999; **19:** 2226-33.
22. Aviram M, Rosenblat M. Paraoxnases 1,2 and 3, oxidative stress and macrophage from cells formation during atherosclerosis development. *Free Radica Boil Med* 2004; **37:**1304-16.
23. Vasudevan M, Parle M. Pharmacological Evidence for the potential of Daucus carotain the Management of cognitive Dysfunctions. *Biol Pharm Bul* 2006; **26**(6): 1154-61.