

TRABAJOS ORIGINALES ORIGINAL WORKS

Actividad antioxidante de activit, una formulación herbomineral, en daños renales y cardiacos inducidos experimentalmente

*Antioxidant activity of activit, a herbomineral formulation, in experimentally
induced cardiac and renal damage*

PALLAVI A , BALARAMAN R*

Pharmacy Department, Faculty of Technology and Engineering,
The M.S.University of Baroda, Baroda -390 001, Gujarat, INDIA.

*Correspondence Address: Dr.R.Balaraman. Department of Pharmacy. Faculty of Technology & Engineering.
The M.S.University of Baroda. Kalabhavan, Baroda- 390 001. Gujarat, INDIA.

Email: rbalaraman@satyam.net.in

RESUMEN

Se administró Activit, una formulación herbomineral, a ratas por vía oral en dosis de 125, 250, 500 y 1000 mg kg⁻¹ para investigar sus efectos en infartos de miocardio inducidos mediante isoproterenol y daños renales inducidos mediante cisplatina. El fármaco redujo los niveles de glutamato oxaloacetato transaminasa (GOT), lactato dehidrogenasa (LDH), ácido úrico y de creatina kinasa (CK) en el suero en casos de daño cardíaco inducido mediante isoproterenol. En los casos de daño renal inducido mediante cisplatina, Activit redujo los niveles séricos de creatinina, urea, nitrógeno ureico en sangre (NUS) y ácido úrico. Se descubrió además que la administración de Activit aumentó los niveles de superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT); glutatión reducido (GSH) y enzimas ligadas a la membrana tales como la Ca²⁺ATPasa y Na⁺K⁺ATPasa, y redujo la peroxidación lipídica (MDA) en el riñón y en el corazón en los casos de daño renal inducidos mediante cisplatina y en los de necrosis miocárdica inducida mediante isoproterenol, respectivamente. Por tanto, se puede concluir que Activit posee actividad antioxidante y que, en virtud de esa acción, puede proteger el corazón y el riñón de los daños causados por el isoproterenol y la cisplatina, respectivamente.

PALABRAS CLAVE: Antioxidante. Catalasa. Cisplatina. Isoproterenol. Peroxidación lipídica. Glutatión reducido. Superóxido dismutasa.

ABSTRACT

Activit, a herbomineral formulation, was administered orally to rats at the dose levels of 125, 250, 500 and 1000 mg kg⁻¹ to investigate its effect on isoproterenol-induced myocardial infarction and cisplatin-induced renal damage. The drug reduced the levels of serum creatine kinase (CK), glutamic oxaloacetate transaminase (GOT), lactate dehydrogenase (LDH) and uric acid in isoproterenol-induced cardiac damage. In cisplatin-induced renal damage, Activit reduced the serum levels of creatinine, urea, blood urea nitrogen (BUN) and uric acid. It was further found that administration of Activit increased the levels of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), reduced glutathione (GSH) and membrane bound enzymes like Ca²⁺ATPase, Mg²⁺ATPase and Na⁺K⁺ATPase and decreased lipid peroxidation (MDA) in heart and kidney in isoproterenol-induced myocardial necrosis and cisplatin-induced renal damage, respectively. Thus it can be concluded that Activit possesses antioxidant activity and by virtue of this action it can protect the heart and kidney from damage caused by isoproterenol and cisplatin, respectively.

KEY WORDS: Antioxidant. Catalase. Cisplatin. Isoproterenol. Lipid peroxidation. Reduced glutathione. Superoxide dismutase.

INTRODUCCIÓN

Muchos investigadores científicos y médicos están convencidos de que la actividad incontrolada de radicales libres en el cuerpo está directamente relacionada con una serie de problemas de salud. Las reacciones de los radicales libres se han asociado a la patología de muchas enfermedades humanas tales como la arterosclerosis, la enfermedad isquémica del corazón, el proceso de envejecimiento, inflamación, diabetes, inmunodepresión y trastorno neurodegenerativo, entre otras¹.

Nuestro cuerpo produce radicales libres constantemente. Sin embargo, éstos están controlados rigurosamente por los antioxidantes. Cuando este precario equilibrio se rompe en favor de los radicales libres, se produce un estrés oxidativo. Este estrés oxidativo puede atacar a los lípidos, que constituyen las membranas celulares, las bases de ADN y los aminoácidos de proteínas. Los antioxidantes combaten los radicales libres y, por lo tanto, pueden ayudar a prevenir las enfermedades que estimulan los radicales libres. Los destructores de radicales libres (antioxidantes) son elementos clave en la defensa del organismo, que el cuerpo utiliza para neutralizar la actividad de estos peligrosos y, a largo plazo, mortales enemigos llamados radicales libres. Los fármacos que poseen diversos mecanismos de acción protectora, incluyendo propiedades antioxidantes, pueden constituir un avance para minimizar el daño a los tejidos en las enfermedades humanas².

Como las plantas producen gran cantidad de antioxidantes para controlar el estrés oxidativo, pueden constituir una fuente de nuevos compuestos con actividad antioxidante. Se ha determinado que una serie de plantas y extractos de plantas protegen del daño inducido por los radicales libres en varios modelos experimentales.

Se han publicado las propiedades antioxidantes de *Mucuna pruriens*³, *Withania somnifera*^{4,5,6}, *Centella asiatica*⁷, *Asparagus racemosus*⁸, *Nux vomica*⁹, *Tinospora cordifolia*¹⁰ y shring bhasma¹¹ (preparación ayurvédica realizada mediante purificación e incineración que contiene calcio y fósforo).

Se ha estudiado la actividad antioxidante de numerosos compuestos químicos y formulaciones a base de plantas mediante el uso de modelos tales como el infarto de miocardio inducido

INTRODUCTION

Many medical and scientific researchers are convinced that uncontrolled free radical activity in the body is directly associated with a number of health problems. Free radical reactions have been implicated in the pathology of many human diseases including atherosclerosis, ischemic heart disease, the aging process, inflammation, diabetes, immunodepression, the neurodegenerative condition and other disease conditions¹.

Free radicals are continuously produced in our body. However, these are rigorously controlled by antioxidants. When this precarious balance is broken, in favour of free radicals, it causes an oxidative stress. This oxidative stress can attack lipids, which constitute the cellular membranes, bases of the DNA, and amino acids of proteins. Antioxidants fight free radicals, and therefore may be able to help prevent the diseases that free radicals promote. Free radical scavengers (antioxidants) are key elements in the defense system, which the body uses in order to neutralize the activity of these dangerous and, over the long-term, deadly free radical enemies. Drugs with multiple mechanisms of protective action, including antioxidant properties, may be one way forward in minimizing tissue injury in human disease².

As plants produce a lot of antioxidants to control the oxidative stress, they can represent a source of new compounds with antioxidant activity. A number of plants and plant isolates have been reported to protect free-radical induced damage in various experimental models.

The antioxidant properties of *Mucuna pruriens*³, *Withania somnifera*^{4,5,6}, *Centella asiatica*⁷, *Asparagus racemosus*⁸, *Nux vomica*⁹, *Tinospora cordifolia*¹⁰ and shring bhasma¹¹ have been reported.

Many chemical compounds and herbal formulations have been studied for their antioxidant activity by using models such as isoproterenol-induced myocardial infarction^{12,13} and cisplatin -induced nephrotoxicity^{14,15}.

In the present study, Activit, a herbomineral formulation, was tested for its antioxidant activity by using the above experimental models.

mediante isoproterenol^{12,13} y la nefrotoxicidad inducida mediante cisplatina^{14,15}.

En el presente estudio, se ensayó la actividad antioxidante de Activit, una formulación herbomineral, mediante el uso de los modelos experimentales descritos anteriormente.

MATERIAL Y MÉTODOS

Composición

Activit, una formulación herbomineral, contiene extractos derivados de *Mucuna pruriens*, *Withania somnifera*, *Argyreia speciosa*, *Centella asiatica*, *Tribulus terrestris*, *Asparagus racemosus*, *Piper longum*, *Anacyclus pyrethrum*, *Nux vomica*, *Tinospora cordifolia* y shring bhasma (preparación ayurvédica realizada mediante purificación e incineración que contiene calcio y fósforo).

Animales

Para el estudio se utilizaron ratas albinas de la raza Wistar, de 150-200 gr de peso. Los animales se alimentaron ad libitum con dieta estándar de bolitas de pienso y tuvieron agua a su disposición en todo momento.

Infarto de miocardio inducido mediante isoproterenol

Las ratas se dividieron en seis grupos de seis animales cada uno. El grupo I sirvió de grupo de control. El grupo II recibió isoproterenol (25 mg kg⁻¹ de peso corporal, por vía subcutánea, dos veces en un intervalo de 24 horas) en solución salina estéril. A los grupos III, IV, V y VI se les administró Activit en dosis de 125, 250, 500 y 1000 mg kg⁻¹ de peso corporal por vía oral respectivamente, durante un mes. El día 30, los grupos II, III, IV, V y VI recibieron isoproterenol (25 mg kg⁻¹ de peso corporal, por vía subcutánea, dos veces en un intervalo de 24 horas) en solución salina estéril. El cambio de peso corporal se registró semanalmente. Transcurridas 24 horas desde la última dosis de isoproterenol, se extrajo sangre y se separó el suero para las estimaciones de creatina kinasa (CK), lactato dehidrogenasa

MATERIAL AND METHODS:

Composition

Activit, a herbomineral formulation contains extracts derived from *Mucuna pruriens*, *Withania somnifera*, *Argyreia speciosa*, *Centella asiatica*, *Tribulus terrestris*, *Asparagus racemosus*, *Piper longum*, *Anacyclus pyrethrum*, *Nux vomica* and *Tinospora cordifolia* and shring bhasma.

Animals

Albino rats of Wistar strain weighing 150-200gms were used for the study. The animals were fed *ad libitum* with standard pellet diet and had free access to water.

Isoproterenol-induced myocardial infarction

The rats were divided into six groups of six animals each. Group I served as the control. Group II received isoproterenol (25 mg kg⁻¹ body weight, s.c. twice at an interval of 24 hours) in sterile saline. Groups III, IV, V and VI were administered Activit at the doses of 125, 250, 500 and 1000 mg kg⁻¹ body weight p.o., respectively for one month. On day 30, Groups II, III, IV, V and VI received isoproterenol (25 mg kg⁻¹ body weight, s.c. twice at an interval of 24 hours) in sterile saline. The change in body weight was recorded weekly. After 24 hours of the last dose of isoproterenol, blood was collected and serum was separated for estimations of creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), uric acid and SGOT. CK and LDH were determined by diagnostic kits (Reckon Diagnostics Ltd., Baroda, India). Uric acid and SGOT were estimated by using kits of Span Diagnostics (India) Pvt. Ltd. The animals were sacrificed and the heart was dissected out and weighed. It was then homogenized in chilled Tris buffer (10mM, pH 7.4) at a concentration of 10% w/v and centrifuged. The supernatant was used for the assays of lipid peroxidation (MDA content), endogenous antioxidant enzymes (superoxide dismutase and catalase) and reduced glutathione (GSH). The sediment was resuspended in ice-cold Tris buffer (10mM, pH 7.4) to get a final concentration of 10% and was used for the estimation of different membrane bound enzymes (Na⁺K⁺ATPase, Ca²⁺ATPase and Mg²⁺ATPase).

(LDH), ácido úrico y SGOT. La CK y la LDH se determinaron mediante kits de diagnóstico (Reckon Diagnostics Ltd., Baroda, India). Para determinar el ácido úrico y la SGOT se utilizaron kits de Span Diagnostics (India) Pvt. Ltd. Los animales fueron sacrificados y se diseccionó y pesó su corazón. Se homogeneizó a continuación en tampón Tris frío (10 mM, pH 7,4) en una concentración del 10% p/v y se centrifugó. La parte flotante se utilizó para los ensayos de peroxidación lipídica (contenido de MDA), enzimas antioxidantes endógenas (superóxido dismutasa y catalasa) y glutatión reducido (GSH). El sedimento volvió a suspenderse en tampón Tris helado (10 mM, pH 7,4), para conseguir una concentración final del 10% y se utilizó para la estimación de distintas enzimas ligadas a la membrana ($\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$, $\text{Ca}^{2+}\text{ATPasa}$ y $\text{Mg}^{2+}\text{ATPasa}$).

Nefrotoxicidad inducida mediante cisplatina

Las ratas se dividieron en seis grupos de seis animales cada uno. El grupo I sirvió de grupo de control. El grupo II recibió cisplatina (3 mg kg^{-1} , intraperitoneal) cada semana durante 28 días (días 1, 7, 14, 21 y 28). Los grupos III, IV, V, VI recibieron cisplatina (3 mg kg^{-1} , intraperitoneal) y Activit en dosis de 125, 250, 500 y 1000 mg kg^{-1} de peso corporal por vía oral, respectivamente, cada semana durante 28 días (días 1, 7, 14, 21 y 28). La cisplatina se inyectó 1 hora después de la administración del fármaco. El cambio de peso corporal fue registrado semanalmente. Transcurridas 24 horas desde la última dosis de cisplatina, se extrajo sangre y se separó el suero para las estimaciones de creatinina, urea, ácido úrico y nitrógeno ureico en sangre (NUS). Estos valores se determinaron mediante kits de Span Diagnostics (India) Pvt. Ltd. A continuación, se sacrificaron los animales y se diseccionó, pesó y procesó el riñón para determinar los antioxidantes como se ha mencionado en la sección anterior.

Estimaciones bioquímicas

La superóxido dismutasa (SOD) se determinó mediante el método de Misra y Fridovich¹⁶. La catalasa se estimó mediante el método de Hugo

Cisplatin-induced nephrotoxicity

The rats were divided into six groups of six animals each. Group I served as control. Group II received cisplatin (3 mg kg^{-1} , i.p.) every week for 28 days (days 1, 7, 14, 21 and 28). Groups III, IV, V, VI received both cisplatin (3 mg kg^{-1} , i.p.) and Activit at the doses of 125, 250, 500 and 1000 mg kg^{-1} b.wt. p.o., respectively every week for 28 days (days 1, 7, 14, 21 and 28). Cisplatin was injected 1 h after the drug administration. The change in body weight was recorded weekly. After 24 hours of the last dose of cisplatin, blood was collected and serum was separated for estimations of creatinine, urea, uric acid and blood urea nitrogen (BUN). These values were determined with kits of Span Diagnostics (India) Pvt. Ltd. The animals were then sacrificed and the kidney was dissected out, weighed and processed for antioxidant estimations as mentioned in previous section.

Biochemical Estimations

Superoxide dismutase (SOD) was determined by the method of Misra and Fridovich¹⁶. Catalase was estimated by the method of Hugo Aebi as given by Colowick et al.¹⁷. Reduced glutathione was determined by the method of Moran et al.¹⁸. Lipid peroxidation or malondialdehyde formation was estimated by the method of Slater and Sawyer¹⁹. Membrane bound enzymes namely $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$, $\text{Ca}^{2+}\text{ATPase}$ and $\text{Mg}^{2+}\text{ATPase}$ were assayed according to the methods of Bonting²⁰, Hjerten and Pan²¹ and Ohinishi et al.²², respectively. The inorganic phosphorus was estimated by the method of Fiske and Subbarow²³. Total proteins were determined by the method of Lowry et al.²⁴

Statistical Analysis

Results of all the above estimations have been indicated in terms of mean \pm SEM. Difference between the groups was statistically determined by analysis of variance followed by Tukey-Kramer Multiple Comparisons test, with the level of significance set at $p < 0.05$.

Aebi, tal y como lo describen Colowick et al.¹⁷ El glutatión reducido se determinó mediante el método de Moran et al.¹⁸ La peroxidación lipídica o la formación de malonil-dialdehído se determinó mediante el método de Slater y Sawyer¹⁹. Las enzimas ligadas a la membrana, concretamente la Na⁺K⁺ATPasa, la Ca²⁺ATPasa y la Mg²⁺ATPasa se estudiaron de acuerdo con los métodos de Bonting²⁰, Hjerten y Pan²¹ y Ohinshi et al.²², respectivamente. El fósforo inorgánico se determinó mediante el método de Fiske y Subbarow²³. Las proteínas totales se determinaron mediante el método de Lowry et al.²⁴

Análisis estadístico

Los resultados de las estimaciones indicadas anteriormente se han expresado de acuerdo con el promedio \pm SEM. Las diferencias entre los grupos se determinaron estadísticamente mediante un análisis de varianza seguido por el test de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer, con un nivel de significación establecido en $p < 0.05$

RESULTADOS

Infarto de miocardio inducido mediante isoproterenol

El tratamiento con isoproterenol (grupo II) provocó un aumento significativo de la actividad de GOT, LDH y CK séricas ($p < 0,001$) y de los niveles de ácido úrico ($p < 0,01$) en comparación con el grupo de control (grupo I) La administración de Activit provocó una disminución significativa de la actividad de GOT, LDH y CK séricas y del nivel de ácido úrico (Tabla I).

En el corazón, el isoproterenol hizo disminuir significativamente los niveles de SOD ($p < 0,05$) y de catalasa ($p < 0,001$) en el grupo II en comparación con el grupo I. También se observó un aumento significativo de la peroxidación lipídica ($p < 0,01$) en el grupo II en comparación con el grupo I. Se observó que Activit había reducido significativamente la peroxidación lipídica (contenido de MDA) y había aumentado el nivel de glutatión y la actividad de la SOD y la catalasa en comparación con el grupo II (Tabla II).

RESULTS

Isoproterenol-induced myocardial infarction

The treatment with isoproterenol (group II) resulted in a significant elevation in serum CK, LDH and GOT activity ($p < 0.001$) and uric acid levels ($p < 0.01$) as compared to control (group I). The administration of Activit resulted in significant decrease in the activities of serum CK, LDH and GOT and level of uric acid (Table I).

In heart, isoproterenol significantly decreased the activities of SOD ($p < 0.05$) and catalase ($p < 0.001$) in group II as compared to group I. A significant ($p < 0.01$) increase in lipid peroxidation was also observed in group II as compared to group I. Activit was found to significantly decrease lipid peroxidation (MDA content) and increase the glutathione level and activities of SOD and catalase as compared to group II (Table II).

TABLA I: Efecto de Activit en los niveles séricos de creatina kinasa, lactato dehidrogenasa, ácido úrico y GOT en el infarto de miocardio inducido en ratas mediante isoproterenol.

TABLE I: Effect of Activit on the serum levels of creatine kinase, lactate dehydrogenase, uric acid and GOT in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats.

GRUPOS GROUPS	Creatina kinasa (U/L) Creatine Kinase (U/L)	Lactato Dehidrogenasa (U/L) Lactate Dehydrogenase (U/L)	Ácido úrico (mg/dl) Uric acid (mg/dl)	SGOT (U/ml) SGOT (U/ml)
Grupo I Group I	326,67 ± 11,89	370,33 ± 13,74	0,670 ± 0,04	21,91 ± 3,28
Grupo II Group II	1198,00 ± 209,13 ^{***}	1056,30 ± 115,15 ^{***}	1,923 ± 0,25 ^{**}	74,29 ± 6,80 ^{***}
Grupo III Group III	868,00 ± 131,33 [*]	739,33 ± 61,02 [*]	1,201 ± 0,23 ^{NS}	49,65 ± 2,61 ^{**}
Grupo IV Group IV	524,00 ± 59,28 ^{**}	558,00 ± 23,90 ^{***}	1,121 ± 0,17 ^{NS}	41,19 ± 2,09 ^{***}
Grupo V Group V	401,67 ± 44,56 ^{**}	481,67 ± 36,09 ^{***}	1,063 ± 0,13 [*]	38,32 ± 3,56 ^{***}
Grupo VI Group VI	375,33 ± 15,98 ^{**}	385,67 ± 8,11 ^{***}	0,933 ± 0,09 [*]	36,32 ± 0,56 ^{***}
Valor F F value	9,521	21,481	5,491	22,689
Valor P P value	<0,0007	<0,0001	0,0074	<0,0001

Los valores se expresan como promedio ± SEM.
El grupo II se comparó con el grupo I.
Los grupos III, IV, V y VI se compararon con el grupo II.
^{*}p<0,05; ^{**}p<0,01; ^{***}p<0,001; NS = No significativo

Values are expressed as mean ± SEM.
Groups II was compared with group I.
Groups III, IV, V and VI were compared with group II.
^{*}p<0.05; ^{**}p<0.01; ^{***}p<0.001; NS = Non Significant

TABLA II: Efecto de Activit en los niveles de peroxidación lipídica (contenido de MDA), glutatión reducido, superóxido dismutasa, catalasa, Na⁺K⁺ATPasa, Ca²⁺ATPasa y Mg²⁺ATPasa en los corazones de ratas con infarto de miocardio inducido mediante isoproterenol.

TABLE II: Effect of Activit on the levels of lipid peroxidation (MDA content), reduced glutathione, superoxide dismutase, catalase, Na⁺K⁺ATPase, Ca²⁺ATPase and Mg²⁺ATPase in heart of rats in isoproterenol-induced myocardial infarction.

GRUPOS GROUPS	Peroxidación lipídica (nmoles de MDA/mg proteína) Lipid Peroxidation (nmoles of MDA/mg protein)	Glutatión reducido (µg de GSH/ mg proteína) Reduced Glutathione (µg of GSH/ mg protein)	Superóxido dismutasa (Unidades/ mg proteína) Superoxide Dismutase (Units/ mg protein)	Catalasa (µmoles de H ₂ O ₂ consumido/ min/ mg proteína) Catalase (µmoles of H ₂ O ₂ consumed/ min/ mg protein)	Na ⁺ K ⁺ ATPasa (µmoles de fósforo inorgánico liberado/ min/ mg proteína) Na ⁺ K ⁺ ATPase (µmoles of inorganic phosphorus liberated/ min/ mg protein)	Ca ²⁺ ATPasa (µmoles de fósforo inorgánico liberado/ min/ mg proteína) Ca ²⁺ ATPase (µmoles of inorganic phosphorus liberated/ min/ mg protein)	Mg ²⁺ ATPasa (µmoles de fósforo inorgánico liberado/ min/ mg proteína) Mg ²⁺ ATPase (µmoles of inorganic phosphorus liberated/ min/ mg protein)
Grupo I Group I	3,43 ± 0,15	3,27 ± 0,55	2,77 ± 0,31	4,61 ± 0,05	5,03 ± 0,30	2,76 ± 0,16	2,39 ± 0,06
Grupo II Group II	7,15 ± 0,54**	0,61 ± 0,09NS	1,69 ± 0,08*	1,87 ± 0,14***	2,46 ± 0,21***	2,03 ± 0,20*	1,99 ± 0,15NS
Grupo III Group III	4,46 ± 0,53***	1,97 ± 0,20 NS	1,87 ± 0,12 NS	2,07 ± 0,08 NS	2,60 ± 0,20 NS	2,44 ± 0,16 NS	2,84 ± 0,24 NS
Grupo IV Group IV	3,66 ± 0,73***	4,65 ± 0,69*	2,04 ± 0,37 NS	2,61 ± 0,18 NS	3,26 ± 0,05 NS	2,57 ± 0,08 NS	3,12 ± 0,09*
Grupo V Group V	3,25 ± 0,43***	6,03 ± 1,23**	2,29 ± 0,04 NS	3,10 ± 0,09**	3,78 ± 0,04**	2,86 ± 0,03**	3,28 ± 0,12**
Grupo VI Group VI	2,24 ± 0,40***	7,33 ± 0,62***	2,84 ± 0,18*	3,83 ± 0,34***	3,80 ± 0,10**	3,13 ± 0,09***	3,63 ± 0,34***
Valor F F Value	20,951	13,942	4,598	35,707	28,309	7,972	9,906
Valor P P Value	<0,0001	<0,0001	0,0142	<0,0001	<0,0001	0,0016	0,0006

Values are expressed as mean ± SEM.

Groups II was compared with group I.

Groups III, IV, V and VI were compared with group II.

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; NS = Non Significant

Los valores se expresan como promedio ± SEM.

El grupo II se comparó con el grupo I.

Los grupos III, IV, V y VI se compararon con el grupo II.

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; NS = No significativo

Las ratas a las que se había administrado isoproterenol (grupo II) presentaron una disminución significativa de la actividad de las enzimas Na⁺K⁺ATPasa (p<0,001) y Ca²⁺ATPasa (p<0,05) en comparación con el grupo I; sin embargo, la disminución de la actividad de la Mg²⁺ATPasa no fue significativa. Activit aumentó significativamente la actividad de las tres enzimas ligadas a la membrana (Na⁺K⁺ATPasa, Ca²⁺ATPasa y Mg²⁺ATPasa), en comparación con el grupo II (Tabla II).

Al final del período experimental de 30 días se observó un aumento de 75,8 ± 7.8 g del peso corporal de las ratas de control (Grupo II). El aumento de peso corporal en el grupo normal y

Isoproterenol-administered rats (group II) showed a significant decrease in the activities of Na⁺K⁺ATPase (p<0.001) and Ca²⁺ATPase (p<0.05) enzymes as compared to group I; however the decrease in Mg²⁺ATPase activity was not significant. Activit significantly increased the activities of all the three membrane bound enzymes (Na⁺K⁺ATPase, Ca²⁺ATPase and Mg²⁺ATPase) as compared to group II (Table II).

At the end of the experimental period of 30 days there was an average increase of 75.8 ± 7.8 g in body weight of control rats (Group II). The gain in body weight in the normal group and Activit treated groups was similar to that of the control group.

en los grupos tratados con Activit fue similar al del grupo de control.

Nefrotoxicidad inducida mediante cisplatina

La administración de cisplatina (grupo II) provocó un aumento significativo ($p < 0,001$) de los niveles de urea, ácido úrico, NUS y creatinina en suero, los indicadores del daño renal, en comparación con el grupo de control (grupo I). La administración de Activit redujo significativamente estos niveles (Tabla III).

Cisplatin-induced nephrotoxicity

Administration of cisplatin (group II) resulted in a significant ($p < 0.001$) elevation in serum creatinine, urea, uric acid and BUN levels, the markers of renal injury, as compared to control group (group I). The administration of Activit significantly decreased these levels (Table III).

TABLA III: Efecto de Activit en los niveles séricos de creatinina, urea, ácido úrico y NUS en ratas con nefrotoxicidad inducida mediante cisplatina.

TABLE III: Effect of Activit on the serum levels of creatinine, urea, uric acid and BUN in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats.

GRUPOS GROUPS	Creatinina (mg/dl) Creatinine (mg/dl)	Urea (mg/dl) Urea (mg/dl)	Ácido úrico (mg/dl) Uric acid (mg/dl)	NUS (mg/dl) BUN (mg/dl)
Grupo I Group I	0,463 ± 0,027	26,60 ± 3,663	0,550 ± 0,019	15,32 ± 0,364
Grupo II Group II	2,256 ± 0,140***	81,02 ± 3,847***	2,213 ± 0,183***	37,84 ± 1,795***
Grupo III Group III	1,902 ± 0,022*	76,92 ± 1,341 ^{NS}	1,966 ± 0,131 ^{NS}	35,92 ± 0,626 ^{NS}
Grupo IV Group IV	1,147 ± 0,068***	52,99 ± 0,926***	0,885 ± 0,120***	24,75 ± 0,431***
Grupo V Group V	0,500 ± 0,043***	41,03 ± 0,235***	0,761 ± 0,152***	19,16 ± 0,111***
Grupo VI Group VI	0,488 ± 0,041***	35,58 ± 2,993***	0,583 ± 0,034***	16,62 ± 1,395***
Valor F F value	129,02	75,165	36,090	98,205
Valor P P value	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Values are expressed as mean ± SEM.
Groups II was compared with group I.
Groups III, IV, V and VI were compared with group II.
* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; NS = Non Significant

Los valores se expresan como promedio ± SEM.
El grupo II se comparó con el grupo I.
Los grupos III, IV, V y VI se compararon con el grupo II.
* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; NS = No significativo

En los riñones de las ratas del grupo II, se observó un disminución significativa ($p < 0,001$) de los niveles de catalasa y de glutatión reducido, y un aumento de la peroxidación lipídica, en comparación con el grupo I. En el grupo II, tam-

In the kidney, significant ($p < 0.001$) reduction in the levels of catalase and reduced glutathione and increase in lipid peroxidation was observed in group II as compared to group I. In group II a significant reduction ($p < 0.01$) in the level of

bién se observó una reducción significativa ($p < 0,01$) de los niveles de SOD en comparación con el grupo I. La administración de Activit provocó un aumento significativo de la actividad de la SOD y de la catalasa, en comparación con el grupo II. Se observó una disminución significativa de la peroxidación lipídica y un aumento en el nivel de glutatión reducido en los grupos tratados con el fármaco, en comparación con el grupo II (Tabla IV).

Las ratas que recibieron cisplatina (grupo II) presentaron una disminución significativa ($p < 0,001$) de la actividad de las enzimas ligadas a la membrana, concretamente la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$, la $\text{Ca}^{2+}\text{ATPase}$ y la $\text{Mg}^{2+}\text{ATPase}$, en comparación con el grupo I. Activit provocó un aumento significativo de la actividad de estas enzimas, en comparación con el grupo II (Tabla IV).

SOD was also found as compared to group I. Administration of Activit significantly increased the activities of SOD and catalase as compared to group II. A significant decrease in lipid peroxidation and an increase in reduced glutathione level were observed in the drug treated groups as compared to group II (Table IV).

Cisplatin-administered rats (group II) showed a significant ($p < 0.001$) decrease in the activities of membrane bound enzymes, namely $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$, $\text{Ca}^{2+}\text{ATPase}$ and $\text{Mg}^{2+}\text{ATPase}$ enzymes as compared to group I. Activit significantly increased the activities of these enzymes as compared to group II (Table IV).

TABLA IV: Efecto de Activit en los niveles de peroxidación lipídica (contenido de MDA), glutatión reducido, superóxido dismutasa, catalasa, $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$, $\text{Ca}^{2+}\text{ATPase}$ y $\text{Mg}^{2+}\text{ATPase}$ en los corazones de ratas con nefrotoxicidad inducida mediante cisplatina.

TABLE IV: Effect of Activit on the levels of lipid peroxidation (MDA content), reduced glutathione, superoxide dismutase, catalase, $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$, $\text{Ca}^{2+}\text{ATPase}$ and $\text{Mg}^{2+}\text{ATPase}$ in heart of rats in cisplatin-induced nephrotoxicity.

GRUPOS	Peroxidación lipídica (nmoles de MDA/mg proteína)	Glutatión reducido (μg de GSH/mg proteína)	Superóxido dismutasa (Unidades/mg proteína)	Catalasa ($\mu\text{moles de H}_2\text{O}_2$ consumido/min/mg proteína)	$\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ ($\mu\text{moles de fósforo inorgánico liberado/min/mg proteína}$)	$\text{Ca}^{2+}\text{ATPase}$ ($\mu\text{moles de fósforo inorgánico liberado/min/mg proteína}$)	$\text{Mg}^{2+}\text{ATPase}$ ($\mu\text{moles de fósforo inorgánico liberado/min/mg proteína}$)
GROUPS	Lipid Peroxidation (nmoles of MDA/mg protein)	Reduced Glutathione (μg of GSH/mg protein)	Superoxide Dismutase (Units/mg protein)	Catalase ($\mu\text{moles of H}_2\text{O}_2$ consumed/min/mg protein)	$\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ ($\mu\text{moles of inorganic phosphorus liberated/min/mg protein}$)	$\text{Ca}^{2+}\text{ATPase}$ ($\mu\text{moles of inorganic phosphorus liberated/min/mg protein}$)	$\text{Mg}^{2+}\text{ATPase}$ ($\mu\text{moles of inorganic phosphorus liberated/min/mg protein}$)
Grupo I Group I	2,50 \pm 0,08	1,71 \pm 0,13	2,59 \pm 0,36	3,11 \pm 0,07	10,98 \pm 0,34	4,409 \pm 0,092	6,574 \pm 0,177
Grupo II Group II	5,64 \pm 0,27***	0,61 \pm 0,03***	1,94 \pm 0,11**	2,00 \pm 0,14***	3,07 \pm 0,70**	1,351 \pm 0,135***	1,433 \pm 0,239**
Grupo III Group III	4,59 \pm 0,34 ^{NS}	0,67 \pm 0,04 ^{NS}	2,17 \pm 0,11 ^{NS}	2,11 \pm 0,12 ^{NS}	4,28 \pm 0,04 ^{NS}	2,248 \pm 0,191	2,237 \pm 0,226 ^{NS}
Grupo IV Group IV	3,49 \pm 0,29***	0,79 \pm 0,04 ^{NS}	2,23 \pm 0,12 ^{NS}	2,20 \pm 0,12 ^{NS}	6,37 \pm 0,22*	3,548 \pm 0,120***	3,739 \pm 0,144***
Grupo V Group V	2,68 \pm 0,28***	0,98 \pm 0,05*	2,44 \pm 0,05*	2,78 \pm 0,06**	8,14 \pm 0,35**	4,024 \pm 0,230***	4,461 \pm 0,175***
Grupo VI Group VI	2,54 \pm 0,15***	1,27 \pm 0,09***	2,50 \pm 0,04*	2,94 \pm 0,06***	8,85 \pm 1,10**	4,147 \pm 0,185***	5,989 \pm 0,214***
Valor F Value F	26,738	33,322	6,925	23,176	26,308	54,268	104,17
Valor P Value P	<0,0001	<0,0001	0,0029	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Los valores se expresan como promedio \pm SEM.
El grupo II se comparó con el grupo I.
Los grupos III, IV, V y VI se compararon con el grupo II.
* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; NS = No significativo

Values are expressed as mean \pm SEM.
Groups II was compared with group I.
Groups III, IV, V and VI were compared with group II.
* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; NS = Non Significant

Al final del período del experimento, se había producido una disminución media de peso corporal de $32,5 \pm 5,7$ g en el grupo de control (Grupo II), lo cual fue considerado significativo, en comparación con el grupo normal, que registró un incremento medio de $67,6 \pm 6,3$ g. de peso corporal. Cuando se administró Activit en dosis de 125, 250 y 500 mg kg⁻¹ por vía oral, la reducción de peso corporal se invirtió significativamente. La reducción de peso corporal en los grupos III, IV y V respectivamente resultó ser sólo de $18,7 \pm 4,5$ g, $9,5 \pm 5,6$ g y $3,7 \pm 4,2$ g, respectivamente. Al administrar una dosis de Activit de 1000 mg kg⁻¹ por vía oral, se produjo un aumento del peso corporal de $16,5 \pm 5,9$ g.

DISCUSIÓN

El infarto de miocardio inducido mediante isoproterenol sirve de modelo bien estandarizado para el estudio de los efectos beneficiosos de muchos fármacos. Se ha informado de que el isoproterenol, un antagonista β - adrenérgico no selectivo, produce estrés oxidativo en el miocardio, lo que provoca un infarto al igual que la necrosis del músculo cardíaco²⁵. Se ha sugerido el aumento de la formación de radicales libres y de peróxido lipídico como uno de los mecanismos bioquímicos que provocan el daño miocárdico²⁶.

El infarto de miocardio viene acompañado de la desintegración de los ácidos grasos poliinsaturados de la membrana, expresado por el aumento de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), una medida de los peróxidos lipídicos, y por el deterioro del barrido natural, caracterizado por los niveles de superóxido dismutasa, catalasa y glutatión reducido²⁷.

Los niveles séricos de creatina kinasa, lactato dehidrogenasa y de GOT son los indicadores de diagnóstico del infarto de miocardio. El aumento de los niveles séricos de enzimas en casos de isquemia miocárdica se debe al paso de enzimas a la sangre¹³. El aumento de ácido úrico sérico podría deberse a la degradación excesiva de los nucleótidos de purina y a la proteólisis²⁸.

El tratamiento previo con Activit redujo notablemente la peroxidación lipídica e hizo aumentar los niveles de glutatión, catalasa y SOD, lo que sugiere que es eficaz en la prevención del daño inducido por radicales libres. La reducción

At the end of the experimental period, there was an average decrease of 32.5 ± 5.7 g in the control group (Group II) which was found to be significant as compared to the normal group which recorded an average increase in body weight of 67.6 ± 6.3 g. When the animals were given Activit 125, 250, 500 mg kg⁻¹ p.o., the decrease in the body weight was reversed significantly. The decrease in the body weight in groups III, IV and V was found to be only 18.7 ± 4.5 g, 9.5 ± 5.6 g and 3.7 ± 4.2 g, respectively. Upon administration of Activit at 1000mg kg⁻¹ p.o., there was an increase in body weight of 16.5 ± 5.9 g.

DISCUSSION

Isoproterenol-induced myocardial infarction serves as a well-standardized model to study the beneficial effects of many drugs. Isoproterenol, a non-selective β - adrenergic agonist, has been reported to cause oxidative stress in the myocardium resulting in infarct like necrosis of the heart muscle²⁵. During isoproterenol-induced myocardial infarction enhanced free radical formation and lipid peroxide accumulation have been proposed as one of the possible biochemical mechanism for myocardial damage²⁶.

Myocardial infarction is accompanied by the disintegration of membrane polyunsaturated fatty acids expressed by increase of thiobarbituric acid reactive substance (TBARS), a measure of lipid peroxides and by the impairment of natural scavenging, characterized by the decrease in the levels of superoxide dismutase, catalase and reduced glutathione²⁷.

Serum levels of creatine kinase, lactate dehydrogenase and GOT are the diagnostic indicators of myocardial infarction. The increased levels of serum enzymes in myocardial ischemia are due to the leakage of enzymes into blood¹³. Increase in serum uric acid could be due to excessive degradation of purine nucleotides and proteolysis²⁸.

Activit pretreatment significantly reduced lipid peroxidation and increased the levels of glutathione, catalase and SOD, which suggests its efficacy in preventing free-radical induced damage. The reduction in serum enzyme levels by Activit may be due its membrane stabilizing activity, which prevented the release of lysosomal enzymes. Thus, the observations made in

de los niveles séricos de enzimas provocada por Activit puede deberse a su actividad estabilizadora de la membrana, lo que evitó la liberación de enzimas lisosómicas. Por tanto, las observaciones realizadas en el presente estudio mostraron que la administración de Activit previene el estrés oxidativo inducido por el daño miocárdico producido mediante isoproterenol.

La cisplatina [cis-diaminodicloroplatino (II):CDDP] es un agente quimioterapéutico de uso extendido contra el cáncer cuyo uso clínico está limitado por su toxicidad renal²⁹. Existen informes previos que sugieren que la nefrotoxicidad inducida mediante cisplatina se produce por el aumento de la peroxidación lipídica y la disminución de los tioles celulares³¹ en los tejidos renales tras el tratamiento con cisplatina. La cisplatina inhibe la actividad de las enzimas antioxidantes (SOD y catalasa) en los riñones de las ratas, lo que sugiere que la nefrotoxicidad de la cisplatina es consecuencia de la formación de especies reactivas de oxígeno³². Los resultados obtenidos en este estudio se correlacionan con estos informes previos, que mencionan que el aumento de la peroxidación lipídica y la disminución del glutatión reducido y de las enzimas antioxidantes (SOD y catalasa) contribuyen a la nefrotoxicidad inducida por la cisplatina.

Se han estudiado los efectos de varios antioxidantes como el hidroxianisol butilado (BHA) y el glutatión (GSH) en el daño renal inducido mediante cisplatina y se ha determinado que estos compuestos evitan la peroxidación lipídica inducida por la cisplatina y la eliminación del glutatión y de las enzimas antioxidantes, lo cual se corresponde con los resultados obtenidos en el presente estudio. La nefrotoxicidad de la cisplatina, caracterizada por el aumento de creatinina, urea, ácido úrico y NUS en el suero, también se invirtió en un grado notable gracias a Activit. El fármaco Activit también protegió a los animales de la pérdida de peso corporal inducida por la cisplatina.

La $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$, la $\text{Ca}^{2+}\text{ATPasa}$ y la $\text{Mg}^{2+}\text{ATPase}$ son enzimas de membrana. Se ha informado de que la administración de isoproterenol^{34,35} y de cisplatina³⁶ de manera independiente provocaron la disminución de la actividad de estas ATPasas de membrana. Los resultados obtenidos en este estudio también se corresponden con los informes mencionados. Se observó que el fármaco Activit aumenta notablemente la

the present study showed that Activit administration prevents oxidative stress induced by isoproterenol myocardial injury.

Cisplatin [cis-diamminedichloroplatinum (II): CDDP] is a widely used cancer chemotherapeutic agent whose clinical use is limited by its renal toxicity²⁹. Previous reports suggest that cisplatin-induced nephrotoxicity is by increase in lipid peroxidation³⁰ and depletion of cellular thiols³¹ in kidney tissues following cisplatin treatment. Cisplatin inhibits activities of antioxidant enzymes (SOD and catalase) in rat kidneys suggesting that cisplatin nephrotoxicity results from generation of reactive oxygen species³². The results obtained in this study correlates with these previous reports, which mention that enhancement in lipid peroxidation, and decrease in reduced glutathione and antioxidant enzymes (SOD and catalase) contributes to cisplatin-induced nephrotoxicity.

Effects of several antioxidants like butylated hydroxyl anisole (BHA) and glutathione (GSH) on cisplatin-induced renal injury have been studied and these compounds prevent cisplatin-induced lipid peroxidation and depletion of glutathione³³ and antioxidant enzymes; which is in agreement with the results obtained in the present study. The nephrotoxicity of cisplatin, characterized by the elevation of serum creatinine, urea, uric acid and BUN, was also reversed to a significant extent by Activit. The drug, Activit was also able to protect the animals against cisplatin-induced decrease in body weight.

$\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$, $\text{Ca}^{2+}\text{ATPase}$ and $\text{Mg}^{2+}\text{ATPase}$ are membrane bound enzymes. It has been reported that administration of isoproterenol^{34,35} and cisplatin³⁶ alone resulted in decrease in the activities of these membrane bound ATPases. The results obtained in this study also correlates with the above reports. The drug, Activit was found to significantly increase the activity of all the ATPases in both the models.

In conclusion, the results obtained from this study indicate that Activit pretreatment offers significant protection to heart (cardioprotective effect) and kidney (nephroprotective effect) and reduces the risk of isoproterenol-induced cardiac damage and cisplatin-induced nephrotoxicity by inhibiting lipid peroxidation and activating antioxidant defense enzymes in the organ.

actividad de todas las ATPasas en ambos modelos.

Como conclusión, los resultados obtenidos en este estudio indican que el tratamiento previo con Activit ofrece una protección importante del corazón (efecto cardioprotector) y del riñón (efecto nefroprotector) y reduce el riesgo de daño cardíaco inducido mediante isoproterenol y la nefrotoxicidad inducida mediante cisplatina, ya que inhibe la peroxidación lipídica y activa las enzimas antioxidantes defensivas en el órgano.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento a Ayur Herbals Pvt. Ltd., Baroda, por el suministro de la formulación Activit, y a UGC por su ayuda financiera para el desarrollo con éxito de este trabajo.

ACKNOWLEDGEMENT:

We are thankful to Ayur Herbals Pvt. Ltd., Baroda for providing us the formulation, Activit and UGC for providing financial assistance for successfully carrying out this work.

BIBLIOGRAFÍA/BIBLIOGRAPHY

1. Maxwell SJ. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs* 1995; 49: 345-350.
2. Barry H. Antioxidant effects a basis for drug selection. *Drugs* 1991; 42: 569-573.
3. Tripathi YB, Upadhyay AK. Effect of the alcohol extract of the seeds of *Mucuna pruriens* on free radicals and oxidative stress in albino rats. *Phytotherapy Research* 2002; 16: 534-538.
4. Bhattacharya A, Ghosal S, Bhattacharya SK. Anti-oxidant effect of *Withania somnifera* glycowithanolides in chronic footshock stress-induced perturbations of oxidative free radical scavenging enzymes and lipid peroxidation in rat frontal cortex and striatum. *J. Ethnopharmacology* 2001; 74: 1-6.
5. Mishra LC, Singh BB, Dagenais S. Scientific basis for the therapeutic use of *Withania somnifera* (ashwagandha): a review. *Altern. Med. Rev.* 2000; 5: 334-46.
6. Scartezzini P, Speroni E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *J. Ethnopharmacology* 2000; 71: 23-43
7. VeerendraKumar MH, Gupta YK. Effect of different extracts of *Centella asiatica* on cognition and markers of oxidative stress in rats. *J. Ethnopharmacology* 2002; 79: 253-260.
8. Kamat JP, Bolor KK, Devasagayam TP, Venkatachalam SR. Antioxidant properties of *Asparagus racemosus* against damage induced by gamma-radiation in rat liver mitochondria. *J. Ethnopharmacology* 2000; 71: 425-435
9. Tripathi YB, Chaurasia S. Interaction of *Strychnos nux-vomica*-products and iron: with reference to lipid peroxidation. *Phytomedicine* 2000; 7: 523-528.
10. Mathew S, Kuttan G. Antioxidant activity of *Tinospora cordifolia* and its usefulness in the amelioration of cyclophosphamide induced toxicity. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 1997; 16: 407-411.
11. Shah ZA, Vohora SB. Antioxidant/restorative effects of calcined gold preparations used in Indian systems of medicine against global and focal models of ischaemia. *Pharmacol Toxicol.* 2002; 90(5): 254-259.
12. Sathish V, Ebenezar KK, Devaki T. Synergistic effect of Nicorandil and Amlodipine on tissue defense system during experimental myocardial infarction in rats. *Mol. Cell. Biochem.* 2003; 243: 133-138.
13. Mitra SK, Venkataranganna MV, Sundaram R, Gopumadhavan S. Antioxidant activity of AO-8, a herbal formulation, in *in vitro* and *in vivo* experimental models. *Phytotherapy Research* 1999; 13, 300-306.
14. Antunes LM, Darin JD, Bianchi Nde L. Effects of the antioxidants curcumin or selenium on cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in rats. *Pharmacol. Res.* 2001; 43: 145-150.
15. Rao M, Rao MNA. Protective effects of cystone, a polyherbal ayurvedic preparation, on cisplatin- induced renal toxicity in rats. *J. Ethnopharmacology* 1998; 62: 1-6.
16. Mishra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the auto-oxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry* 1972; 247: 3170-3175.
17. Colowick SP, Kaplan NO, Packer L. *Methods in Enzymology*. Vol. 105. London: Academic Press, 1984: 121-125.
18. Moran MS, Depierre JW, Mannervik B. Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat lung and liver. *Biochimica et Biophysica ACTA* 1979; 582: 67-78.
19. Slater TF, Sawyer BC. The stimulatory effects of carbon tetrachloride and other halogenoalkanes on peroxidative reactions in rat liver fractions *in vitro*. *Biochemical Journal* 1971; 123: 805-814.

20. Bonting SL. Presence of enzyme system in mammalian tissues. Membrane and Ion transport. London: Wiley Inter Science; 1970: p. 257-263.
21. Hjerken S, Pan H. Purification and characterization of two forms of a low affinity Ca^{2+} ATPase from erythrocyte membranes. *Biochimica et Biophysica ACTA* 1983; 728: 281-288.
22. Ohnishi T, Suzuki T, Suzuki Y, Ozawa K. A comparative study of plasma membrane Mg^{2+} ATPase activities in normal, regenerating and malignant cells. *Biochimica et Biophysica ACTA* 1982; 684: 67-74.
23. Fiske CH, Subbarow YT. Colorimetric determination of phosphorus. *Journal of Biological Chemistry* 1925; 66: 375-400.
24. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AC, Randell RJ. Protein measurement with folin-phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 1975; 193: 265-275.
25. Wexler BC, Greenberg BP. Protective effects of clofibrate on isoproterenol-induced myocardial infarction in arteriosclerotic and non- arteriosclerotic rats. *Atherosclerosis* 1978; 29: 373-375.
26. Sushmakumari S, Jayadeep A, Suresh Kumar JS, Menon PVG. Effect of carnitine on malondialdehyde, taurine and glutathione levels in hearts of rats subjected to myocardial stress by isoproterenol. *Indian J. Exp. Biol.* 1989; 27: 134-137.
27. Nirmala C, Puvanakrishnan R. Protective role of curcumin against isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Mol. Cell. Biochem.* 1996; 159:85-93.
28. Iriama. Uric acid in ischaemic tissues. *Jikeikai Med. J.* 1987; 34: 145-168.
29. Goldstein RS, Mayor GH. The nephrotoxicity of cisplatin. *Life Sciences* 1983; 32: 685-691.
30. Hanneman J, Baumann K. Nephrotoxicity of cisplatin, carboplatin and transplatin. A comparative *in vitro* study. *Arch. Toxicol.* 1991; 64: 393-400.
31. Levi J, Jacobs C, Kalman S, Mc Tighe M, Weinder MW. Mechanism of cis-platinum nephrotoxicity. I.Effect on SH groups in rat kidney. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1980; 213: 545-550.
32. Sdzuka Y, Shoji T, Takino Y. Effect of cisplatin on the activities of enzymes which protect against lipid peroxidation. *Biochem. Pharmacol.* 1992. 1992; 43: 1872-1875.
33. Kim YK, Jung JS, Lee SH, Kim YW. Effects of antioxidants and calcium in cisplatin induced renal injury in rabbit renal cortical slices. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1997; 146: 261-269.
34. Chernysheva GV, Stoida LV, Amarantova GG, Kuz'mina IL. Effect of disseminated myocardial necrosis on ATPase activity, Ca^{2+} transport, and lipid peroxidation in cardiac mitochondrial and microsomal membranes *Biull. Eksp. Biol. Med.* 1980; 89(5): 563-565.
35. Manjula TS, Devi CS. Effect of aspirin on mitochondrial lipids in experimental myocardial infarction in rats. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 1993; 29(5): 921-928.
36. Devi Priya S, Shyamala Devi CS. Protective effect of Quercetin in cisplatin-induced cell injury in the rat kidney. *Indian Journal of Pharmacology* 1999; 31: 422-426.