اثرات حفاظتی عصاره میوه گیاه تمشک (*Rubus fruticosus* L.) بر عملکرد آنتی اکسیدانی در موش های صحرایی نر دیابتیک القا شده با استرپتوزوتوسین

نوشین امینی[۱]، عبدالحسین شیروی[۱]، ناصر میرازی[۲*]، ویدا حجتی[۱] و رقیه عباسعلی پورکبیره[۳]

[۱] ایران، دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، گروه زیست شناسی

[۲] ایران، همدان، دانشگاه بوعلی‌سینا، گروه زیست شناسی

[۳] ایران، همدان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، گروه بیوشیمی بالینی

تاریخ دریافت: ۹۸/۴/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۸/۸/۴

چکیده

هدف از این مطالعه، به ارزیابی اثرات حفاظتی عصاره میوه گیاه تمشک بر میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و تغییرات سطح سرمی مالون دی آلدئید (MDA) و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC) در موش های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می پردازد. در این مطالعه آزمایشگاهی، موش‌ها بوسیله تزریق داخل صفاقی STZ دیابتی شدند. میوه تمشک با روش معمول، عصاره‌گیری شد. موش‌ها به پنج گروه سالم (کنترل)، دیابتی (DM) و DM + دوزهای ۵۰،۱۰۰،۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. پس از تزریق عصاره به صورت IP به مدت ۴ هفته، میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز و سطح سرمی مالون دی آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام تعیین شد و داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفتند. فعالیت SOD و GPx و سطح سرمی TAC در گروه DM دچار کاهش معنادار نسبت به دیگر گروه‌ها شد ($P <۰/۰۵$) پس از درمان، فعالیت آنزیم های SOD و GPx و سطح سرمی TAC به شکل معناداری افزایش پیدا کرد ($P <۰/۰۵$). سطح سرمی MDA در گروه DM افزایش چشمگیری یافت ($P <۰/۰۵$). و پس از درمان با عصاره کاهش معنی داری پیدا کرد ($P <۰/۰۵$). عصاره میوه تمشک با افزایش فعالیت و ظرفیت آنتی اکسیدانی و مهار تولید MDA در سطح سرم موش های صحرایی مبتلا به دیابت با STZ، منجر به بهبود عملکرد فعالیت آنتی اکسیدانی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: عصاره تمشک، آنتی اکسیدان، دیابت، موش صحرایی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۱۳۸۳۸۱۰۵۸ ، پست الکترونیکی: mirazi@basu.ac.ir

مقدمه

بیماری قند یا دیابت ملیتوس (DM) یک اختلال متابولیک است که با سطح بالای قند خون همراه است و به علت نقص ترشح و یا نقص در عملکرد انسولین و یا هر دوی آنها ایجاد می شود (۱۶). اثرات زیان آور تنش اکسیداتیو، حاصل از تولید و افزایش گونه‌های اکسیژن واکنشی، یا کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول‌های طبیعی یک ارگان (۲۲) می‌باشد. افزایش استرس اکسیداتیو در افراد مبتلا به دیابت منجر به بروز طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها مانند رتینوپاتی، نفروپاتی، نوروپاتی، بیماری های قلبی- عروقی و اختلالات جنسی و هورمونی می شود (۳۳).

خانواده سیستم جذب اکسیژن از آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز تشکیل شده است (۳۱). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با سرعت بخشیدن به واکنش تبدیل دو رادیکال آنیون سوپراکسید به پراکسید

هیدروژن و اکسیژن مولکولی، باعث جمع‌آوری رادیکال-های مضر مذکور می‌شود (۵). آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در طی روند خنثی کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن منجر به تبدیل پراکسیدهیدروژن به آب و اکسیژن می‌شوند (۳۰). تقویت این سیستم باعث بهبود عملکرد اعصاب محیطی، تصحیح عملکرد آندوتلیال در افراد دیابتی و اثرات مفیدی بر تجمع پلاکتی می‌گردد (۶). مالون دی‌آلدئید(MDA)، یک گروه کربونیل تولید شده در طی پراکسیداسیون لیپید است (۳۷). شدت آسیب پراکسیداتیو را می‌توان با تخمین محصولات آلدئیدی پایدار انتهایی پراکسیداسیون لیپید از قبیل مالون دی‌آلدئید سنجید (۳۵).

با این وجود، استفاده از غذاهای غنی از ترکیبات شیمیایی طبیعی گیاهی (phytochemicals) و دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می تواند اثرات مضر ناشی از آسیب اکسیداتیو در چندین بافت از جمله کبد، روده و کلیه را کاهش دهد (۲۲). گیاه *Rubus fruticosus* L. یا تمشک حاوی ترکیبات متعددی است که شامل ویتامین‌هایی مانند A، C، E و اسید فولیک (۳۹)، کلرید معدنی و Zn، Cu، Al، Mn، Co، Fe می باشد (۳۸). همچنین انواع استرول‌ها و کاروتنوئیدها از میوه و روغن دانه *R. fruticosus* استخراج شده است (۴۴و ۴۳). تمشک سیاه یک منبع غنی از آنتی‌اکسیدان های طبیعی است زیرا حاوی مقادیر زیاد فنل‌ها، فلاونول‌ها و آنتوسیانین‌ها است و به همین علت مهار کننده های رادیکال های آزاد هستند. مهمترین اثرات تمشک سیاه، خاصیت ضدمیکروبی، آنتی اکسیدانی، ضدالتهابی و ضد-سرطانی است (۴۳). باتوجه به اینکه در حال حاضر مطالعات کافی در مورد اثرات کاهشی میوه تمشک بر عوارض دیابت در عملکرد آنتی اکسیدانی انجام نشده است، هدف از این مطالعه بررسی اثرات حفاظتی عصاره میوه گیاه تمشک بر عملکرد آنتی اکسیدانی در موش های صحرایی نر دیابتیک القا شده با استرپتوزوتوسین می‌باشد.

مواد و روشها

دراین پژوهش تجربی ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از مؤسسه انسیتو پاستور ایران خریداری شدند. این موش‌ها در قفس‌های ویژه‌ای نگاهداری شده و دمای اتاق حیوانات حدود ۲±۲۲ درجه سانتی گراد بود. برنامه نوری مورد استفاده ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با شروع روشنایی صبحگاهی در ساعت ۸ تعیین و حیوانات آزادانه به آب تازه و غذا به صورت نامحدود دسترسی داشتند. غذای موش‌ها از کارخانه خوراک دام پارس تهیه شد. علاوه براین، بررسی‌های بالینی نیز به منظور یافتن علائم عام آسیب‌شناسی، به طور متناوب انجام می‌گرفت. در برنامه مطالعاتی، در ابتدا وزن‌گیری انجام شد و طبق وزن‌های به دست آمده، موش‌ها در قفس‌ها قرار گرفتند. با این عمل میانگین وزن هر قفس در یک رنج قرارگرفت و عامل وزن حذف شد.

جهت تهیه عصاره، در ابتدا میوه تمشک از باغات شمال ایران تهیه و توسط مرکز تحقیقات کشاورزی مورد شناسایی قرارگرفت. سپس میوه گیاه در شرایط مناسب در سایه خشک، نگهداری و توسط دستگاه میکسر به صورت پودر درآمد. سپس مقدار ۵۰۰ گرم پودر خشک میوه گیاه به نسبت ۸۰ درصد الکل اتیلیک و ۲۰ درصد آب مقطر مخلوط شد و به مدت ۷۲ ساعت در بن ماری ۵۰ تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا عصاره هیدروالکلی گیاه تهیه گردد. پس از صاف کردن مایع رویی توسط کاغذ صافی، محلول صاف شده با روش تبخیر در خلاء توسط دستگاه روتاری عصاره‌گیری شد. عصاره بدست آمده بعد از مراحل عصاره‌گیری در زیر هود به مدت ۲۴ ساعت تغلیظ شد و در نهایت باتوجه به دوزهای مورد نظر، عصاره تهیه شده را با حل کردن در آب مقطر (دو بار تقطیر) (۱۰)، آماده تزریق شد (۲۴).

داروی مورد استفاده برای القاء دیابت، استرپتوزوتوسین (STZ) خریداری شده از شرکت سیگما-آلدریچ آمریکا

(Sigma-Aldrich, USA) بود که با دوز ۵۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (۱)، پس از حل کردن در بافر سیترات به صورت داخل صفاقی (IP) به موش‌ها تزریق شد. بعد از گذشت ۷۲ ساعت از تزریق STZ، غلظت گلوکز خون با خونگیری از سیاهرگ دمی و با استفاده از دستگاه گلوکومتر اندازه‌گیری و قند خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر به عنوان ارزیابی ایجاد بیماری در نظر گرفته شد (۱۱و ۸). حیوانات به ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند و هر گروه نیز تحت آزمایشات خاص به شرح زیر قرارگرفتند: گروه کنترل (هیچ گونه دارویی دریافت نکردند) (۲و ۳)، گروه دیابتی دریافت کننده داروی STZ (۵۵ mg/kg)، گروه دریافت کننده STZ + دوز پایین عصاره میوه تمشک (۵۰mg/kg). گروه دریافت کننده STZ + دوز متوسط عصاره میوه تمشک (۱۰۰mg/kg) و گروه دریافت کننده STZ + دوز بالای عصاره میوه تمشک (۲۰۰mg/kg) (۱۳).

تزریق عصاره در همه گروه‌ها به صورت درون صفاقی روزی یک بار طبق زمان بندی مشخص بین ساعت ۱۲ الی ۱۳ ظهر به مدت ۴ هفته انجام شد. پس از گذشت زمان ذکر شده تزریق عصاره میوه گیاه تمشک، به منظور انجام سنجش فاکتورهای مورد نظر اقدام به انجام خونگیری کردیم، خونگیری از حیوانات در ساعت ۹ صبح الی ۳ بعدازظهر به عمل آمد. روش خونگیری از قلب باز به صورت مستقیم انجام گرفت. برای بیهوش کردن، ابتدا حیوان مورد نظر را در درون بشر حاوی پنبه آغشته به اتر جای داده و بدین وسیله حیوان تحت بیهوشی خفیف قرارگرفت.۳۰ دقیقه پس از خونگیری، نمونه‌ها را به مدت ۱۰ دقیقه درون دستگاه سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ قرار داده و سرم خون تهیه و برای سنجش فاکتورها بکار گرفته شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده جهت انجام فعالیت‌های آنزیمی به آزمایشگاه ارسال گردیدند. بررسی‌های به عمل آمده در خصوص فعالیت آنزیم‌های SOD و GPx و سطوح سرمی MDA و TAC توسط کیت‌های سنجش آنزیمی و سنجش غلظت ZellBio GmbH (Germany) آلمان صورت گرفت. تمامی مراحل آزمایشات طبق قوانین کمیته بین المللی اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی و براساس پروتکل اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی دامغان صورت پذیرفت.

به منظور تجزیه و تحلیل آماری، پس از حصول اطمینان از توزیع طبیعی داده‌های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار $SPSS_{21}$ و آزمون‌های آماری کولموگروف - اسمیرنوف و آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شد. سپس از آزمون تعقیبی Tukey جهت بررسی اختلافات بین گروه‌ها استفاده گردید.

نتایج

باتوجه به نتایج مندرج در جدول ۱، قند خون در تمام موش‌های دریافت کننده استرپتوزوتوسین بعد از گذشت ۷۲ ساعت، بالاتر از ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر شد و از ایجاد بیماری دیابت اطمینان حاصل شد.

باتوجه به نتایج مندرج در جدول ۲، فعالیت آنزیم های SOD و GPx سطح سرمی TAC در گروه دیابتی دچار کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل شد (P <۰/۰۰۱). در بررسی فعالیت آنزیم SOD و GPx در گروه های دریافت کننده STZ + دوزهای ۵۰ ، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره میوه تمشک افزایش معناداری مشاهده شد (P <۰/۰۰۱). این افزایش معنادار در سطح سرمی TAC در گروه‌های دریافت کننده STZ + دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره میوه تمشک نسبت به گروه دیابتی نیز، مشاهده شد (P <۰/۰۰۱). در حالیکه فعالیت آنزیم SOD، در گروه های دریافت کننده STZ + دوزهای ۵۰ ، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره میوه گیاه تمشک نسبت به گروه کنترل دچار کاهش معناداری شد (P <۰/۰۵، P <۰/۰۱، P <۰/۰۰۱)، که این کاهش معنادار در فعالیت آنزیم GPx (P <۰/۰۵، P <۰/۰۰۱) و همچنین

سطح سرمی TAC (P <۰/۰۱، P <۰/۰۰۱) نیز مشاهده شد. از طرفی در بررسی سطح سرمی MDA، دریافت STZ در گروه دیابتی منجر به افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل شد (P <۰/۰۰۱). سطح سرمی MDA در گروه‌های دریافت کننده‌ی STZ + دوزهای ۵۰ ، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره میوه تمشک نسبت به گروه دیابتی دچار کاهش معناداری شد (P <۰/۰۰۱، P <۰/۰۵). همچنین در سطح سرمی MDA در گروه‌های دریافت کننده STZ + دوزهای ۵۰ ، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره میوه تمشک نیز افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (P <۰/۰۰۱، P <۰/۰۵).

جدول ۱- میانگین و خطای استاندارد میانگین میزان قند خون در موش های صحرایی نر سالم و دریافت کننده استرپتوزوتوسین قبل و بعد از گذشت ۷۲ ساعت

گروه/ فاکتور	قند خون قبل از دریافت استرپتوزوتوسین (میلی گرم بر دسی لیتر)	قند خون ۷۲ ساعت بعد از از دریافت استرپتوزوتوسین (میلی گرم بر دسی لیتر)
موش های سالم (کنترل)	۹۶±۱۳/۰۲	۱۰۱±۱۱/۴۹
موش های دریافت کننده استرپتوزوتوسین	۱۰۶±۱۴/۱۴	۴۲۲±۴۵/۴۸

جدول ۲- مقایسه میانگین و خطای استاندارد میانگین فاکتورهای SOD، GPx، TAC و MDA در گروه های کنترل و دریافت کننده STZ و STZ + دوزهای مختلف عصاره میوه گیاه تمشک

گروه/ فاکتور	سوپراکسیددیسموتاز (واحد بین المللی بر میلی لیتر)	گلوتاتیون‌پراکسیداز (واحد بین المللی بر میلی لیتر)	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (میلی مول)	مالون‌دی‌آلدئید (میکرومول)
کنترل	۲۹/۷۳±۰/۴۸۳	۴۹۱/۴۵±۱/۴۰	۱/۳۸±۰/۰۶۹	۶/۱۸±۰/۸۵۰
دیابتی	۱۸/۶۷±۰/۳۶۳ ***	۲۳۹/۴۸±۱/۴۸ ***	۰/۳۱±۰/۰۶۳ ***	۲۷/۴۳±۱/۸۷۲ ***
دیابتی+عصاره تمشک ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۲۲/۷۵±۰/۳۵۵ *** ###	۴۴۸/۶۳±۰/۸۹ *** ###	۰/۴۷±۰/۰۶۰ ***	۲۰/۹۷±۰/۸۳۳ *** #
دیابتی+عصاره تمشک ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۲۳/۲۲±۰/۶۲۰ *** ###	۴۲۳/۵۳±۱/۷۹ *** ###	۰/۶۸±۰/۰۴۳ *** ###	۱۸/۳۹±۱/۲۰۹ *** ###
دیابتی+عصاره تمشک ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۲۶/۵۵±۰/۲۳۶ *** ###	۴۸۲/۳۲±۳/۱۷ * ###	۱/۰۱±۰/۰۳۲ ** ###	۱۳/۰۴±۱/۳۷۴ * ###

* اختلاف معنی دار با گروه کنترل و # اختلاف معنی دار با گروه دیابتی. (P<۰/۰۵)

بحث

در مطالعه حاضر اثرات حفاظتی عصاره میوه گیاه تمشک (*Rubus fruticosus* L.) بر عملکرد آنتی اکسیدانی در موش های صحرایی نر دیابتیک القا شده با استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرارگرفت و نتایج این مطالعه نشان داد که در طول انجام پژوهش فوق، تزریق STZ باعث کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های SOD و GPx و سطح سرمی TAC شده و افزایش سطح سرمی MDA را به دنبال داشته است و این نتیجه با نتایج مطالعات گذشته مبنی بر اینکه دیابت منجر به کاهش معنی‌داری در میزان آنتی اکسیدان‌های سرم (TAC، SOD و GPx) و افزایش معنی‌داری در MDA شده است (۲۸) همخوانی دارد.

همچنین مطالعات متعددی نشان می دهند که تجویز STZ موجب افزایش تولید پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از جمله SOD و GPx در موش‌های آزمایشگاهی می شود (۹). در همین راستا در مطالعه ای دیگر، در مدل حیوانی دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین، کاهش شدید فعالیت‌های SOD و GPx در کبد موش‌های صحرایی دیابتی مشاهده شد (۱۴).

باتوجه به نتایج به دست آمده از پژوهش‌های پیشین و مطالعه حاضر، در بررسی تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی در رت های دیابتی، احتمالاً هایپرگلیسمی سبب افزایش از دست دهی یون Cu^{+2} می شود. در واقع گلیکوزیلاسیونCu/Zn SOD، نهایتاً منجر به غیرفعال شدن این آنزیم خواهد شد (۲۵). احتمال می‌رود که فعالیت پایین GPx در موش‌های دیابتی به طور مستقیم می‌تواند با محتوای کم GSH موجود در بیماران مبتلا به دیابت نیز ارتباط داشته باشد (۲۹). از آنجا که GSH یک سوبسترای GPx است، غیرفعال کردن این آنزیم می‌تواند فعالیت GPx را کم کند (۳۲). از طرفی می توان احتمال داد که ابتلا به دیابت باعث افزایش هموسیستئین می شود (۲۶و ۲۷) و از آنجایی که هموسیستئین تام ارتباط معنی‌داری با MDA و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام دارد، افزایش هموسیستئین منجر به اکسیداسیون LDL و تولید گونه‌های فعال اکسیژن شده و نهایتاً فعالیت آنتی اکسیدانی تام بدن را مهار می‌کند و منجر به افزایش در تولید MDA می شود (۳۶ و ۴۱).

یافته دیگر این مطالعه نشان می دهد که تزریق دوزهای مختلف عصاره میوه تمشک به موش‌های دیابتی باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی آنزیم‌های SOD و GPx و سطح سرمی TAC نسبت به گروه دیابتی شد و کاهش قابل توجهی در سطح سرمی MDA نسبت به موش‌های دیابتی گردید. در راستای نتایج مطالعه حاضر، یافته‌های پژوهش دیگری نشان داد که عصاره ریشه گیاه C. borviliviumum توانست سطح استرس اکسیداتیو اسپرم، میزان تولید پراکسیداسیون لیپید، MDA و رادیکال‌های آزاد اکسید نیتروژن را کاهش و مقدار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) و سطوح آنزیم های آنتی‌اکسیدان اندوژن (SOD و GPx) موش‌های دیابتی را افزایش دهد (۲۳). مطالعات انجام شده بر روی اثر عصاره دانه گیاه Securigera Securidaca بر روی موش‌های دیابتی شده با STZ نشان داد که عصاره دانه این گیاه غنی از فلاوونوئیدها است که باعث افزایش دفاع آنتی اکسیدانی می شود (۶). در پژوهشی که بر روی تأثیرات آنتی اکسیدان های گیاهی انجام شد، محقق برای تیمار رت‌های دیابتی شده با STZ، روزانه ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم دارچین و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم زنجبیل استفاده کرد و در نهایت مشاهده شد که سطح سرمی آنتی اکسیدان‌ها شامل TAC و SOD افزایش و همچنین سطح MDA پس از درمان با زنجبیل و دارچین کاهش یافت (۲۸). گیاه خربزه‌ی تلخ نیز سرشار از فلاونوئیدها و ترکیبات فنولیک است که تجویز طولانی مدت عصاره میوه نارس آن در موش‌های دیابتی، میزان مالون دی آلدئید سرم را در رت‌های دیابتی کاهش داد (۷). همچنین عصاره آبی هسته انگور سیاه دارای نقش محافظتی بر ضد آسیب اکسیداتیو در رت‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین است، که منجر به افزایش ظرفیت آنتی-اکسیدان توتال می شود (۴). باتوجه به نتایج به دست آمده از مطالعات پیشین و پژوهش حاضر، می توان احتمال داد که فلاونوئیدهای موجود در میوه گیاه تمشک (۳۴)، سطح گلوتاتیون را در سلول افزایش می دهد (۱۹و ۴۰). از آنجایی که گلوتاتیون برای فعالیت GPx ضروری است، افزایش گلوتاتیون سلولی، منجر به افزایش فعالیت GPx می شود (۱۸). همچنین باتوجه به ترکیبات پلی فنولیک موجود در میوه گیاه تمشک (۴۴)، احتمالاً با افزایش دادن ترشح آدیپونکتین (۴۲)، باعث القای تولید سایتوکین ضدالتهابی اینترلوکین ۱۰ و فعالیت TNF-α می گردد (۲۱). بنابراین IL-10 به طور مستقیم موجب افزایش سطح SOD و فعالیت TNF-α منجر به افزایش مقاومت انسولین و در

نهایت افزایش در سطح آنتی‌اکسیدانی تام بدن می‌شود (۲۰، ۱۲و ۱۵). از طرفی احتمال دارد که گیاه تمشک با اثر هایپوگلایسمیک (۲۸)، از طریق کاهش دادن سطح محصولات گلیکوزیلاسیون (AGE) منجر به کاهش استرس اکسیداتیو شده و در نهایت محصولات آن را از جمله مالون دی آلدئید، کاهش دهد (۱۷). همچنین ترکیبات فنولی موجود در میوه‌ی تمشک (۲۴) می توانند یک اتم هیدروژن را از گروه OH آروماتیک به رادیکال آزاد داده و آن را خنثی کنند (۱۰). با این روش کاهش محصولات استرس اکسیداتیو از جمله مالون دی آلدئید را به دنبال خواهد داشت. از آنجایی که در انجام این پژوهش محدودیت‌های اعتباری و زمانی وجود داشت، مانع گردید تا به صورت جامع و کامل به بررسی برخی دیگر از پارامترهای موثر در بیماری دیابت پرداخته شود. همچنین به دلیل پاره‌ای مشکلات از جمله عدم در دسترس قرارگرفتن به موقع کیت‌های تشخیصی و افزایش هزینه های مربوطه، سنجش تعدادی از سایتوکین‌های موثر در روند فعالیت های آنزیمی و بهبود بافتی صورت نپذیرفت. در آینده امیدواریم که با برطرف شدن مشکلات بتوان به بررسی موارد دیگری از اهداف این پژوهش دست یابیم.

نتیجه‌گیری

ترکیبات موجود در عصاره میوه تمشک منجر به بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی بدن می‌شود و عوارض استرس اکسیداتیو ناشی از بیماری دیابت را کاهش می‌دهد. کنترل عوارض دیابت در پی استفاده از این میوه مورد انتظار می‌باشد.

تقدیر و تشکر

این پژوهش، حاصل پایان نامه مقطع دکترای تخصصی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان بود و با حمایت های معنوی و مالی حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان به انجام رسیده است. بدین وسیله از کمک و مساعدت این عزیزان تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

منابع

۱. پاک دشت، ز.، نوروزی، پ.، حجتی، و.، و کلالیان مقدم، ح.، ۱۳۹۵. اثر پالماتین هیدروکلراید بر استرس اکسیداتیو در موش های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، مجله پیشرفت در تحقیقات پزشکی و زیست پزشکی، دوره ۲۴، شماره ۱۰۷، صفحات ۱۱۹-۱۲۹.

۲. حاجی نژاد، م.، شاپری، ع.، حاجیان شهری، ش.، سارانی، ف.، و صالحی مقدم، م.، ۱۳۹۴. اثر عصاره هیدروالکلی ریشه زرشک وحشی بر سطح سرمی گلوکز، هموگلوبین گلیکوزیله و مالون دی آلدئید در موش صحرایی دیابتی، مجله دانشکده علوم پزشکی نیشابور، دوره ۳، شماره ۳، صفحات ۲۱-۲۸.

۳. حسنوند، و.، یوسف وند، ن.، و حاتمی، ک.، ۱۳۹۵. اثر پیشگیرانه ترکیب سولفات روی و عصاره هیدروالکلی گل سیر بر دیابت القاشده با استرپتوزوتوسین (STZ) بر موش سفید صحرایی نر، مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، دوره ۳۰، شماره۱، صفحات ۳۳-۴۱.

۴. حیدری، س.، شیروی، ع.، و حجتی، و.، ۱۳۹۶. اثر عصاره آبی هسته انگور (*Vitis vinifera*) بر آسیب بیضه‌ای در موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، مجله پژوهش های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، جلد ۳۰، شماره ۳، صفحات ۲۷۱-۲۷۸.

۵. دهباشی بهبهانی، گ.، حاج‌حسینی، ر.، حقوقی‌راد، ل.، و هدایتی، م.، ۱۳۸۹. روش حساس کمی لومینسانس برای سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، مجله پزشکی کوثر، دوره ۱۵، شماره ۳، صفحات ۱۲۹-۱۳۳.

۶. روستازاده، ا.، فیروزرأی، م.، و شعبانی، م.، ۱۳۸۶. اثر عصاره آبی دانه *Securigera Securidaca* بر فعالیت آنزیم کاتالاز گلبول‌های قرمز در موش‌های صحرایی دیابتی تیپ۱ (عصاره *Securigera Securidaca* و فعالیت کاتالاز)، مجله دانشگاه علوم پزشکی قم، دوره ۱، شماره ۴، صفحات ۹-۱۴.

۷. سپاهی، م.، حاجی نژاد، م.، میری، ح.، و جهانتیغ، م.، ۱۳۹۵. اثر پودر میوه نارس گیاه مومورديکا کارانتیا بر مالون دی آلدئید سرم در موش‌های صحرایی تغذیه شده با جیره پرچرب، مجله طنین سلامت، دوره ۴، شماره ۳، صفحات ۲۴-۳۰.

۸. سلیمان‌زاده، ع.، ملکی فرد، ف.، و کبیریان، ع.، ۱۳۹۶. بررسی اثرات محافظتی عصاره هیدروالکلی سیر بر اختلالات اسپرماتوژنز در موش های *C57BL/6* دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، دوره ۲۲، شماره ۴، صفحات ۸-۱۷.

۹. شاه‌محمدی، ش.، خسروی، م.، و حاجی‌زاده مقدم، ا.، ۱۳۹۲. اثر عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در مواجهه با استرس اکسیداتیو ناشی از تزریق درون بطنی مغزی استرپتوزوتوسین در موش‌های صحرایی نر، فیزیولوژی و فارماکولوژی، دوره ۱۷، شماره ۲، صفحات ۱۷۶-۱۸۴.

۱۰. شاه محمدی، ش.، خسروی، م.، و حاجی‌زاده مقدم، ا.، ۱۳۹۲. اثر عصاره گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) بر غلظت مالون دی آلدئید در مواجهه با استرس اکسیداتیو ناشی از تزریق درون بطنی مغزی استرپتوزوتوسین در موش های صحرایی نر، مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، دوره ۲۳، شماره ۴، صفحات ۲۲۵-۲۲۹.

۱۱. صیاد زمردی، م.، و شیروی، ع.، ۱۳۹۴. بررسی اثر عصاره تمشک (*Rubus fruticosus*) بر ترمیم زخم پوستی رت دیابتی نژاد ویستار، مجله دیابت و متابولیسم ایران، دوره ۱۵، شماره۱، صفحات ۱-۸

۱۲. کاندرا، آ.، مهدی، ع.، ریضوی، و.، سینق، ر.، احمد، س.، و میشرا، ل.، ۱۳۸۳. اثر عوامل گیاهی کاهنده قند خون بر آنزیم های آنتی اکسیدان و یون های فلزی در موش های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، مجله دیابت و لیپید ایران، دوره ۴، شماره ۱، صفحات ۱۹-۲۶.

۱۳. محمدی مهدی آبادی حسنی، م.، مرادی، م.، خوشنام، س. ا.، و محمدی، ش.، ۱۳۹۶. بررسی عصاره هیدروالکلی میوه تمشک (Raspberry fruit) بر حافظه احترازی غیرفعال و درد ناشی از ایسکمی مغزی و خونرسانی مجدد به مغز در رت نژاد ویستار، فصلنامه گیاهان دارویی، سال ۱۶، دوره ۴، ویژه نامه شماره ۱۱، صفحات ۱۳۷-۱۴۶.

14. Adeyemi, D. O., Ukwenya, V. O., Obuotor, E. M., and Adewole, S. O., 2014. Anti-hepatotoxic activities of Hibiscus sabdariffa L. in animal model of streptozotocin diabetes-induced liver damage. BMC Complementary and Alternative Medicine; 14(277), PP: 2-11.

15. Astari, L. F., Cahyono, H. A., and Widjajanto, E., 2017. Correlation of interleukin-10, superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) levels with HbA1c in pediatric type 1 diabetes mellitus. J Trop Life Science, 7(3), PP: 286-292.

16. Canivell, S., and Gomis, R., 2014. Diagnosis and classification of autoimmune diabetes mellitus. Autoimmun Rev, 13(4-5), PP: 403-7.

17. Cha, J. Y., Cho, Y. S., Kim, I., Anno, T., Rahman, S. M., and Yanagita, T., 2001. Effect of hesperetin, a citrus flavonoid, on the liver triacylglycerol content and phosphatidate phosphohydrolase activity in orotic acid-fed rats. Plant Foods Hum Nutr, 56(4), PP: 349-58.

18. Dunning, S., Ur Rehman, A., Tiebosch, M. H., Hannivoort, R. A., Haijer, F.W., Woudenberg, J., van den Heuvel, F. A., Buist-Homan, M., Faber, K. N., and Moshage, H., 2013. Glutathione and antioxidant enzymes serve complementary roles in protecting activated hepatic stellate cells against hydrogen peroxide-induced cell death. Biochimica et Biophysica Acta, 1832(12), PP: 2027-34.

19. Durgo, K., Vukovic, L., Rusak, G., Osmak, M., and Colic, J. F., 2007. Effect of flavonoids on glutathione level, lipid peroxidation and cytochrome P450 CYP1A1 expression in human laryngeal carcinoma cell lines, Food Technol, Biotechnol, 45(1), PP: 69–79.

20. Eizadi, M., Kohandel, M., kasbparast, J. R. M., and Sarshin, A., 2011. Serum interleukin-1 beta plays an important role in insulin secretion in type II diabetic, Int J Biosci, 1(3), PP: 93-9.

21. Fantuzzi, G., 2005. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. J Allergy Clin Immunol, 115(5), PP: 911-9.

22. Fedail, J. S., Ahmed, A. A., Musa, H. H., Ismail, E., Sifaldin, A. Z., and Musa, T. H., 2016. Gum arabic improves semen quality and oxidative stress capacity in alloxan induced diabetes rats. Asian Pacific Journal of Reproduction, 5(5), PP: 434–441.

23. Giribabu, N., Kumar, K. E., Rekha, S. S., Muniandy, S., and Salleh, N., 2014. Chlorophytum borivilianum (Safed Musli) root extract prevents impairment in characteristics and elevation of oxidative stress in sperm of streptozotocin-induced adult male diabetic

Wistar rats. BMC Complementary and Alternative Medicine, 14(291), PP: 2-16.

24. Gomar, A., Hosseini, A., Mirazi, N., and Gomar, M., 2015. Effect of hydroethanolic extract of Rubus fruticosus on neuropathic pain in Wistar diabetic rats. Caspian J Neurol Sci, 1(1), PP: 27-34.

25. Hamden, K. I., Carreau, S., Jamoussi, K., Miladi, S., Lajmi, S., Aloulou, D., Ayadi, F., and Elfeki, A., 2009. 1Alpha, 25 dihydroxyvitamin D3: therapeutic and preventive effects against oxidative stress, hepatic, pancreatic and renal injury in alloxan-induced diabetes in rats. J Nutr Sci Vitaminol, 55(3), PP: 215-22.

26. Hunter-Lauin, C., Hudson, P. R., Mukherjee, S., Davies, G. K., Williams, C. P., Harvey, J. N., Child, D. F., and Williams, J. H. H., 2004. Folate supplementation reduces serum Hsp70 level with type2 diabetes. Cell stress chaperones, 9(4), PP: 344-349.

27. Kesavulu, M. M., Giri, R., Kameswara Rao, B., and Apparao, C., 2000. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in type 2 diabetics with microvascular complications. Diabetes Meta, 26(5), PP: 387-92.

28. Khaki, A., Khaki, A. A., Hajhosseini, L., Sadeghpour Golzar, F., and Ainehchi, N., 2014. The anti-oxidant effects of ginger and cinnamon on spermatogenesis dys-function of diabetes rats. Afr J Tradit Complement Altern Med, 11(4), PP: 1-8.

29. Khan, S., Naveed, A. K., Shabbir, F., Rajput, T. A., and Yousaf, M. J., 2014. Oxidative Stress in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. Journal of Rawalpindi Medical College, 18(1), PP: 29-31.

30. Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., and Núñez de Castro, I., 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. Clin Biochem, 32(8), PP: 595-603.

31. Mills, G. C., 1957. Hemoglobin catabolism I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. J Biol Chem, 229(1), PP: 189-97.

32. Rahbani-Nobar, M. E., Rahimi-Pour, A., and Rahbani- Nobar, M., 1999. Total antioxidant capacity, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in diabetic patients, Medical Journal of Islamic Academy of Sciences, 12(4), PP: 109–114.

33. Rains, J. L., and Jain, S. K., 2011. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. Free Radic Biol Med, 50(5), PP: 567- 575.

34. Rameshwar, V., Tushar, G., Rakesh, P., and Chetan, G., 2014. Rubus fruticosus (blackberry) use as an herbal medicine. Pharmacogn Rev, 8(16), PP: 101–104.

35. Sharma, R. K., and Agarwal, A., 1996. Role of reactive oxygen species in male infertility. Urology, 48(6), PP: 835-50.

36. Signorello, M. G., Viviani, G. L., and Armani, U., 2007. Homocysteine, reactive oxygen species and nitric oxide in type 2 diabetes mellitus. Thrombosis Res, 120(4), PP: 607-613.

37. Soydinc, S., Celik, A., and Demiryürek, S., 2007. The relationship between oxidative stress, nitric oxide, and coronary artery disease. Eur J Gen Med, 4(2), PP: 62-66.

38. Stefanut, M. N., Cata, A., Pop, R., Tanasie, C., Boc, D., Ienaşcu, I., and Ordodi, V., 2013. Anti-hyperglycemic effect of bilberry, blackberry and mulberry ultrasonic extracts on diabetic rats. Plant Foods Hum. Nutr, 68(4), PP: 378-84.

39. Stoner, G. D., Chen, T., Kresty, L. A., Aziz, R. M., Reinemann, T., and Nines, R., 2006. Protection against esophageal cancer in rodents with lyophilized berries: Potential mechanisms. Nutr Cancer, 54(1), PP: 33-46.

40. Valenzuela, A., and Guerra, R., 1985. Protective effect of the flavonoid silybin dihemisuccinate on the toxicity of phenylhydrazine on rat liver. Federation of European Biochemical Societies (FEBS Lett), 181(2), PP: 291-4.

41. Vinicius, D., Areuza, V., Altair, J. M., Decio, S. B., Rosana, A. M., and Teimi, M., 2007. Folic acid therapy reduces plasma homocysteine levels and improves plasma antioxidant capacity in hemodialysis patients. Nutrotion, 23(3), PP: 242-247.

42. Wein, S., Behm, N., Petersen, R. K., Kristiansen, K., and Wolffram, S., 2010. Quercetin enhances adiponectin secretion by a PPAR-gamma independent mechanism. Eur J Pharm Sci, 41(1), PP: 16-22.

43. Yoon, J., Cao, X., Zhou, Q., and Ma, L. Q., 2006. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. Sci Total Environ, 368(2-3), PP: 456-64.

44. Zia-Ul-Haq, M., Riaz, M., De Feo, V., Jaafar, H. Z., and Moga, M., 2014. Rubus Fruticosus L: Constituents, Biological Activities and Health Related Uses. Molecules; 28, 19(8), PP: 10998-1029.

Study of protective effects of raspberry fruit extract (*Rubus fruticosus* L.) on the antioxidant function in male diabetic rats induced with STZ

Amini N[1], Shiravi A[1], Mirazi N[2*], Hojati V[1], Abbasalipourkabir R[3]

[1] **Dept. of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, I.R. of Iran**

[2] **Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu- Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran**

[3] **Dept. of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, I.R. of Iran**

Abstract

The aim of this study was to Evaluation of protective effects of raspberry fruit extract (*Rubus fruticosus* L.) on the activity of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) enzymes and serum level of malondialdehyde (MDA) and Total antioxidant capacity (TAC) in male diabetic rats induced with streptozotocin. In this laboratory experimental study Diabetic rats were induced by diabetes induction by intra-peritoneal injection of STZ. Raspberry fruit was extracted with the usual method. Rats were randomly divided into five healthy (control), diabetic (DM) and DM + doses (50, 100, 200) mg / kg. After intraperitoneal injection of raspberry fruit extract for 4 weeks, the activity of superoxide dismutase enzymes (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) and serum level of malondialdehyde (MDA) and Total antioxidant capacity (TAC) was determined and the data were statically analyzed using ANOVA. SOD and GPx activity and Serum levels of TAC was significantly decreased in DM group compared to other groups ($P<0.05$). While after treatment, the activity of all two SOD and GPx enzymes and Serum levels of TAC were significantly increased ($P<0.05$). Serum levels of MDA was significantly increased in the DM group ($P<0.05$) and significantly decreased after treatment with the extract ($P<0.05$). Our results indicate that raspberry fruit extract with increased antioxidant activity and capacity, and inhibiting the production of MDA in the serum level of STZ-induced diabetes, induces improved antioxidant activity.

Key words: Raspberry extract, Antioxidant, Diabetes mellitus, Rat