

## اثرات حفاظتی عصاره میوه گیاه تمشک (*Rubus fruticosus* L.) بر عملکرد آنتی

### اکسیدانی در موش‌های صحرایی نر دیابتیک القا شده با استرپتوزوتوسین

نوشین امینی<sup>۱</sup>، عبدالحسین شیروی<sup>۱</sup>، ناصر میرازی<sup>۲\*</sup>، ویدا حجتی<sup>۱</sup> و رقیه عباسعلی پورکیبیره<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> ایران، دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، گروه زیست‌شناسی

<sup>۲</sup> ایران، همدان، دانشگاه بوعلی‌سینا، گروه زیست‌شناسی

<sup>۳</sup> ایران، همدان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، گروه بیوشیمی بالینی

تاریخ پذیرش: ۹۸/۸/۴

تاریخ دریافت: ۹۸/۴/۱۳

#### چکیده

هدف از این مطالعه، به ارزیابی اثرات حفاظتی عصاره میوه گیاه تمشک بر میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPx) و تغییرات سطح سرمی مالون دی‌آلدئید (MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌پردازد. 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 گلوکاتایون پراکسیداز و سطح سرمی مالون دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام تعیین شد و داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. فعالیت SOD و GPx و سطح سرمی TAC در گروه DM دچار کاهش معنادار نسبت به دیگر گروه‌ها شد ( $P < 0/05$ ). پس از درمان، فعالیت آنزیم‌های SOD و GPx و سطح سرمی TAC به شکل معناداری افزایش پیدا کرد ( $P < 0/05$ ). سطح سرمی MDA در گروه DM افزایش چشمگیری یافت ( $P < 0/05$ ). و پس از درمان با عصاره کاهش معنی‌داری پیدا کرد ( $P < 0/05$ ). عصاره میوه تمشک با افزایش فعالیت و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مهار تولید MDA در سطح سرم موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت با STZ، منجر به بهبود عملکرد فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: عصاره تمشک، آنتی‌اکسیدان، دیابت، موش صحرایی

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

#### مقدمه

دیابت منجر به بروز طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها مانند رتینوپاتی، نفروپاتی، نوروپاتی، نوروپاتی، بیماری‌های قلبی-عروقی و اختلالات جنسی و هورمونی می‌شود (۳۳).

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

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 می‌شود (۱۶). اثرات زیان‌آور 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

در این پژوهش تجربی ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از مؤسسه انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. این موش‌ها در قفس‌های ویژه‌ای نگهداری شده و دمای اتاق حیوانات حدود  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد 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 بر این، 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 با توجه 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-آلدریج آمریکا

هیدروژن و اکسیژن مولکولی، باعث جمع‌آوری رادیکال‌های مضر مذکور می‌شود (۵). آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز در طی روند خنثی کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن منجر به تبدیل پراکسید هیدروژن 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 آنتی‌اکسیدانی می‌تواند 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 E, C, A و اسید فولیک (۳۹)، کلرید معدنی و Zn, Cu, Al, Mn, Fe می‌باشد (۳۸). همچنین انواع استرول‌ها و کاروتنوئیدها از میوه و روغن دانه *R. fruticosus* استخراج شده است (۴۴ و ۴۳). تمشک سیاه یک منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است زیرا حاوی مقادیر زیاد فنل‌ها، فلاونول‌ها و آنتوسیانین‌ها است و به همین علت مهارکننده‌های رادیکال‌های آزاد هستند. مهمترین اثرات تمشک سیاه، خاصیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد سرطانی است (۴۳). با توجه به اینکه در حال حاضر مطالعات کافی در مورد اثرات کاهش میوه تمشک بر عوارض دیابت در عملکرد آنتی‌اکسیدانی انجام نشده است، هدف از این مطالعه بررسی اثرات حفاظتی عصاره میوه گیاه تمشک بر عملکرد آنتی‌اکسیدانی در موش‌های صحرایی نر دیابتیک القا شده با استرپتوزوتوسین می‌باشد.

## مواد و روشها

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<sup>21</sup> 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 آنزیم‌های SOD و GPx سطح سرمی TAC در گروه دیابتی دچار کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل شد ( $P < 0/001$ ). در بررسی فعالیت آنزیم SOD و GPx در گروه‌های دریافت کننده STZ + دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره میوه تمشک افزایش معناداری مشاهده شد ( $P < 0/001$ ). 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 ( $P < 0/001$ ). در حالیکه فعالیت آنزیم SOD، در گروه‌های دریافت کننده STZ + دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره میوه گیاه تمشک نسبت به گروه کنترل دچار کاهش معناداری شد ( $P < 0/001$ ،  $P < 0/01$ ،  $P < 0/05$ )، که این کاهش معنادار در فعالیت آنزیم GPx ( $P < 0/001$ ،  $P < 0/05$ ) و همچنین

(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 (۸ و ۱۱). 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) (۲ و ۳)، گروه دیابتی دریافت کننده داروی STZ (۵۵ mg/kg)، گروه دریافت کننده STZ + دوز پایین عصاره میوه تمشک (۵۰ mg/kg). گروه دریافت کننده STZ + دوز متوسط عصاره میوه تمشک (۱۰۰ mg/kg) و گروه دریافت کننده STZ + دوز بالای عصاره میوه تمشک (۲۰۰ mg/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

سطح سرمی TAC ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ) نیز مشاهده شد. دچار کاهش معناداری شد ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.001$ ). 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 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.001$ ).

جدول ۱- میانگین و خطای استاندارد میانگین میزان قند خون در موش‌های 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 دریافت استرپتوزوتوسین (میلی گرم بر دسی لیتر)
موش‌های سالم (کنترل)	۹۶±۱۳/۰۲	۱۰۱±۱۱/۴۹
موش‌های دریافت کننده استرپتوزوتوسین	۱۰۶±۱۴/۱۴	۴۲۲±۴۵/۴۸

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

گروه/ فاکتور	سوپراکسید دیسموتاز (واحد بین المللی بر میلی لیتر)	گلوکاتایون پراکسیداز (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. ( $P < 0.05$ )

## بحث

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 آنتی‌اکسیدان‌های سرم (SOD، GPx و TAC) و افزایش معنی‌داری در MDA شده است (۲۸) همخوانی دارد.

در مطالعه حاضر اثرات حفاظتی عصاره میوه گیاه تمشک (*Rubus fruticosus* L.) بر عملکرد آنتی‌اکسیدانی در موش‌های صحرایی نر دیابتیک القا شده با استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت و نتایج این مطالعه نشان داد که در طول انجام پژوهش فوق، تزریق

پراکسیداسیون لیپید، MDA و رادیکال‌های آزاد اکسید نیتروژن را کاهش و مقدار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) و سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اندوژن (SOD) و GPx در موش‌های دیابتی را افزایش دهد (۲۳). مطالعات انجام شده بر روی اثر عصاره دانه گیاه *Securigerera Securidaca* بر روی موش‌های دیابتی شده با STZ نشان داد که عصاره دانه این گیاه غنی از فلاونوئیدها است که باعث افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۶). در پژوهشی که بر روی تأثیرات آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی انجام شد، محقق برای تیمار رت‌های دیابتی شده با STZ، روزانه ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارچین و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم زنجبیل استفاده کرد و در نهایت مشاهده شد که سطح سرمی آنتی‌اکسیدان‌ها 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 دی‌آلدئید 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 می‌شود (۴). باتوجه به نتایج به دست آمده از مطالعات پیشین و پژوهش حاضر، می‌توان احتمال داد که فلاونوئیدهای موجود در میوه گیاه تمشک (۳۴)، سطح گلوکاتیون را در سلول افزایش می‌دهد (۱۹ و ۴۰). از آنجایی که گلوکاتیون برای فعالیت GPx ضروری است، افزایش گلوکاتیون سلولی، منجر به افزایش فعالیت GPx می‌شود (۱۸). همچنین باتوجه به ترکیبات پلی‌فنولیک موجود در میوه گیاه تمشک (۴۴)، احتمالاً با افزایش دادن ترشح آدیپونکتین (۴۲)، باعث القای تولید سایتوکین ضدالتهابی اینترلوکین ۱۰ و فعالیت TNF- $\alpha$  می‌گردد (۲۱). بنابراین IL-10 به طور مستقیم موجب افزایش سطح SOD و فعالیت TNF- $\alpha$  منجر به افزایش مقاومت انسولین و در

همچنین مطالعات متعددی نشان می‌دهند که تجویز STZ موجب افزایش تولید پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله SOD و GPx در موش‌های آزمایشگاهی می‌شود (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 رت‌های دیابتی، احتمالاً هایپرگلیسمی سبب افزایش از دست دهی یون  $\text{Cu}^{+2}$  می‌شود. در واقع گلیکوزیلاسیون Cu/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 سوستراری GPx است، غیرفعال کردن این آنزیم می‌تواند فعالیت GPx را کم کند (۳۲). از طرفی می‌توان احتمال داد که ابتلا به دیابت باعث افزایش هموسیستئین می‌شود (۲۶ و ۲۷) و از آنجایی که هموسیستئین تام ارتباط معنی‌داری با MDA و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام دارد، افزایش هموسیستئین منجر به اکسیداسیون LDL و تولید گونه‌های فعال اکسیژن شده و نهایتاً فعالیت آنتی‌اکسیدانی تام بدن را مهار می‌کند و منجر به افزایش در تولید MDA می‌شود (۳۶ و ۴۱).

یافته دیگر این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق دوزهای مختلف عصاره میوه تمشک به موش‌های دیابتی باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی 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

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 حمایت‌های 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.

نهایت افزایش در سطح آنتی‌اکسیدانی تام بدن می‌شود (۲۰)، ۱۲ و ۱۵). از طرفی احتمال دارد که گیاه تمشک با اثر هایپوگلاسمیک (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 میوه تمشک (۲۴) می‌توانند 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 دسترسی در قرارگرفتن به موقع کیت‌های تشخیصی و افزایش هزینه‌های مربوطه، سنجش تعدادی از سایتوکین‌های موثر در روند فعالیت‌های آنزیمی و بهبود بافتی صورت نپذیرفت.

### منابع

۱. پاک دشت، ز، نوروزی، پ، حجتی، و، و کلایان مقدم، ح، ۱۳۹۵. اثر پالماتین هیدروکلراید بر استرس اکسیداتیو در موش‌های 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. حسونند، و، یوسف وند، ن، و حاتمی، ک، ۱۳۹۵. اثر پیشگیرانه ترکیب سولفات روی و عصاره هیدروالکلی گل سیر بر دیابت القا شده با استرپتوزوتوسین (STZ) بر موش سفید صحرایی نر، مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، دوره ۳۰، شماره ۱، 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 پژوهش‌های 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، فیروززای، م، و شعبانی، م، ۱۳۸۶. اثر عصاره آبی دانه *Securigera Securidaca* بر فعالیت آنزیم کاتالاز گلوبول‌های قرمز در موش‌های صحرایی دیابتی تیپ ۱ (عصاره *Securigera Securidaca* و فعالیت کاتالاز)، مجله دانشگاه علوم پزشکی قم، دوره ۱، شماره ۴، صفحات ۹-۱۴.

- درون بطنی مغزی استرپتوزوتوسین در موش‌های 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، شماره ۱،  
صفحات ۸-۱.
۱۲. کاندرا، آ.، مهدی، ع.، رضوی، و.، سینق، ر.، احمد، س.، و میشر،  
ل.، ۱۳۸۳. اثر عوامل گیاهی کاهنده قند خون بر آنزیم‌های آنتی  
اکسیدان و یون‌های فلزی در موش‌های 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.
۱۴. 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.
۱۵. 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.
۱۶. Canivell, S., and Gomis, R., 2014. Diagnosis and classification of autoimmune diabetes mellitus. *Autoimmun Rev*, 13(4-5), PP: 403-7.
۱۷. 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.
۱۸. 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.
۱۹. 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.
۲۰. 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.
۲۱. Fantuzzi, G., 2005. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 115(5), PP: 911-9.
۲۲. 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.
۲۳. 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
۷. سپاهی، م.، حاجی نژاد، م.، میری، ح.، و جهانتیغ، م.، ۱۳۹۵. اثر پودر میوه نارس گیاه موموردیکا 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 موش‌های *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

- 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. *Nutrition*, 23(3), PP: 242-247.
  42. Wein, S., Behm, N., Petersen, R. K., Kristiansen, K., and Wolfram, 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<sup>1</sup>, Shiravi A<sup>1</sup>, Mirazi N<sup>2\*</sup>, Hojati V<sup>1</sup>, Abbasalipourkabir R<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dept. of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, I.R. of Iran

<sup>2</sup> Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu- Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran

<sup>3</sup> 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 intraperitoneal 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