

اثر مهاری عصاره برگ درخت گلابی وحشی (تلکا) بر پراکسیداسیون لبیدها و پروتئین ها در رت های هیپر گلیسیمیک

مصطفی لکزایی (MSc)^۱، مهدی پورامیر (PhD)^{۲*}، ابراهیم ذبیحی (PhD)^۳، علی اکبر مقدم نیا (PhD)^۴

- ۱- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بابل
- ۲- مرکز تحقیقات بیولوژی سلوی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بابل
- ۳- گروه فارماکولوژی و فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بابل

دریافت: ۹۱/۵/۱۰، اصلاح: ۹۱/۶/۸، پذیرش: ۹۱/۸/۱۷

خلاصه

سابقه و هدف: هیپر گلیسیمی و استرس اکسیداتیو در مبتلایان به دیابت یافت می شود. عصاره برگ گیاه تلکا دارای خصوصیات بیولوژیک فراوانی نظیر آنتی اکسیدان، ضد لازو، ضد باکتری و ضد قارچ در محیط آزمایشگاه می باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر مهاری عصاره برگ درخت تلکا بر پراکسیداسیون لبیدها و پروتئین ها در رت های هیپر گلیسیمیک می باشد.

مواد و روشهای: در این مطالعه تجربی ۱۲۰ سر رت بالغ نر نژاد ویستار با وزن ۱۵۰ تا ۲۰۰ گرم بطور تصادفی در گروههای کنترل طبیعی، کنترل عصاره (۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، هیپر گلیسیمیک و هیپر گلیسیمیک + عصاره (۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و هر گروه به سه زیر گروه زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت تقسیم شدند. طرفیت آنتی اکسیدانی تام، مواد واکنشگر با تیوباریتوریک اسید (TBARS) و میزان کربونیل سرم و بافتها (کبد کلیه و پانکراس) و گلوكز سرم به روش اسپکتروفوتومتری اندازه گیری و مقایسه شد.

یافته ها: پیش درمانی با عصاره تلکا مانع افزایش گلوكز سرم پس از مسمومیت با آلوکسان در همه زیر گروههای زمانی شد و آنتی اکسیدان تام کرد در ۷۲ ساعت را افزایش داد. میانگین آنتی اکسیدان تام کرد در گروه آلوکسان + عصاره 83.1 ± 14.7 در مقابل 42.8 ± 2.5 در گروه آلوکسان بود ($P = 0.045$). تجویز عصاره TBARS سرم و بافتها و کربونیل سرم را کاهش داد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که عصاره متابولی برگ درخت گلابی وحشی (تلکا) موجب کاهش سطوح گلوكز سرم و برخی بافت ها و همچنین موجب افزایش سطوح شاخص FRAP در برخی بافت ها می شود.

واژه های کلیدی: برگ درخت تلکا، اکسیداسیون پروتئین، پراکسیداسیون لبید، کربونیل، آلوکسان، افزایش قند خون.

مقدمه

اکسیداسیون پروتئین ها شود (۱). اکسیداسیون لبیدهای دارای چند پیوند دوگانه منجر به افزایش مواد واکنشگر با تیوباریتوریک اسید (TBARS) می گردد که ممکن است در بیماران مبتلا به عدم تحمل گلوكز و نیز در افرادی که قند خون را بطور مناسب کنترل نمی کنند، افزایش یابد (۲)، در این افراد آنتی اکسیدانهای بافتی و سرمی کاهش می یابد (۳). در خرگوشهای هیپر گلیسیمیک TBARS بافت کبدی افزایش یافته و در رت های دیابتی افزایش TBARS کبد و پانکراس گزارش شده است (۴،۵). در بسیاری از مطالعات افزایش چشمگیری در استرس اکسیداتیو مبتلایان به دیابت نوع ۱ و ۲ گزارش شده است (۶،۷). آنتی اکسیدان ها شامل انواع ویتامین ها، مواد معدنی مانند سلنیم، آنزیم ها (کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، سوپر اکسید دیسموتاز و ...) و انواع مواد

درخت گلابی وحشی که به زبان مازندرانی به آن تلکا می گویند با نام علمی *Pyrus bioassieriana* Buhse بومی شمال ایران است. برگهای این درخت دارای مقدار زیادی آربوتین (هیدروکینینون - β -D-گلیکوپیرانوزید) می باشد (۸). آربوتین خواص آنتی اکسیدانی، باکتریوسیدال و ضد قارچی دارد و سنتز ملانین را کاهش می دهد (۹). در مطالعات قبلی با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع در فشار زیاد (HPLC) میزان آربوتین در برگهای درخت گلابی وحشی، 12.6% وزن خشک برگ اندازه گیری شد (۱۰). رادیکالهای آزاد و مواد اکسیدان، اکسیداسیون پروتئین ها را افزایش داده و گروههای فعل کربونیل که شاخص اکسیداسیون پروتئین ها در سرم و بافتها است، ایجاد می شود (۱۱). استرس اکسیداتیو در بیماران هیپر گلیسیمیک افزایش یافته و ممکن است منجر به

□ این مقاله حاصل پایان نامه مصطفی لکزایی، دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی و طرح تحقیقاتی به شماره ۷۸۱۱۵ دانشگاه علوم پزشکی بابل می باشد.
* مسئول مقاله:

دقیقه و ۲۵۰۰ دور در دقیقه)، مایع رویی جدا شده و جذب نوری آن در طول موج ۵۳۲nm

- **سنجش کربونیل:** جذب نوری محصول هیدرازوں ناشی از واکنش بین ۴۰-۴۲ دی نیتروفنیل هیدرازین و کربونیل ها به روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۴۰۵nm اندازه گیری شد (۵). غلظت پروتئین با استفاده از استاندارد آلبومین سرم گاو (BSA، سیگما) و در طول موج ۲۸۰nm محاسبه شد و میزان کربونیل به صورت پروتئین nmol/mg گزارش گردید.

- **اندازه گیری گلوکز سوم:** با روش آزمایشیک استاندارد با استفاده از آنزیم گلوکز اکسیداز موجود در کیت آزمایشگاهی (پارس آزمون) گلوکز سرم اندازه گیری شد. داده ها با استفاده از آزمونهای آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA تست Tukey تجزیه و تحلیل و $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

کاهش قابل ملاحظه ای در گلوکز سرم حیوانات هیبرگلیسیمیک دریافت گشته عصاره (گروه IV) در مقایسه با گروه هیبرگلیسیمیک (گروه III) در زمانهای ۲۴ و ۴۸ ساعت ($p=0.0001$) و ۷۲ ساعت ($p=0.0421$) پس از تزریق آلوکسان مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱. میانگین شاخص گلوکز بر حسب mg/dl در Rat های پیش درمانی شده با عصاره برگ گیاه تلکا، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق آلوکسان. داده ها به صورت SEM ± متوجه حاصل از ۱۰ رت در هر زمان می باشد

زمان	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	گروه
کنترل آب	۹۰/۶۰±۳/۲۹	۹۵±۳/۰۴	۸۹/۲۰±۵/۴۸	
آلوکسان	۲۴۱/۳۰±۲۶/۶۷	۱۹۴/۹۰±۱۴/۵۳	۱۶۳/۱۰±۴/۲۳	(۱۰۰mg/kg)
عصاره	۹۱/۳۰±۵/۴۳	۸۹/۸۰±۴/۸۴	۹۴/۵۰±۵/۵۱	(۵۰۰mg/kg)
آلوکسان+عصاره	^b ۱۸۴/۴۰±۱۶/۸۳	^a ۱۱۸/۸۰±۵/۵۱	^a ۱۲۴/۶۰±۷/۵۲	

P=۰.۰۰۰۱ در مقایسه با گروه آلوکسان
P=۰.۰۴۲ در مقایسه با گروه آلوکسان

افزایش معنی دار در میزان آنتی اکسیدان تام کبد در گروه IV در مقایسه با گروه III در ۷۲ ساعت پس از تزریق آلوکسان دیده شد ($p=0.045$) (جدول ۲). کاهش معنی دار در TBARS گروه IV در مقایسه با گروه III در ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از تزریق آلوکسان (به ترتیب $p=0.01$ و $p=0.006$) مشاهده شد (جدول ۳). TBARS کبد در گروه IV در مقایسه با گروه III در زیر گروه های ۴۸ ساعت ($p=0.018$) و ۷۲ ساعت ($p=0.0001$) کاهش یافت. غلظت TBARS کلیه و پانکراس نیز در گروه هیبرگلیسیمی دریافت گشته عصاره کاهش یافت (جدول ۳). غلظت کربونیل سرم در گروه IV در مقایسه با گروه III در زیر گروه های ۴۸ و ۷۲ ساعت کاهش یافت (به ترتیب $p=0.005$ و $p=0.04$) (جدول ۴).

مؤثره استخراج شده از گیاهان دارویی است (۱۳). این آنتی اکسیدانها می توانند قبل از تهاجم رادیکالهای آزاد و مواد اکسیدان به بافتها، آنها را غیر فعال کنند یا سرعت ترمیم بافتی های آسیب دیده را افزایش دهند. از آجاییکه تاکنون تحقیقی در مورد اثر عصاره برگ درخت تلکا (PbBLE) در کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و پروتئین ها در مدل حیوانی هیبرگلیسیمیک گزارش نشده است. این مطالعه به منظور بررسی عصاره برگ تلکا بر پراکسیداسیون لیپیدها و پروتئین ها در invitivo طراحی و انجام شد.

مواد و روشها

تهیه عصاره: برگهای درخت تلکا از منطقه بندپی بابل در خرداد سال ۱۳۸۸ جمع آوری شد و به تأیید مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران رسید. برگهای تازه دور از نور مستقیم آفتاب خشک شده و با آسیاب برقی پودر گردید. پودر (۵۰۰g) با اتانول (۶۳%) (V/V) به مدت ۳۶ ساعت در rotary evaporator (IKA- Week) در زیر هود عصاره گیری انجام شد (۳).

حیوانات آزمایشگاهی: در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی از موشهای سفید آزمایشگاهی (Rat) نر نژاد ویستار با وزن ۱۵۰-۲۰۰ گرم، خریداری شده از انسنتیوپاستور ایران استفاده شد. حیوانات غذای استاندارد و آب دریافت کردند.

این مطالعه با مجوز کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بابل و با رعایت اصول پذیرفته شده کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. ۱۲۰ سر رت به چهار گروه و هر گروه به سه گروه زمانی (۴۸، ۲۴ و ۷۲ ساعت) دارای ۱۰ سر رت به صورت تصادفی تقسیم شدند که به مدت چهار روز مورد آزمایش قرار گرفتند: گروههای I و III آب مقدار (۱۰ml/kg/day) و گروههای II و IV عصاره (۵۰۰mg/kg/day) از راه خوراکی دریافت کردند. یکساعت پس از آخرین مرحله تجویز آب یا عصاره، آلوکسان (Sigma) تازه تهیه شده به گروههای III و IV از راه داخل صفاتی تزریق شد. در انتهای هر دوره زمانی (۴۸، ۲۴ یا ۷۲ ساعت پس از تزریق آلوکسان)، موش ها به مدت ۱۲ ساعت از غذا محروم شده و پس از خونگیری سرممهای جدا شده در دمای ۷۰-۵۰°C نگهداری شد. کبد، پانکراس و کلیه ها جدا شده با سالین سرد شستشو گردید. ۵۰۰mg از هر بافت در محلول سالین نرمال هموژنیزه گردید. هموژنه به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰g و دمای ۴۰°C سانتریفیوژ گردید (32R) (Het tich universal) و از مایع رویی برای سنجش های آزمایشگاهی استفاده شد.

- **اندازه گیری میزان آنتی اکسیدانی تام:** میزان آنتی اکسیدانی تام با روش FRAP (ferric reducing antioxidant power) (۱۴). محلول استاندارد FeSO4 (1mM) بود و نتایج به صورت غلظت آنتی اکسیدان معادل FeSO4 میانگین آنتی اکسیدانی تام از TBA (تیوباربیتوريک

- **سنجهش TBARS:** در این روش ۲ml از TBA (تیوباربیتوريک اسید، شرکت مرک (TCA) (تری کلرواستیک اسید - شرکت سیگما) (W/V) و اسید کلریدریک (۰/۲۵ مولار) به ۱ml از هر نمونه اضافه شده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۰۰°C قرار گرفت. پس از سانتریفیوژ (۱۰

جدول ۲. میانگین شاخص انتی اکسپیدان توتال (میکرومولار) در Rat های بیش درمانی شده با عصاره برق گیاه تکی، ۵۴ و ۷۳ ساعت پس از تزریق الوكسان. داده ها به صورت \pm SEM متوسط حاصل از ۱۰ رتر در هر زمان می باشد.

افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در کبد در حیوانات آزمایشگاهی هیپرگلیسیمیک ناشی از آلوکسان گزارش شده است (۱۸و۱۹). لیپولیز در بافت چربی و افزایش غلظت اسیدهای چرب در موارد کمبود انسولین مشاهده می شود، افزایش غلظت اسیدهای چرب بویژه اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه ممکن است مولکولهای لازم برای افزایش پراکسیداسیون لیپیدها را فراهم کند (۲۰).

آلوکسان با افزایش انواع اکسیژن های واکنشگر باعث تخرب سلولهای β و دیابت می شود. احیاء آلوکسان به diluric acid و اتواکسیداسیون آن موجب تولید رادیکالهای سوپر اکسید، هیدروکسیل و پراکسیدهیدروژن می شود (۲۱). تولید مقدار زیادی ROS باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و اکسیداسیون پروتئین ها در سرم و بافتها می گردد (۲۲). این مطالعه ثابت کرد که آلوکسان در گروه های دیابتی سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در پانکراس می شود که این نتایج با نتایج تحقیق حاضر موافق است. یکی از مکانیسم های تخرب جزایر پانکراس توسط آلوکسان تولید ROS می باشد که این رادیکال های آزاد سبب حمله به لیپیدها و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی می شوند. پیش درمانی رت های هیپرگلیسیمیک با عصاره برگ تلکا موجب کاهش در غلظت TBARS سرم و بافتها شد ولی کربونیل فقط در سرم کاهش یافت. آنتی اکسیدانها نقش اصلی در صید و خشی کردن رادیکالهای آزاد و اکسیژنهای طبیعی هستند و تعدادی از گیاهان دارویی که در درمان منابع آنتی اکسیدانهای طبیعی هستند و تعدادی از گیاهان دارویی که در درمان دیابت به کار می روند دارای خواص آنتی اکسیدانی قوی می باشند. برگ تلکا دارای مقدار زیادی آربوتین به عنوان مولکولی آنتی اکسیدانی می باشد (۲۳). کاهش در غلظت TBARS و کربونیل ممکن است ناشی از افزایش آنتی اکسیدان تام در سرم حیوانات هیپرگلیسیمی دریافت کننده عصاره باشد.

نتایج تحقیق حاضر که برای اولین بار گزارش شده است نشان داد که عصاره برگ درخت گلابی وحشی توانایی کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و پروتئین ها در سرم و بافتها رت های هیپرگلیسیمیک را دارد و ممکن است در پیشگیری دیابت و درمان عوارض ناشی از آن سودمند باشد. کاربرد بالینی این عصاره و مواد مؤثره آن در افراد دیابتی نیاز به تحقیقات آزمایشگاهی و بالینی بیشتر دارد.

تقدیر و تشکر

بدینویسیله از مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی- مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بابل برای حمایت مالی از این طرح و از آقای شیخ زاده کارشناس مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بابل تشکر و قدردانی می شود.

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر عصاره برگ درخت تلکا فعالیت پراکسیداسیون لیپیدی و اکسیداسیون پروتئین ناشی از آلوکسان را در رت های هیپرگلیسیمیک کاهش داد. به نظر می رسد که این عصاره با دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی و بالا بردن شاخص آنتی اکسیدانهای توتال سرم (FRAP) در رت های پیش درمانی شده با ایجاد استرس اکسیداتیو توسط آلوکسان مقابله نموده و تخرب سلولها توسط آلوکسان را کاهش می دهد. در این مطالعه عصاره برگ گیاه تلکا در ۴۸ و ۲۴ ساعت بطور معنی دار باعث کاهش گلوکز سرم در رت هایی که آلوکسان به همراه عصاره دریافت کرده بودند، شد. خود عصاره هیچ تغییر معنی داری نسبت به گروه کنترل که فقط آب مصرف کرده بود، نداشت. میزان قند خون در گروه های آلوکسانی با گذشت زمان بیشتر شد که این امر نشان دهنده تخرب بیشتر جزایر توسط آلوکسان می باشد. همچنین در گروه هایی که آلوکسان به همراه عصاره مصرف کرده بودند با گذشت زمان میزان گلوکز افزایش یافت که این مسئله نیز بیانگر از بین رفتن سد محافظتی عصاره در مقابل آلوکسان است. این نتیجه نشان داد که عصاره در رت های نرمال در دوره زمانی ۷۲ ساعته قند خون را کاهش نمی دهد.

عصاره تعدادی از میوه ها و برگ ها از مرگ سلولهای β پانکراس جلوگیری کرده و تکثیر سلولهای آندوکرین پانکراس یا ترمیم سلولهای β را افزایش می دهد. همچنین ورود گلوکز به داخل کبد و ترشح انسولین را زیاد کرده و غلظت گلوکز در خون افراد دیابتی را کاهش می دهد (۱۶). از مکانیسم های عمل احتمالی این گیاه در کاهش قند خون، اثر بر جذب گلوکز می باشد. ترکیبیهای آنتی اکسیدان گیاهی جذب گلوکز را در روده کاهش می دهد. این اثر احتمالاً با مهار آنزیمهای گوارشی نظیر آلفا آمیلاز و آلفا گلوکوزیداز که در هیدرولیز کربوهیدرات شرکت دارند، مهار انتقال گلوکز از غشاء چین خورده روده کوچک و به تأخیر انداختن تخلیه محتویات معده به روده کوچک صورت می گیرد. از طرفی آنتی اکسیدانهای گیاهی اثر شبه انسولینی نیز دارند و جذب گلوکز را در بافتها محیطی افزایش می دهد. از مکانیسم عمل احتمالی دیگر این گیاه اثر بر سلولهای بتا و ترمیم و بازسازی سلولهای آسیب دیده و تحریک این سلولها به ترشح انسولین است (۱۷) که مطالعات بیشتری برای اثبات آن مورد نیاز است. در مطالعه حاضر کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در سرم و بافتها گروه "هیپرگلیسیمیک + عصاره" مشاهده شد. رادیکالهای آزاد می توانند ناشی از اتواکسیداسیون گلوکز در شرایط هیپرگلیسیمیک باشد. افزایش غلظت TBARS در گروه هیپرگلیسیمیک در مقایسه با گروه کنترل نرمال نشانگر افزایش تولید رادیکالهای آزاد و کاهش دفاع آنتی اکسیدانی است.

Preventive Effect of Pyrus Biossieriana Buhse Leaves Extract on Lipid and Protein Peroxidation in Hyperglycemic Rats

M. Lakzaei (MSc)¹, M. Pouramir (PhD)^{2*}, E. Zabihi (PhD)³, A.A. Moghadamnia (PhD)³

1. Student Research Committee, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

2. Cellular & Molecular Biology Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

3. Department of Pharmacology & Physiology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

J Babol Univ Med Sci; 15(2); Mar 2013; pp: 25-30

Received: Jul 31st 2012, Revised: Aug 29th 2012, Accepted: Nov 7th 2012.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Hyperglycemia and oxidative stress are found in patients with diabetes. Pyrus boissieriana Buhse leaves extract has many biological activities such as antioxidant, antilarva, antibacterial and antifungal in vitro. The aim of this study was to evaluate the preventive effect of Pyrus biossieriana Buhse leaves extract (PbBLE) on lipid and protein peroxidation in hyperglycemic rats.

METHODS: In this experimental study 120 adult male rats of Wistar strain, weighing 150 to 200g were randomized into normal control, extract control (500mg/kg), hyperglycemic and hyperglycemic+ extract (500mg/kg) groups. Each group divided into 3 subgroups (24, 48, 72h). Serum and tissues (liver, kidney, pancreas), total antioxidant capacity, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), carbonyl content and serum glucose measured by spectrophotometry and compared.

FINDINGS: Pretreatment with Pyrus boissieriana Buhse leaves extract exhibited a significant reduction in elevated serum glucose induced by alloxan in all subgroups. The extract increases total antioxidant after 72h. Mean of liver total antioxidant was 831 ± 147 in alloxan+ extract group vs. 428 ± 25 in alloxan group ($p=0.045$). Administration of Pyrus boissieriana Buhse leaves extract decreased serum, tissues and serum carbonyl.

CONCLUSION: The results showed that Pyrus boissieriana Buhse leaves extract caused a decrease in serum glucose level, TBARS, some tissues and serum carbonyl, also it caused an increase in ferric reducing antioxidant power (FRAP) levels in some tissues.

KEY WORDS: *Pyrus biossieriana Buhse, Protein oxidation, Lipid peroxidation, Carbonyl, Alloxan, Hyperglycemia.*

*Corresponding Author;

Address: Department of Biochemistry, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

Tel: +98 111 2199591-5

E-mail: pouramir@yahoo.com

References

- 1.Azadbakht M, Ramezani M, Marston A, Hostettmann K, Jahromi Moghaddam M. Biological activity of leaf extract and phenolglycoside arbutin of *Pyrus boissieriana* Buhse. *J Med Plants* 2004;3(10): 9-14.
- 2.Petkou D, Diamantidis G, Vasilakakis M. Arbutin oxidation by pear (*Pyrus communis* L.) peroxidases. *Plant Sci* 2002;162:115-9.
- 3.Shahaboddin ME, Pouramir M, Moghadamnia AA, Parsian H, Lakzaei M, Mir H. *Pyrus biossieriana* Buhse leaf extract: an antioxidant, antihyperglycaemic and antihyperlipidemic agent. *Food Chem* 2011;126 (4):1730-3.
- 4.Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta* 2003;392(1-2): 23-38.
- 5.Levine RL, Williams JA, Stadtman ER, Shacter E. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 1994;233:346-57.
- 6.Telci A, Cakatay U, Kayali R, et al. Oxidative protein damage in plasma of type 2 diabetic patients. *Horm Metab Res* 2000;32(1):40-3.
- 7.Trevisan M, Browne R, Ram M, et al. Correlates of markers of oxidative status in the general population. *Am J Epidemiol* 2001;154(4):348-56.
- 8.Duzguner V, Kaya S. Effect of zinc on the lipid peroxidation and the antioxidant defense systems of the alloxan-induced diabetic rabbits. *Free Radic Biol Med* 2007;42(10):1481-6.
- 9.Hamden K, Carreau S, Ellouz F, Masmoudi H, El FA. Protective effect of 17beta-estradiol on oxidative stress and liver dysfunction in aged male rats. *J Physiol Biochem* 2007;63(3):195-201.
- 10.Sepici-Dincel A, Acikgoz S, Cevik C, Sengelen M, Yesilada E. Effects of in vivo antioxidant enzyme activities of myrtle oil in normoglycaemic and alloxan diabetic rabbits. *J Ethnopharmacol* 2007;110(3):498-503.
- 11.Hamden K, Boujbiha MA, Masmoudi H, Ayadi FM, Jamoussi K, Elfeki A. Combined vitamins (C and E) and insulin improve oxidative stress and pancreatic and hepatic injury in alloxan diabetic rats, *Biomed Pharmacother*. 63 2009;63(2):95-9.
- 12.Menon V, Ram M, Dorn J, et al. Oxidative stress and glucose levels in a population-based sample. *Diabet Med* 2004;21(12):1346-52.
- 13.Ratnam DV, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK, Kumar MN. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *J Control Release* 2006;113(3):189-207.
- 14.Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996;239(1):70-6.
- 15.Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978;52:302-10.
- 16.Ahmed I, Adeghate E, Sharma AK, Pallot DJ, Singh J. Effects of *Momordica charantia* fruit juice on islet morphology in the pancreas of the streptozotocin-diabetic rat. *Diabetes Res Clin Pract* 1998;40(3):145-51.
- 17.Gallagher AM, Flatt PR, Duffy G, Abdel-Wahab YHA. The effects of traditional antidiabetic plants on in vitro glucose diffusion. *Nutr Res* 2003;23(3):413-24.
- 18.Ananthan R, Latha M, Ramkumar KM, Pari L, Baskar C, Narmatha Bai V. Modulatory effects of *Gymnema montanum* leaf extract on alloxan-induced oxidative stress in Wistar rats. *Nutrition* 2004;20(3):280-5.
- 19.Feillet-Coudray C, Rock E, Coudray C, et al. Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental diabetes. *Clin Chim Acta* 1999;284(1):31-43.
- 20.Briones ER, Mao SJ, Palumbo PJ, O'Fallon WM, Chenoweth W, Kottke BA. Analysis of plasma lipids and apolipoproteins in insulin-dependent and noninsulin-dependent diabetics. *Metabolism* 1984;33(1):42-9.
- 21.Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 2008;51(2):216-26.
- 22.Memisogullari R, Bakan E. Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2004;18(4):193-7.