مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هجدهم، شماره ۳، اسفند ۱۳۹۴، صفحه ۶۱-۵۴

اثرات نانوذرات اکسید مس و عصاره هیدروالکلی زرشک، خاکشی و سیلی مارین بر روی آنزیم های کاتالاز، مالون دی آلدئید و گلوتاتیون پراکسیداز در موش های نر دیابتی

محمد محمدی فرد (MSc)*[۱]، حبیب اله ناظم (PhD)[۱]، جواد متقی پیشه (MSc)[۲]

۱-گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور تفت، یزد
۲-گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان

دریافت: ۹۴/۵/۱۲، اصلاح: ۹۴/۷/۶، پذیرش: ۹۴/۱۰/۱۶

خلاصه

سابقه و هدف: آنتی اکسیدانها می توانند باعث کاهش بروز اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد در طولانی مدت گردند. با توجه به اهمیت تشدید استرس اکسیداتیو در بروز آسیب های بافتی توسط نانوذرات و خاصیت عصاره های گیاهی بر کاهش این شاخص، این مطالعه به منظور اثرات نانوذرات اکسید مس و عصاره هیدروالکلی زرشک، خاکشی و سیلی مارین بر روی آنزیم های کاتالاز، مالون دی آلدئید و گلوتاتیون پراکسیداز در موش های نر دیابت انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۵۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار (۳۵۰gr- ۲۵۰) در ۱۰ گروه ۵ تایی: کنترل سالم، سالم دریافت کننده نانوذره، سالم دریافت کننده عصاره زرشک، سیلی مارین و خاکشی (به طور جداگانه)، کنترل دیابتی، دیابتی دریافت کننده نانوذرات مس، گروه های دیابتی دریافت کننده عصاره زرشک، سیلی مارین و خاکشی (به طور جداگانه) استفاده شد. به منظور تشکیل گروه های دیابتی، نیمی از موش‌ها با داروی آلوکسان با دوز ۱۲۰ mg/kg دیابتی شدند. به گروههای مختلف کنترل سالم و دیابتی عصاره های گیاهان دارویی سیلی مارین، زرشک و خاکشی و همچنین نانوذرات اکسید مس به مدت ۳۰ روز به طور جداگانه و روزانه ۰/۵ سی سی به صورت داخل صفاقی (IP) تزریق شد. سپس موشها با کتامین بیهوش شدند و بافت کبد آنها خارج شد و آنزیم های کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و مالون دی آلدئید بافتی اندازه گیری و مورد مقایسه قرار گرفت.

یافته‌ها: در گروه های دیابتی که با نانوذرات مس تیمار شده بودند، افزایش معنی دار در غلظت مالون دی آلدئید از (۴/۷±۰/۴۴۷ به ۵/۰۵±۰/۴۰۵) مشاهده شد و کاهش معنی دار در میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز از (۳۶/۸±۱/۴۸ به ۳۶/۲±۱/۴۸۳۲) و همچنین گلوتاتیون پراکسیداز از (۷۵/۴±۳/۹۱۱۵ به ۷۲/۴±۴/۳۳۶) مشاهده شد. عصاره سیلی مارین در کاهش اثرات نانوذرات نسبت به زرشک و خاکشی در تمام گروه ها موثرتر عمل نمود.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که برای کاهش اثرات استرس اکسیداتیو نانوذرات اکسید مس، از عصاره این گیاهان دارویی می توان استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات اکسید مس، عصاره های گیاهی، موش دیابتی، کاتالاز، مالون دی آلدئید، گلوتاتیون پراکسیداز.

مقدمه

نانوتکنولوژی، توانمندی تولید مواد، ابزار ها و سیستم‌های جدید با در دست گرفتن کنترل در سطح مولکولی و اتمی و استفاده از خواص آنها در مقیاس نانو می باشد. وقتی مواد در مقیاس نانو تبدیل شوند در خواص شیمیایی، بیولوژیکی و فعالیت‌های کاتالیتیکی آنها تغییراتی ایجاد می شود (۱). گیاه خاکشی Descurainia sophia از خانواده Brassicaceae می باشد. دانه خاکشی حاوی اسیدهای چرب پالمیتیک، لینولنیک، اولئیک و استئاریک است و به طور عمده به عنوان ملین و کاهش‌دهنده دمای بدن به صورت مخلوط با کمی آب سرد مورد استفاده قرار می‌گیرد. در طب سنتی خاکشی به عنوان اشتهاآور، مقوی معده، ضدتب و ملین و در درمان سوء هاضمه مورد مصرف قرار می‌گرفته است (۲). زرشک Berberis vulgaris از خانواده Berberidaceae می باشد. در این گیاه آلکالوئیدهای بربرین، اکسی اکانتین، برامین وجود دارد. مقدار آلکالوئیدها در پوست ریشه زرشک بیشتر از قسمت های دیگر این گیاه است (۳). بخش‌های درمانی خار مریم Silybum marianum که ماده موثر درمانی آن سیلی‌مارین است در کاهش کلسترول خون سودمند است. برگ‌های این گیاه حاوی ماده تلخ و مقوی است و برای درمان کاهش اشتها و نارسایی گوارشی مصرف می‌شود ماده‌ای به نام گلوتاتیون در این گیاه نقش عمده‌ای در سم زدایی کبد ایفا می‌کند. سیلی‌مارین در واقع از گروهی از عناصر به نام فلاون لیگنان تشکیل شده است. شکل جدیدی از خار مریم به نام کمپلکس سیلمارین-فسفوتیدیل کولین نیز وجود دارد. این نوع ماده دارویی بهتر از خارمریم استاندارد جذب بدن می‌شود. در آزمایش‌های بالینی این داروی جدید به تنهایی بهتر از سیلی‌مارین در درمان اختلالات کبد عمل کرده است (۶-۴). مطالعات نشان داده است که اثرات آنتی اکسیدانی زرشک روی هپاتوسیت‌ها شبیه سیلی مارین

▣ این مقاله حاصل پایان نامه محمد محمدی فرد دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی دانشگاه پیام نور تفت می باشد.

* مسئول مقاله: محمد محمدی فرد
آدرس: یزد، دانشگاه پیام نور تفت، گروه زیست شناسی. تلفن: ۷-۳۲۶۳۲۸۰۰-۰۳۵
E-mail: Mohamadm47@gmail.com

می‌باشد که سیلی مارین به عنوان ماده محافظت کننده از سلول های کبدی شناخته شده است (۷). دیابت شامل گروهی از اختلالات متابولیک است که با هیپرگلیسمی خود را نشان می دهد (۸). مطالعه ای نشان داد که گیاه زرشک اثرات مفیدی بر روی کبد رت های مبتلا به دیابت دارد و احتمالا برای پیشگیری از عوارض ناشی از دیابت موثر است و باعث تنظیم هموستاز قند از طریق کاهش تولید قند و کاهش استرس اکسیداتیو می شود (۹). همچنین در مطالعه Lee و همکارانش نشان داده شد که بربرین موجود در زرشک می تواند لیپوژنز را کاهش دهد و اثرات مهاری بر روی پراکسیداسیون لیپید دارد (۱۰).

مطالعات بسیاری پیرامون اثرات سیلی مارین در محیط کشت و بر انواع سلولها صورت گرفته است که دلالت براثرات آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی این عصاره گیاهی دارد (۱۱). آنتی اکسیدان‌هایی مانند سیلی مارین و کوارستین با ثبات بخشیدن به گانگلیوزیدهای غشایی، باعث تداوم غشاهای زیستی و افزایش توان حیاتی سلولها شده اند. از طرفی عوامل کارسینوژن مانند آرسنیک، باعث ایجاد بدخیمی در سلولهای پوست و القای استرس اکسیداتیو شده، که سیلی‌مارین تا حدودی با هر دو پدیده مقابله می‌کند (۱۲). مطالعه Soto و همکاران بر روی اثر سیلی مارین در رابطه با عملکرد پانکراس در حیوانات دیابتی نشان داد که این فلاوونولیگنانند در جهت محافظت بافت پانکراس در برابر عوامل آسیب رسان عمل نموده و از این طریق اثرات هیپوگلیسمیک خود را اعمال می کند (۱۳). به علاوه، فلاونوئیدهایی نظیر سیلی مارین مشتق از گیاه ماریتیغال (خارمریم) می توانند از طریق تعدیل فعالیت آنزیم های کبدی مسئول متابولیسم کربوهیدرات‌ها از جمله کاهش فعالیت آنزیم فسفریلاز کبدی و افزایش فعالیت گلوکوکینازو گلیکوژن سنتاز در جهت کاهش قند خون و برگشت وزن به حد طبیعی عمل نمایند (۱۴). لذا این مطالعه به منظور بررسی اثرات نانوذرات اکسید مس و عصاره هیدروالکلی زرشک، خاکشی و سیلی مارین بر روی آنزیم های کاتالاز، مالون دی آلدئید و گلوتاتیون پراکسیداز در موش های نر دیابتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد و دستگاه‌ها: مواد مورد استفاده در این تحقیق شامل تریس بافر، اسید تیوباربیتوریک، اسید تری کلرواستیک، تتراتوکسی پروپان، اتانول، تریتون100-x، H_2O_2، بافر فسفات سدیم، دی نیترو تیوسیانو بنزین (DNTB)، نیترات مس، اسید سیتریک، اتیلن گلیکول است که برای تهیه نانو ذره استفاده شد و دیگر مواد مورد استفاده در این مطالعه سالین، کتامین، غذای موش، کیت و محلول سیلی مارین (گل دارو) بوده است.

دستگاه های مورد استفاده در این پژوهش شامل موارد زیر است:

XRD (TU–1901 double beam), UV-VIS (Jenway 6705), Transmission Electron Microscopy-TEM (JEM-200CX), Scanning Electron Microscopy-SEM (ZIESS EM 902A), centrifuges (eppendorf-5810), homogenizer (VMH–700), ultrasonic device (Parsonic 7500s-Pars Nahand)

آزمایشات مربوط به دستگاههای SEM و TEM در آزمایشگاه مرکز پژوهش متالورژی رازی کرج و پراش اشعه ایکس (XRD) در گروه شیمی دانشگاه شیراز صورت پذیرفت.

تهیه عصاره هیدرو الکلی گیاهان: دانه های گیاهان خاکشی و زرشک در دوره گلدهی در منطقه تفت یزد در شهریور ماه ۱۳۹۲ جمع آوری گردید. شماره هرباریوم گیاهان خاکشی و زرشک در دانشکده منابع طبیعی دانشگاه یزد پس از شناسایی به ترتیب ۹۴۹ و ۷۵۵ کدگذاری شد. جهت تهیه عصاره هیدرو الکلی گیاه زرشک و خاکشی ۲۰۰ گرم از دانه این گیاهان به طور جداگانه شسته و بعد از گذشت ۲۴ ساعت در محیطی تاریک خشک شد.

سپس با استفاده از هاون برقی پودر شدند. مقدار ۳۲ گرم پودر دانه گیاه زرشک و خاکشی بطور جداگانه با اتانول ۱۰۰٪ توسط دستگاه سوکسله به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد عصاره گیری شد. سپس در دستگاه روتاری حلال خشک شده و پودر جامد بدست آمد و توسط آب دوبار تقطیر به حجم رسانیده شد. دستگاه روتاری جهت خشک نمودن حلالی که عصاره گیاه توسط آن گرفته شده است کاربرد دارد و اگر زمان تبخیر را بیافزاییم می توان بعد از خشک شدن کامل حلال پودر جامد بدست آورد. عصاره دو گیاه زرشک و خاکشی به میزان ۲۰mg/kg و عصاره سیلی مارین (غلظت ۲۰۰mg/kg) که از شرکت گل دارو تهیه شده بود به موش ها روزانه ۰/۵ میلی لیتر به صورت داخل صفاقی (IP) تزریق گردید.

روش سنتز نانوذرات اکسید مس: برای سنتز نانوذرات اکسیدمس توسط روش سل- ژل، از آب دیونیزه و اتانول (C_2H_5OH,Merck,>99.9%) به نسبت مولی ۱:۱ به عنوان حلال، نیترات مس $[Cu(NO_3)_2.3H_2O]$ به عنوان ماده شروع کننده و اسید سیتریک و اتیلن گلیکول به ترتیب به عنوان عامل کمپلکس ساز و پلیمرساز استفاده شد. محلول در دمای اتاق به مدت ۱ ساعت توسط هم زن مغناطیسی همزده شد. از حمام روغن برای گرمادهی یکنواخت و غیر مستقیم استفاده شد. بعد از رفلاکس در محدوده دمایی ۹۰ –۱۱۰°c به مدت ۴ ساعت، محلول همگنی حاصل شد که در نهایت بعد از حرارت دهی مستقیم در دمای ۱۲۰°c به مدت ۷ ساعت و تبخیر افزودنی ها از ژل سبز رنگ در حضور لامپ IR، ژل خشک شده ای بدست می آید که با قرار دادن آن به مدت ۱ ساعت داخل کوره در دمای ۱۶۰°c پودر نهایی حاوی نانوذرات، بعد از آسیاب شدن به دست آمد. سپس با میکروسکوپ الکترونی و پراش اشعه ایکس نانو ذره بودن و شکل آنها مورد بررسی قرار گرفت.

آماده سازی سوسپانسیون نانوذرات: برای تهیه محلول استوک نانوذرات، ۱۰ گرم نانوذره در یک لیتر محیط کشت استریل به صورت سوسپانسیون در آورده شد و برای پراکنده شدن مناسب آنها از دستگاه اولتراسونیک (PARSONIC 7500s, Pars Nahand) به مدت زمان ۳۰ دقیقه استفاده شد. جهت جلوگیری از عدم بروز خطا سوسپانسیون نانوذرات تهیه شدند. غلظت نهایی محلول ppm ۴۰۰ است که به میزان نیم میلی‌لیتر به هر سر موش بصورت تزریق داخل صفاقی (IP) تزریق گردید.

حیوان های آزمایشگاهی: به منظور انجام آزمایشات از ۵۰ سر رت نر بالغ نژاد ویستار با سن ۸ هفته و وزن ۳۵۰–۲۵۰ گرم به ۱۰ گروه ۵ تایی تقسیم شدند: گروه کنترل سالم، گروه سالم دریافت کننده نانوذره، گروه های سالم دریافت کننده عصاره زرشک، سیلی مارین و خاکشی (به طور جداگانه)، گروه کنترل دیابتی، گروه دیابتی دریافت کننده نانوذرات مس، گروه های دیابتی دریافت کننده عصاره زرشک، سیلی مارین و خاکشی (به طور جداگانه). به تمامی گروه ها ۳۰ روز متوالی ۰/۵ سی سی از این مواد به صورت داخل صفاقی (IP) تزریق شد.

موش ها در قفس های پروپیلنی و درجه حرارت حدود ۲۲±۱°C و رطوبت حدود ۱۰±۶۰٪ ۱۲ ساعت روز و ۱۲ ساعت شب نگه داری شدند.

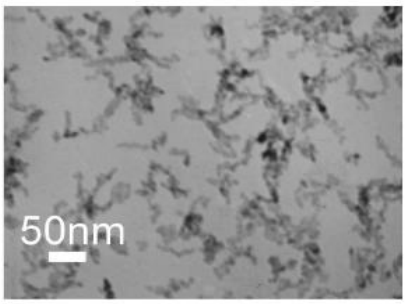
القای دیابت ملیتوس (دیابت نوع ۱ حیوانی): مدل تجربی دیابت قندی نوع ۱ (دیابت وابسته به انسولین) در موش صحرایی نر با یک بار تزریق داخل صفاقی آلوکسان به میزان ۱۲۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن ایجاد گردید و از سرم فیزیولوژیک به عنوان حلال آلوکسان استفاده شد (۱۵). ملاک دیابتی شدن، افزایش میزان گلوکز خون بین ۳۰۰- ۲۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر است که یک هفته پس از تزریق حاصل گردید (۱۶). تمامی آزمایشات حیوانی مطابق با دستورالعمل کمیته اخلاق انجام گردید. موش‌های هر گروه آزمایشی به وسیله علامت هائی مشخص گردید. رت ها به مدت ۱۲ ساعت فقط آب دریافت کردند و پس از ۱۲ساعت ناشتا بودن داروی آلوکسان صبح به آنها تزریق گردید.

نحوه اندازه گیری آنزیم های کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و مالون دی آلدئید: پس از دیابتی شدن و تیمار شدن به مدت سی روز، حیوان با کتامین بیهوش و سپس کشته شد. بافت کبد از بدن جدا و پس از شستشو با محلول سالین و خشک نمودن سریعاً توزین شد و سپس بافت ها جداگانه به همراه بافر تریس به مدت ۲ دقیقه با دستگاه هموژنایزر هموژنیزه (۱۰٪) شدند و سپس با دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. برای جلوگیری از تخریب آنزیم و پروتئین ها تمامی مراحل در دمای ۴ درجه سانتی گراد صورت گرفت. پس از انجام سانتریفیوژ، محلول شفاف از بقیه محلول جدا و برای اندازه گیری غلظت MDA و فعالیت آنزیم های GPx و CAT استفاده گردید. اندازه گیری سطح(MDA) به روشی که اساس آن واکنش اسید تیوباربیتوریک (TBA) می‌باشد(TBARS) انجام گرفت (۱۷). فعالیت آنزیم CAT با روش Aebi و همکاران سنجیده شد (۱۸)، همچنین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز GPx با استفاده از روش Rotruck و همکاران (۱۹) مورد سنجش قرار گرفت.

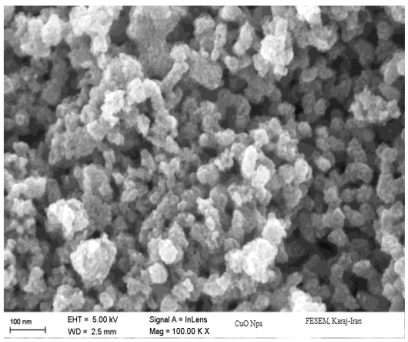
روش استخراج داده ها: نتایج به صورت Mean±SD نشان داده شده اند. برای بررسی نتایج بیوشیمیایی و مقایسه میانگین گروه‌های آزمایشی از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس چند متغیری ANOVA (Multivariate) و تست LSD استفاده شد و $p<۰/۰۵$ معنی دار تلقی گردید.

یافته ها

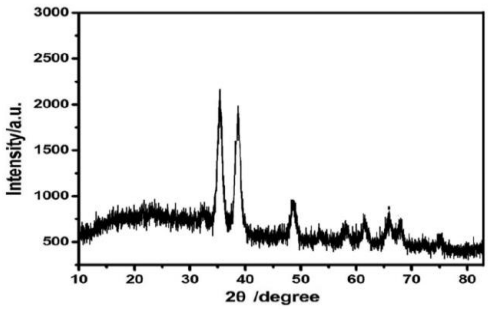
بررسی ساختاری نانو ذرات اکسید مس: اشیا در میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) بسیار بزرگتر از میکروسکوپ نوری است. عکسهای میکروسکوپ الکترونی سیاه و سفیدند و رنگی نیستند. زیرا برخی پرتوها از نمونه عبور نمی‌کنند و نقاط سیاهرنگی را بوجود می‌آورد (شکل ۱). اثبات لایه ای بودن نانوذرات مس با استفاده از دستگاه SEM انجام (شکل ۲) و با استفاده از معادله شرر و توسط دستگاه TEM، قطر نانوذرات اکسیدمس ۵۰ nm تخمین زده شد. XRD یا همان پراش اشعه ایکس تکنیکی قدیمی و پرکابرد در بررسی خصوصیات کریستال‌ها می‌باشد. در این روش از پراش اشعه ایکس جهت بررسی ویژگی های نمونه استفاده می شود. XRD برای تعیین عموم کمیات ساختار کریستالی از قبیل ثابت شبکه، هندسه شبکه، تعیین کیفی مواد ناشناس، تعیین فاز کریستال‌ها، تعیین اندازه کریستال‌ها، جهتگیری تک کریستال، استرس، تنش، عیوب شبکه و غیره قابل استفاده می‌باشد (شکل۳و ۴).



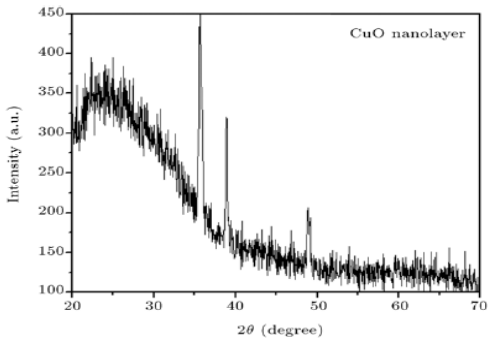
شکل۱. تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) نانوذرات اکسیدمس



شکل ۲. تصویر لایه های نانوذرات اکسیدمس در میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)



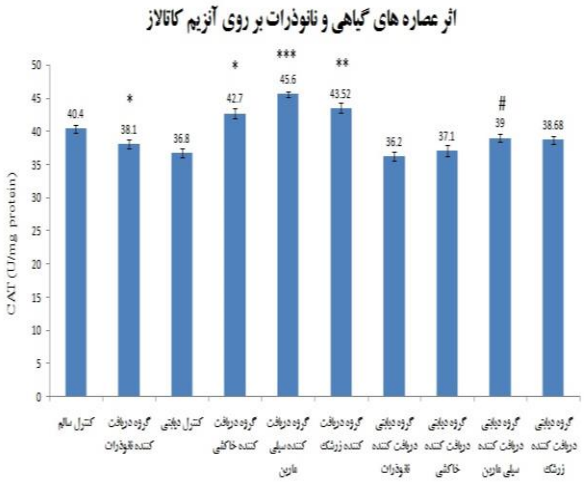
شکل ۳. تصویر الگوی XRD نانوذرات اکسیدمس



شکل ۴. گراف XRD لایه های نانوذرات اکسیدمس

آنزیم کاتالاز در گروه‌های مختلف: میانگین غلظت آنزیم کاتالاز در گروه‌های دریافت کننده نانوذرات، خاکشی، زرشک و سیلی مارین در مقایسه با گروه کنترل سالم معنی دار است ($p<۰/۰۵$). گروه نانو ذره در مقایسه با گروه

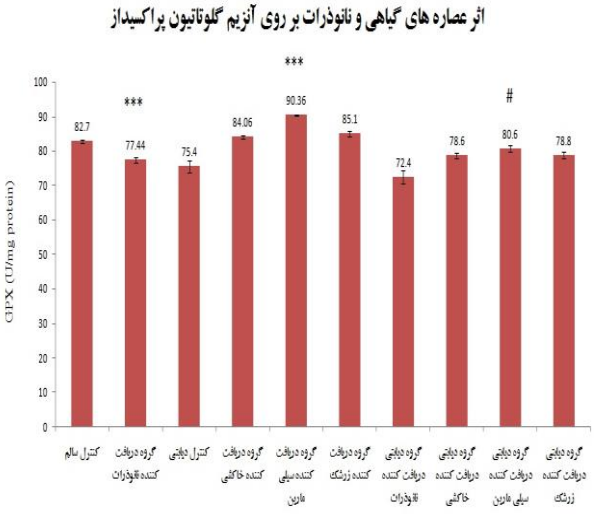
کنترل کاهش معنی دار و خاکشی، سیلی مارین و زرشک افزایش معنی دار داشته است. سیلی مارین نسبت به زرشک و خاکشی بیشترین افزایش را داشت. میانگین غلظت آنزیم کاتالاز گروه دیابتی دریافت کننده سیلی مارین در مقایسه با گروه کنترل دیابتی افزایش یافت (شکل ۵).



شکل۵. میزان کاتالاز در بافت کبد در موش های صحرایی تیمار شده با عصاره گیاهی و نانوذرات اکسید مس

*درمقایسه با گروه کنترل سالم و# در مقایسه با گروه کنترل دیابتی

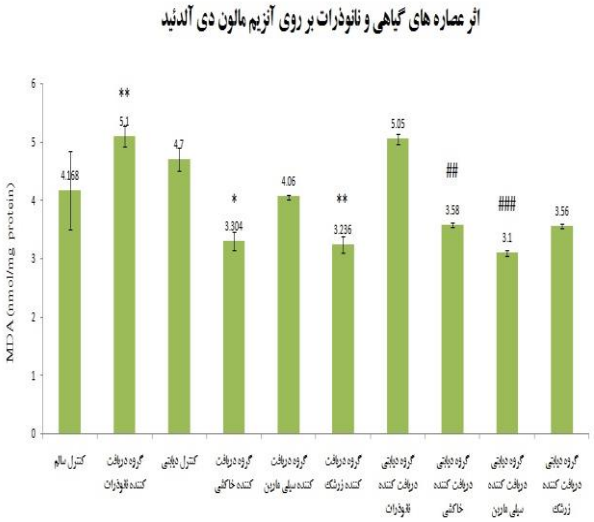
آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در گروه های مختلف: میانگین غلظت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در گروه های دریافت کننده نانوذرات و سیلی مارین در مقایسه با گروه کنترل سالم معنی دار است ($p<۰/۰۵$). در گروه دریافت کننده نانوذره کاهش و در گروه دریافت کننده سیلی مارین افزایش معنی داری داشت. میانگین غلظت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز گروه دیابتی دریافت کننده سیلی مارین در مقایسه با گروه کنترل دیابتی افزایش یافت(شکل ۶).



شکل ۶. میزان گلوتاتیون پراکسیداز در بافت کبد در موش های صحرایی تیمار شده با عصاره گیاهی و نانوذرات اکسید مس

*درمقایسه با گروه کنترل سالم و# در مقایسه با گروه کنترل دیابتی

آنزیم مالون دی آلدئید در گروه های مختلف: میانگین غلظت آنزیم مالون دی آلدئید در گروه های دریافت کننده نانوذرات و سیلی مارین در مقایسه با گروه کنترل سالم معنی دار است ($p<۰/۰۵$). گروه دریافت کننده نانو ذره افزایش معنی دار و گروه دریافت کننده سیلی مارین و زرشک کاهش معنی دار داشته است. سیلی مارین بیشترین کاهش را داشت. میانگین غلظت آنزیم مالون دی آلدئید گروه دیابتی دریافت کننده سیلی مارین و زرشک در مقایسه با گروه کنترل دیابتی کاهش معنی داری داشت. سیلی مارین بیشترین کاهش را نشان داد(شکل ۷).



شکل ۷. میزان مالون دی آلدئید در بافت کبد در موش های صحرایی تیمار شده با عصاره گیاهی و نانوذرات اکسید مس

*درمقایسه با گروه کنترل سالم و# در مقایسه با گروه کنترل دیابت

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه، نانوذرات اکسید مس، با بالا بردن سطح فعالیت آنزیم مالون دی آلدئید، باعث تشدید استرس اکسیداتیو می شود. عصاره گیاهان دارویی سیلی مارین، خاکشی و زرشک با بالا بردن غلظت آنزیم های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز اثر منفی این نانو ذرات را کاهش می دهند که در مورد موش های دیابتی و سالم نتایج مشابه است. در یک مطالعه فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در کبد رت هایی که گیاه زرشک در رژیم غذایی آنها به کار رفته بود نسبت به گروه کنترل بالاتر بود و این دلالت بر اثر مهار کنندگی زرشک بر پراکسیداسیون لیپیدها از طریق افزایش آنزیم های آنتی اکسیدان دارد (۲۰) که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. در مطالعه ای استفاده از نانوذرات اکسید مس با دوز کمتر از ۵۰ نانومتر باعث کاهش آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز شد. به مرور زمان در یک روز و یک هفته بعد از تزریق داخل ریوی هم این آسیب شدت می‌گرفت (۲۱).

Liu و همکارانش نشان دادند که استفاده از نانوذرات اکسید مس باعث کاهش ترشح آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز می‌شود (۲۲) که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. استرس اکسیداتیو با سمیت نانوذرات بالا می رود و افزایش تولید ROS و استرس اکسیداتیو می تواند یکی از علائم سمی بودن نانوذرات باشد (۲۲و۲۱). مطالعات بسیاری پیرامون اثرات سیلی مارین در محیط کشت و بر

انواع سلول ها صورت گرفته است که دلالت براثرات آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی این عصاره گیاهی دارد (۲۳). سیلی‌مارین در محیط کشت باعث تمایز این سلول‌ها می گردد. از طرفی مشاهده شده است که سیلی‌مارین با مهار گیرنده‌های تیروزین کیناز که بوسیله فاکتور رشد فعال می شوند، از رشد و تمایز بی رویه سلولی و بعبارت دیگر از سرطانی شدن آنها پیشگیری می نماید (۲۴). برخی فلاونوئیدها نظیر سیلی مارین می‌توانند موجب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانت ها در بدن و تشدید فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانتی گردند که بدین ترتیب می توانند کاهش پراکسیداسیون لیپیدی را به دنبال داشته باشند (۲۵). در این مطالعه نتایج نشان داد که عصاره گیاهان دارویی سیلی مارین، خاکشی و زرشک بر کاهش اثرات استرس اکسیداتیو نانو ذرات در موش های دیابتی القا شده با آلوکسان (دیابت ملیتوس) نقش دارند. بنابراین پیشنهاد می‌گردد تا از عصاره های این گیاهان دارویی خصوصاً سیلی مارین به منظور کاهش اثرات زیانبار اکسیداتیو نانوذرات به ویژه در بیماران دیابتی نوع ۱ استفاده شود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از کلیه کسانی که در انجام این تحقیق همکاری داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

The Effects of Copper Oxide Nanoparticles and Hydroalcoholic Extracts of Berberis Vulgaris, Descurainia Sophia and Silybum Marianum on Catalase, Glutathione Peroxidase, and Malondialdehyde Concentration in Male Diabetic Rats

M. Mohamadifard (MSc)*[1], H. Nazem (PhD)[1], J. Mottaghipisheh (MSc)[2]

1.Department of Biology, Payam-e-Noor University of Taft, Yazd, I.R.Iran

2.Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Sistan & Baluchestan, Zahedan, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 18(3); Mar 2016; PP: 54-61

Received: Aug 3th 2015, Revised: Sep 28th 2015, Accepted: Feb 6th 2016.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Antioxidants can reduce the occurrence of long-term damages, caused by free radicals. Considering the importance of enhanced oxidative stress in the occurrence of nanoparticle-induced damages and effects of plant extracts on reducing oxidative stress, in this study, we aimed to evaluate the effects of copper oxide nanoparticles and hydroalcoholic extracts of Berberis vulgaris, Descurainia sophia, and silymarin on catalase, glutathione peroxidase, and malondialdehyde concentrations in male diabetic rats.

METHODS: In this experimental study, 50 Wistar rats (250-350 g) were divided in ten groups (five rats per group): healthy controls, healthy rats receiving nanoparticles, healthy rats receiving Berberis vulgaris, Descurainia sophia, and silymarin extracts (independently), diabetic controls, diabetic rats receiving copper nanoparticles, and diabetic rats receiving the extracts independently. In diabetic groups, diabetes was induced in half of the rats, using alloxan at a dose of 120 mg/kg. In addition to copper oxide nanoparticles, the control and diabetic groups independently received 0.5 cc of Berberis vulgaris, Descurainia sophia, and Silybum marianum extracts via intraperitoneal injection for 30 days. Then, the animals were anesthetized with ketamine and the liver tissues were removed. The concentrations of catalase, glutathione peroxidase, and malondialdehyde were measured and compared.

FINDINGS: In diabetic groups treated with copper nanoparticles, a significant increase was reported in the concentration of malondialdehyde (from 4.7±0.447 to 5.05±0.405). Moreover, a significant decline was observed in the activity of catalase enzymes (from 36.8±1.48 to 36.2±1.4832) and glutathione peroxidase (from 75.4±3.9115 to 72.4±4.3362). Based on the findings, Silybum marianum was more effective than Berberis vulgaris and Descurainia sophia in diminishing the effects of cooper nanoparticles.

CONCLUSION: The present results showed that the studied herbal extracts could be used for moderating the effects of oxidative stress, induced by copper oxide nanoparticles.

KEY WORDS: *Copper oxide nanoparticles, Herbal extracts, Diabetic rats, Catalase, Malondialdehyde, Glutathione peroxidase*.

Please cite this article as follows:

Mohamadifard M, Nazem H, Mottaghipisheh J. The Effects of Copper Oxide Nanoparticles and Hydroalcoholic Extracts of Berberis Vulgaris, Descurainia Sophia and Silybum Marianum on Catalase, Glutathione Peroxidase, and Malondialdehyde Concentration in Male Diabetic Rats. J Babol Univ Med Sci. 2015;18(3):54-61.

***Corresponding author: M. Mohamadifard (MSc)**

Address: Department of Biology, Payam-e-Noor University of Taft, Yazd, I.R.Iran

Tel: +98 35 32632800-7

E-mail: Mohamadm47@gmail.com

References

1.Pajoumand A, Shariat Tarbaghani A. Diagnosis and treatment of poisoning. Tehran: Chehr Press;1998.p.442-4. [In Persian]

2.Movahedian Ataar A, Eshraghi A, Asgari S, Naderi G, Badiee A. Antioxidant effect of ziziphus vulgaris, portulaca oleracea, berberis integerima and gundelia tournefortti on lipid peroxidation, Hb glycosylation and red blood cell hemolysis. J Med Plants. 2011;4(40):80-8.[In Persian]

3.Akkaya H, Yılmaz Ö. Antioxidant capacity and radical scavenging activity of silybum marianum and ceratonia siliqua. Ekoloji. 2012;21(82):9-16.

4.Di Pierro F, Putignano P, Villanova N, Montesi L, Moscatiello S, Marchesini G. Preliminary study about the possible glycemic clinical advantage in using a fixed combination of Berberis aristata and Silybum marianum standardized extracts versus only Berberis aristata in patients with type 2 diabetes. Clinic Pharmacol. 2013;19(5):167-74.

5.Sherif IO, Al-Gayyar MM. Antioxidant, anti-inflammatory and hepatoprotective effects of silymarin on hepatic dysfunction induced by sodium nitrite. Eur Cytokine Netw. 2013;24(3):114-21.

6.Berkson BM. A conservative triple antioxidant approach to the treatment of hepatitis C., Combination of alpha lipoic acid (thioctic acid), silymarin, and selenium, three case histories. Med Klin (Munich). 1999;94(3):84-9.

7.Tsai PL, Tsai TH. Hepatobiliary excertion of berberin. Drug Metab Dispos. 2004;32(4):405-12.

8.Kanda samy M, Veerendar channabasappa Y, Bhim charan M, Tapan kumar M. Hepato protective and antioxidant role of berberis tinctoria lesch leaves on paracetamol induced hepatic damage in rats. Iran J Pharmacol Therapeutics. 2005;4(1):64-9.

9.Singh J, Kakkar P. Antihyperglycemic and antioxidant effect of Berberis aristata root extract and its role in regulating carbohydrate metabolism in diabetic rats. J Ethnopharmacol. 2009;123(1):22-6.

10.Lee YS, Kim WS, Kim KH, Yoon MJ, Cho HJ, Shen Y, et al. Berberine, a natural plant product, activates AMP-activated protein kinase with beneficial metabolic effects in diabetic and insulin-resistant states. Diabetes. 2006;55(8):2256-64.

11.Soria EA, Eynard AR, Quiroga PL, Bongiovanni GA. Differential effects of quercetin and Silymarin on arsenite-induced cytotoxicity in two human breast adenocarcinoma cell lines. Life Sci. 2007;81(17-18):1397-402.

12.Kittur S, Wilasrusmee S, Pedersen WA, Mattson MP, Straube-West K, Wilasrusmee C, Jubelt B, Kittur DS. Neurotrophic and neuroprotective effects of milk thistle (Silybum marianum) on neurons in culture. J Molecular Neuroscience. 2002;18(3):265-9.

13.Soto CP, Perez BL, Favari LP, Reyes JL. Prevention of alloxan-induced diabetes mellitus in the rat by siliymarin. Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol. 1998;119(2):125-9.

14. Toovey S, Hudson E, Hendry WF, Levi AJ. Sulfasalazine and male infertility: Reversibility and possible mechanism. Gut. 1981;22(6):445-51.

15.Gupta RK, Kesari AN, Murthy PS, Chandra R, Tandon V, Watal G. Hypoglycemic and antidiabetic effect of ethanolic extract of leaves of annona squamosa L. in experimental animals. J Ethnopharmacol. 2005;99(1):75-81.

16.el Demerdash FM, Yousef MI, El Naga NI. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan – induced diabetic rats. Food Chem Toxicol. 2005;43(1):57–63.

17.Bagheri M, Joghataei MT, Mohseni S, Roghani M. Genistein ameliorates learning and memory deficits in amyloid β(1-40) rat model of Alzheimer's disease. Neurobiol Learn Mem. 2011;95(3):270-6.

18.Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 1984;105:121-6.

19.Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson AB, Hafeman DG, Hoekstra WG. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidas. Science. 1973;179(4073):588-90.

20.Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. Med Sci Monit. 2006;12(7):130-47.

21.Suji G, Sivakami S. Approaches to the treatement of diabetes, mellitus: an overview. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). 2003 Jun;49(4):635-9.

22.Daniel MC, Astruc D. Gold nanoparticles: Assembly, supramolecular chemistry, quantum-size related properties and applications toward biology, Catalysis and nanotechnology. Chem. Rev. 2004;104(1):293-346.

23.Durak I, Cetin R, Devrim E, Erguder J. Effects of black grape extract on activity of DNA turn-over enzymes in concerous and noncancerous human colon tissue. Life Sci. 2005;76(25):2995-3000.

24.Kang JS, Jeon YJ, Park SK, Yang KH, Kim HM. Protection against lipopolysaccharide- induced sepsis and inhibition of interleukin-1beta and prostaglandin E2 synthesis by silymarin. Biochem. Pharmacol. 2004;67(1):175-81.

25.Sandhya rani V, Kishore kumar A, Pradeep Kumar Ch, Rama Narsimha Reddy A. Pulmonary toxicity of copper oxid (cuo) nanoparticles in rat. J Med Sci. 2013;13(7):571-7.

26.Liu Z, Liu S, Ren G, Zhang T, Yang Z. Nano-CuO inhibited voltage-gated sodium current of hippocampal CA1 neurons via reactive oxygen species but independent from G-proteins pathway. J Appl Toxicol. 2011;31(5):439-45.