

# تغییر فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز گلبول قرمز و میزان آنتیاکسیدان تام پلاسمای دیابتی در موشهای صحرایی Securigera Securidaca عصاره

## چکیده

زمینه و هدف: گونه‌های واکنشگر اکسیژن از طریق اکسیداسیون پروتئین‌ها و یا به راه انداختن آبشار پراکسیداسیون لبیدی، بسیاری از عملکردهای سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. در این مطالعه تغییر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز گلبول قرمز و سطح آنتیاکسیدان تام پلاسمای دیابتی در موشهای صحرایی Securigera Securidaca در موشهای صحرایی دیابتی بررسی شده است.

روش بررسی: در مطالعه تجربی حاضر از ۲۰ موش صحرایی نر با نام علمی Ratus Norvegicus که شامل دو گروه سالم و دیابتی بودند، استفاده گردید. علاوه‌های گروه نیز به ۳ زیرگروه (۵ موش صحرایی در هر زیرگروه) شامل زیر گروه کنترل و دو زیر گروهی که ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره به ازای هر کیلوگرم از وزن دریافت می‌کردند، تقسیم شدند. تمامی تزریقات از طریق داخل صفاقی و به مدت ۳۰ روز انجام گرفت. پس از اتمام دوره، خون از قلب موشهای صحرایی گرفته و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و آنتیاکسیدان تام پلاسمای اندازه گیری شد. تفاوت‌های آماری با استفاده از آزمون‌های t-Student و ANOVA بررسی شدند.

یافته‌ها: در مقایسه با زیرگروه کنترل دیابتی، فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در زیرگروه موشهای دیابتی که ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره به ازای هر کیلوگرم وزن به آنها تزریق شده بود، بالاتر بود (به ترتیب  $P=0.01$  و  $P=0.04$ ). سطح آنتیاکسیدان تام در زیرگروه دیابتی که ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره به ازای هر کیلوگرم وزن به آنها تزریق شده بود، نسبت به زیرگروه کنترل دیابتی افزایش داشته است (به ترتیب  $P=0.005$  و  $P=0.025$ ).

نتیجه‌گیری: عصاره آبی Securigera Securidaca احتمالاً با تغییر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و میزان آنتیاکسیدان تام پلاسمای دفع آنتیاکسیدانی را در موشهای صحرایی افزایش می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: ۱- آنتیاکسیدان تام ۲- گلوتاتیون پراکسیداز ۳- دیابت ۴- آنتیاکسیدان تام

## مقدمه

پراکسیداسیون لبیدی بر اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع انجام گرفته و منجر به تولید رادیکال‌های آزاد و پراکسیدهای لبیدی می‌گردد. این ترکیبات بسیار واکنشگر بوده و دارای اثر کمتوکتیک و سیتوکسیک هستند. پراکسیدها ساختار غشای سلول را مختل کرده و منجر به تغییر در نفوذپذیری و ایجاد ترومبوز و نکروز می‌شوند.<sup>(۱)</sup> نشان داده شده است که شروع و پیشرفت عوارض دیابت با

ROS= به نظر می‌رسد که گونه‌های واکنشگر اکسیژن (Reactive oxygen species) در تمامی بافت‌ها، از طریق مکانیسم‌های گوناگونی تولید می‌شوند. بدی عملکرد اعضاء ممکن است ناشی از میانکش ROS با غشاها سلولی از طریق آبشار پراکسیداسیون لبیدی یا اکسیداسیون مستقیم پروتئین‌های غشایی باشد که در نهایت ممکن است بر بسیاری از عملکردهای سلولی اثر بگذارد.<sup>(۱)</sup>

این مقاله خلاصه‌ای از پایان‌نامه آقای اباذر روستازاده میانده در مقطع کارشناسی ارشد بیوشیمی به راهنمای آقای دکتر محسن فیروزمند و مشاوره آقای دکتر شعبانی می‌باشد.

(I) کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

(II) استاد گروه بیوشیمی، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی ایران، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران (\*مؤلف مسؤول).

(III) استادیار بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

## روش بررسی

در این بررسی که از نوع مطالعات تجربی بود، از ۳۰ موش صحرایی نر با نام علمی *Ratus Norvegicus* استفاده گردید. حیوانات در حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی ایران نگهداری می‌شدند و از شرایط یکسانی از جهت روشناهی و تاریکی برخوردار بودند و وزنی حدود ۲۰۰-۲۲۰ گرم و سنی حدود ۴ ماه داشتند. حیوانات به دو گروه سالم و دیابتی، تقسیم و سپس هر گروه نیز به زیرگروه‌های کنترل، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره به ازای هر کیلوگرم وزن تقسیم شدند: بدین ترتیب که:

- ۱- زیرگروه کنترل سالم که سالین دریافت می‌کردند.
- ۲- زیرگروه کنترل دیابتی که سالین دریافت می‌کردند.
- ۳- زیر گروه سالم که ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره به ازای هر کیلوگرم وزن دریافت می‌کردند.
- ۴- زیرگروه دیابتی که ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره به ازای هر کیلوگرم وزن دریافت می‌کردند.
- ۵- زیرگروه سالم که ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره به ازای هر کیلوگرم وزن دریافت می‌کردند.
- ۶- زیرگروه دیابتی که ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره به ازای هر کیلوگرم وزن دریافت می‌کردند.

دانه‌های گیاه Securigera Securidaca از مغازه فروش گیاهان دارویی در شیراز، تهیه و سپس توسط دکتر احمد قهرمان، استاد گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه تهران، مورد تایید قرار گرفت. در این مطالعه از عصاره آبی دانه استفاده گردید و تمامی تزریقات بصورت روزانه به مدت ۳۰ روز و از طریق داخل صفاقی انجام گرفت. برای تهیه عصاره، ۲۰۰ گرم پودر کوبیده شده دانه که در سایه خشک شده بود، به مدت یک شبانه روز خیسانده شد و سپس صاف گردید. صاف شده عصاره، وارد دستگاه Rotary Evaporator شد و پس از آن به دستگاه دسیکاتور منتقل شد و از ماده خشک شده انتهایی، جهت انجام آزمایش استفاده گردید.<sup>(۹)</sup> عصاره خشک در سالین حل شده و سپس به موشهای صحرایی تزریق گردید. دیابتی نمودن موشهای صحرایی با استفاده از استرپتپوزوتوسین (Streptozotocin) که از محصولات شرکت سیگما بود، انجام گرفت. ۱۵ موش صحرایی به مدت ۱۴-۱۶ ساعت ناشتا نگهداشته شدند و سپس استرپتپوزوتوسین که در بافر سیترات بصورت تازه

استرس اکسیداتیو القایی بوسیله رادیکال‌های آزاد، در ارتباط است.<sup>(۲)</sup> مکانیسم‌های دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی قادرند گونه‌های واکنشگر اکسیژن را از بدن حذف نمایند.<sup>(۳)</sup> آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی شامل ویتامین‌های A، C، E، B1، B2 و B12، گلوتاتیون، α-لیپوئیک اسید، کاروتونوئیدها، عناصر کمیاب، اسیداوریک، اسیدفولیک و بیلی‌روبین می‌باشند<sup>(۴)</sup> که همگی تحت عنوان آنتی اکسیدانی آنزیمی، گلوتاتیون پراکسیداز است که یک سلنو آنزیم بوده و غشاها زیستی و سایر اجزای سلول را در برابر تخریب اکسیداتیو محافظت می‌کند.<sup>(۵)</sup> گلوتاتیون پراکسیداز تترامر که در بیشتر بافت‌های پستانداران یافت می‌شود، شاخص‌ترین فرم این آنزیم است. در داخل سلولها، گلوتاتیون پراکسیداز بیشتر در سیتوسل و میتوکندری دیده می‌شود و به نظر می‌رسد که مهم‌ترین جمع‌آوری کننده پراکسید هیدروژن در بافت‌ها باشد. این آنزیم، احیاء پراکسید هیدروژن و تعدادی از هیدروپراکسیدهای آلی را با استفاده از گلوتاتیون به عنوان ماده احیاء کننده کاتالیز می‌کند؛ لذا از جمله مکانیسم‌هایی که به افزایش استرس اکسیداتیو در دیابت کمک می‌کند، تغییر در وضعیت سیستم‌های دفاع آنتی اکسیدانی است.<sup>(۶)</sup>

امروزه استفاده از داروهای تكمیلی بخصوص داروهای گیاهی در سراسر جهان در حال افزایش است. بسیاری از درمان‌های سنتی وجود دارند که ارزش بالقوه آنها بعنوان ترکیبات طبیعی مفید در کنترل دیابت پوشیده است.<sup>(۷)</sup> گیاهی یک ساله، بدون کرک، خیزان یا تقریباً ایستاده<sup>(۸)</sup> است که دانه آن در برخی از نقاط ایران بعنوان داروی گیاهی کنترل دیابت مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه از جنس *Securigera*, کلاس *Dicotyledones* و خانواده *Papilionaceae* بوده و دانه‌های این گیاه دارای فعالیت مشخص کرونوتروپیک، دیورتیک و هیپوکالمیک می‌باشد.<sup>(۹)</sup> هدف از مطالعه کنونی بررسی تغییر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز گلبلهای قرمز و سطح آنتی اکسیدان تام پلاسما تحت اثر عصاره دانه این گیاه در موشهای صحرایی دیابتی بود.

داخل دو کووت ریخته شد و بعنوان بلانک برای صفر کردن دستگاه بکار رفت. ۲۰ میکرو لیتر از پلاسما به کووت، اضافه و جذب بلافاصله و به مدت ۴ دقیقه بررسی گردید. تفاوت میان جذب اولیه و نهایی ( $\Delta A_{90}$ ) برای هر نمونه محاسبه شد و با استفاده از منحنی استاندارد، مقدار آن تعیین گردید. میزان آنتیاکسیدان توتال پلاسما براساس میکرومول در لیتر گزارش شده است.

در این مطالعه مقادیر کمی بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده است. مشخصه های بین گروه ها با استفاده از آزمون A NOVA و Student t- ارزیابی شدند. از نرم افزار SPSS(version 13.1) برای آنالیز داده ها استفاده شده است. تفاوت هایی که مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ داشتند، معنی دار تلقی گردید.

### یافته ها

سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در زیرگروه سالمی که ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم عصاره به ازای هر کیلو گرم وزن به آنها تزریق می شد با زیرگروه کنترل سالم تفاوت معنی داری نداشت(جدول شماره ۱). میانگین فعالیت این آنزیم در موشهای دیابتی کمتر از موشهای سالم بوده است ( $P=0/002$ ). همچنین در زیرگروه موشهای دیابتی که ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم عصاره به ازای هر کیلو گرم وزن دریافت می کردند(نمودار شماره ۱)، میزان فعالیت آنزیم در مقایسه با زیر گروه کنترل دیابتی افزایش داشت(به ترتیب  $P=0/01$  و  $P=0/004$ ).

**جدول شماره ۱**- فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز(U/gHb) گلbul قرمز در زیر گروه های کنترل سالم و دیابتی و نیز زیر گروه های سالم و Securigera Securidaca دیابتی که ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم عصاره آبی (NADPH) به ازای هر کیلو گرم وزن به مدت ۳۰ روز به آنها تزریق شده است.

| گروه ها        |          |          |              |
|----------------|----------|----------|--------------|
| ارزش P*        | NS       | ارزش P** | ارزش P***    |
| متغیری (سالین) |          |          |              |
| P=0/002        | ۳۹/۱±۱/۵ | ۵۱/۷±۲/۴ | کنترل(سالین) |
| NS             | ۴۷/۲±۲/۱ | ۵۲/۸±۲/۷ | ۱۰۰          |
| NS             | ۵۱/۲±۲/۴ | ۵۵±۴     | ۲۰۰          |
| P=0/003        | NS       | **P      | ارزش         |

\*: براساس آزمون ANOVA \*\*: براساس آزمون t-Student \*\*\*: براساس آزمون تفاوت معنی دار نیست.

تهیه گردیده بود، با دوز ۴۵ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن از طریق داخل صفاقی به موشهای صحرایی تزریق گردید. یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین، قند خون موشهای صحرایی مورد آزمایش قرار گرفت و موشهای با گلوکز خونی ۲۰۰-۳۰۰ میلی گرم در دسی لیتر برای انجام آزمایش انتخاب شدند.<sup>(۱۰)</sup> جهت تعیین LD<sub>50</sub> Wilcoxon و Litchfield (Lethal Dose 50)، از روش کیلو گرم و وزن بود.<sup>(۱۱)</sup>

فعالیت این آنزیم به روش آنزیمی Valentine و Paglia و توسط Anderson و همکارانش تغییراتی در آن ایجاد شده است، انجام گرفت.<sup>(۱۲)</sup> برای انجام این آزمایش، همولیزیت فریز شده در دمای -۸-۱۰ درجه سانتی گراد مورد استفاده قرار گرفت. جهت تهیه همولیزیت، ۲۰۰ میکرو لیتر گلbul قرمز شسته شده با سالین با ۲۰۰ میکرو لیتر آب مقطور مخلوط شد تا همولیزیت ۵۰٪ بدست آید. سپس همولیزیت ها به ترتیب با آب مقطور دیوئینزه، بافر فسفات حاوی تیوتریتئول =DTT (Ethylendiamin tetra acetic Acid)EDTA و دی ۱.۴-Dithiotheritol =DTT محلول در ابکین رقیق شدند. ۴۰۰ میکرو لیتر از محلول واکنشگر داخل دوکووت، ریخته و سپس ۵۰ میکرو لیتر نمونه رقیق شده به آن اضافه شد و تغییرات جذب به مدت ۳ دقیقه بررسی گردید. در مرحله بعد ۲۰ میکرو لیتر محلول ترت بوتیل هیدروپراکسید=TBHP به عنوان سوبسکتای آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز اضافه شد و جذب آن به مدت ۳ دقیقه دیگر بررسی گردید. اختلاف جذب مرحله ۱ و ۲ اندازه گیری شد و مقدار فعالیت آنزیم با استفاده Nicotin amid adenin )NADPH از ضریب خاموشی phosphate dinucleotid (dinucleotid محاسبه گردید. فعالیت آنزیم براساس Hb/gU گزارش شده است.

برای اندازه گیری آنتیاکسیدان تام، از روش Benzie و همکارانش استفاده شد<sup>(۱۳)</sup>; در این روش توانایی پلاسما برای احیای یون فریک اندازه گیری می شود. برای انجام این آزمایش ابتدا بافر استات، تهیه و سپس محلول واکنشگر اصلی با مخلوط کردن محلول تری پیریدیل تری آزین (Tripyridyl-5-triazine=TPTZ)، محلول کلرید آهن و بافر استات تهیه گردید. سپس ۶۰۰ میکرو لیتر از محلول واکنشگر

## جدول شماره ۲- میزان آنتی اکسیدان تام پلاسما(μmol/l) در

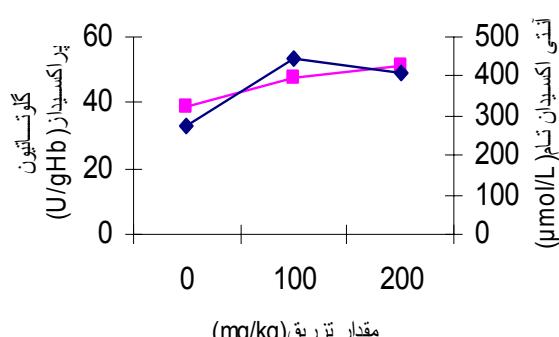
زیرگروههای کنترل سالم و دیابتی و نیز زیر گروههای سالم و دیابتی که ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم عصاره آبی Securigera Securidaca به ازای هر کیلوگرم وزن به مدت ۳۰ روز به آنها تزریق شده است.

| گروهها        | مقدار عصاره (mg/kg) |           |         |
|---------------|---------------------|-----------|---------|
|               | سالم                | دیابتی    | ارزش P* |
| کنترل (سالین) | ۴۲۴±۵۵              | ۴۶۴±۶۹    | P=۰/۰۰۸ |
| ۱۰۰           | ۴۴۶±۵۲              | ۴۰۷±۶۳    | NS      |
| ۲۰۰           | ۴۴۹±۴۶              | NS        | NS      |
|               |                     | **P<0/003 |         |

\*: براساس آزمون ANOVA \*\*: براساس آزمون t-Student

تفاوت معنی دار نیست.

آنتی اکسیدان گلوتاتیون پراکسیداز



نمودار شماره ۱- میانگین های فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و میزان آنتی اکسیدان تام در زیر گروه کنترل دیابتی و نیز زیر گروههای دیابتی که عصاره آبی Securigera Securidaca به مدت ۳۰ روز به آنها تزریق شده است( مقایسه با آزمون t-Student).

a: زیرگروه کنترل دیابتی که سالین دریافت کرده است.

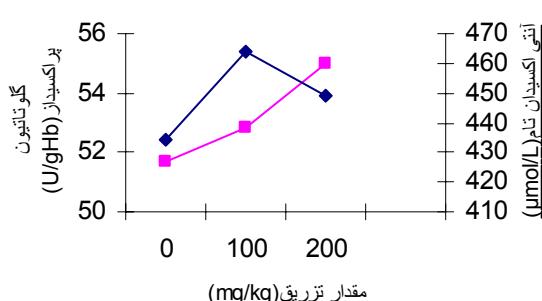
b: زیرگروه دیابتی ۱۰۰ mg/kg عصاره دریافت کرده است.

c: زیرگروه دیابتی که ۲۰۰ mg/kg عصاره دریافت کرده است.

گلوتاتیون پراکسیداز: (a, b)P=۰/۰۱ (a, c)P=۰/۰۰۴

آنتی اکسیدان تام: (a, b)P=۰/۰۰۵ (a, c)P=۰/۰۲۵

آنتی اکسیدان گلوتاتیون پراکسیداز



نمودار شماره ۲- میانگین های فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و میزان آنتی اکسیدان تام در زیر گروه کنترل سالم و نیز زیر گروههای سالمی که عصاره آبی Securigera Securidaca به مدت ۳۰ روز به آنها تزریق شده است( مقایسه با آزمون t-Student).

a: زیرگروه کنترل سالم که سالین دریافت کرده است.

b: زیرگروه سالم که ۱۰۰ mg/kg عصاره دریافت کرده است.

c: زیرگروه سالم که ۲۰۰ mg/kg عصاره دریافت کرده است.

میانگین های فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و میزان آنتی اکسیدان تام در گروههای سالم یعنی زیرگروههای a, b و c تفاوت معنی دار نشان نداد.

## بحث

تعادل تغیریافته آنتی اکسیدانی که بوسیله کاهش فعالیت کاتالاز، سوپر اکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز و یا کاهش سطح آنتی اکسیدان تام ایجاد می شود، ممکن است مسؤول بی کفایتی دفاع آنتی اکسیدانی در مقابله با آسیب های القاء شده بوسیله ROS باشد. اگرچه گلوتاتیون پراکسیداز

میزان آنتی اکسیدان تام پلاسما در زیرگروههای سالم و دیابتی که عصاره دریافت می کردند، تفاوت معنی داری نشان نداد( جدول شماره ۲) و در زیرگروه کنترل دیابتی، میزان آنتی اکسیدان تام در مقایسه با زیر گروه کنترل سالم، کاهش یافته بود(P=۰/۰۰۸). همچنین مقادیر آنتی اکسیدان تام در زیرگروه مشاهدی دیابتی که ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم عصاره به ازای هر کیلوگرم وزن دریافت می کردند( نمودار شماره ۱)، نسبت به زیرگروه کنترل دیابتی افزایش داشته است( به ترتیب P=۰/۰۰۴ و P=۰/۰۲۵). میزان آنتی اکسیدان تام و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در زیر گروههای سالمی که عصاره دریافت می کردند، در مقایسه با زیر گروه کنترل سالم تفاوتی نداشت( نمودار شماره ۲).

فلاوونوئیدهاست<sup>(۲۴)</sup> لذا ممکن است که نقش عصاره در افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و بهبود سطح آنتی اکسیدانی پلاسما مربوط به فعالیت خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، بخصوص رادیکال‌های هیدروکسیل بوسیله غنای فلاوونوئیدی آن باشد. احتمال می‌رود که عصاره بطور مستقیم آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز را فعال کرده و یا باعث افزایش بیان ژن آن شود. در این مطالعه پاسخ آنتی اکسیدانی در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن نسبت به دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن کاهش یافته است. گلوکز از طریق اتوکسیدان و گلیکالسیون غیر آنزیمی پروتئین‌ها و تولید رادیکال‌های آزاد سبب کاهش سطح آنتی اکسیدان‌ها می‌گردد<sup>(۲۵)</sup> و در مطالعه‌ای نیز که بوسیله حسین زاده و همکارانش<sup>(۱۹)</sup> در رابطه با اثر آنتی هیپرگلیسمیک عصاره انجام گرفت، نشان داده شده است که با افزایش دوز، اثر عصاره بر میزان گلوکز خون کاهش می‌یابد، لذا احتمال می‌رود که پاسخ آنتی اکسیدان‌های کمتر در دوز بالاتر مربوط به این خاصیت باشد. از آنجا که در این مطالعه آنتی اکسیدان‌های تام پلاسما بتوان از این عصاره در تقویت دفاع آنتی اکسیدانی بیماران دیابتی استفاده کرد.

### نتیجه گیری

نتایج این مطالعه بیانگر آن است که در موشهای صحرایی دیابتی دفاع آنتی اکسیدانی کاهش یافته است و عصاره این دانه احتمالاً با تغییر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و بهبود وضعیت آنتی اکسیدان تام پلاسما، می‌تواند دفاع آنتی اکسیدانی را در موشهای صحرایی دیابتی افزاش دهد، اما جهت تأیید یافته‌ها، مطالعاتی چون بررسی بیان ژن این آنزیم و اجزای دفاع آنتی اکسیدانی چون گلوتاتیون در موشهای صحرایی دیابتی، بررسی اثر عصاره از طریق مطالعات کشت سلولی و لذا بیان این آنزیم در رده‌های سلولی خاص و در نهایت جداسازی ترکیبات موجود در عصاره مورد نیاز است تا بتوان به مکانیسم عمل آن پی‌برد.

آنزیم نسبتاً پایداری است اما گزارش شده است که این آنزیم در شرایط استرس اکسیداتیو شدید، غیرفعال می‌شود.<sup>(۱۵)</sup> Ugochukwo و همکارانش<sup>(۱۶)</sup> نشان دادند که سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و آنتی اکسیدان تام در موشهای صحرایی دیابتی افزایش می‌یابد. نتایج مطالعه Andallu<sup>(۱۷)</sup> و Sekeroglu<sup>(۱۸)</sup> و همکارانشان حاکی از آن است که در موشهای دیابتی سطح آنتی اکسیدان تام و میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز کاهش می‌یابد که نتایج مطالعه کنوی نیز کاهش این فاکتورها را در موشهای دیابتی نشان می‌دهد. از آنجایی که محققین مختلف بر روی بافت‌های متفاوتی کار کرده‌اند، روش دیابتی کردن، شدت دیابت و طول دوره بررسی متفاوت بوده است؛ لذا اختلاف در نتایج می‌تواند ناشی از شرایط متفاوت بررسی باشد.<sup>(۱۹)</sup> کاهش در فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز ممکن است ناشی از گلیکالسیون آنزیم‌های آنتی اکسیدانی بوسیله گلوکز باشد. اخیراً Grazler و همکارانش<sup>(۲۰)</sup> غیرفعال شدن گلوتاتیون پراکسیداز بوسیله پراکسی نیتریت که یک اکسیدان بالقوه است را نشان داده‌اند. اجزای تشکیل دهنده آنتی اکسیدان تام چون ویتامین E و گلوتاتیون، باعث برداشت رادیکال‌های آزاد از بدن می‌گردند، بنابراین کاهش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز موشهای دیابتی که در این مطالعه مشاهده شد، ممکن است پاسخی به کاهش میزان آنتی اکسیدان تام و لذا افزایش تولید  $H_2O_2$  و  $O_2^-$  بوسیله اتوکسیداسیون گلوکز و گلیکالسیون غیر آنزیمی باشد.<sup>(۲۱)</sup> در این مطالعه، تزریق عصاره، سطح فعالیت آنزیم و میزان آنتی اکسیدان تام پلاسما را افزایش داد. مطالعاتی که به بوسیله Soo-Yeul و همکارانش با عصاره آبی Dandelion<sup>(۲۲)</sup> و یا مواد فلاوونوئیدی انجام گرفته است، نشان‌دهنده افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و سطح آنتی اکسیدان تام در موشهای دیابتی می‌باشدند که این ترکیبات را دریافت کرده‌اند.

برخی از مطالعات نیز نشان داده‌اند که ترکیبات حاوی حلقه بنرنی و ترکیبات آروماتیک دیگر (مانند فلاوونوئیدها) ثابت سرعت واکنش بالایی جهت ترکیب با رادیکال هیدروکسیل دارند.<sup>(۲۳)</sup> از آنجایی که در مطالعه حاضر ترکیبات موجود در عصاره مورد آزمایش جداسازی نشده است، لذا اثرات ناشی از عصاره را نمی‌توان به ترکیب خاصی نسبت داد، اما چون عصاره این دانه غنی از

- 13- Anderson H R, Nielsen J, Nielsen F, Grandsean P. Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. Clinical chemistry 1997; 43:562-8.
- 14- Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. Analytical Biochemistry 1996; 239: 70-76.
- 15- Condell R A, Tapell A L. Evidence for suitability of glutathione peroxidase as a protective enzyme: studies of oxidative damage, restoration, and proteolysis. Arch Biochem Biophys 1983; 223: 407-16.
- 16- Ugochukwu N H, Cobourn M K. Modification of renal oxidative stress and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats treated with extracts from Gongronema Latifolium leaves. Clin Chim Acta 2003; 336: 73-81.
- 17- Andallu B, Varadacharyulu N C H. Antioxidant role of mulberry (*Morus indica* L. CV. Anantha)leaves in streptozotocin-diabetic rats. Clin Chem Acta 2003; 338: 3-10.
- 18- Sekeroglu MR, Sahin H, Dulger H, Algun E. The effect of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase and glutathione peroxidase, and serum lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. Clin Biochem 2000; 33: 669-74.
- 19- Armstrong A M, Chestnutt J E, Gormly M Y, Young I S. The effect off Dietary treatment on lipid peroxidation and antioxidant status in newly diagnosed on-insulin dependent diabetes. Free Radic Biol Med 1996; 21: 719-26.
- 20- Grzelka A, Sosynski M, Bartosz G. Inactivation on Antioxidant enzymes by peroxinitrite. Scand J Clin Lab invest 2000; 6(4): 253-8.
- 21- Aragno M, Brignardello E, Tamagno O, Bocuzzi G. Dehydroepiandrosterone administration prevents the oxidative damage induced by acute hyperglycemia in rates. J Endocrinol 1997; 155: 233-40.
- 22- Soo-Yeul C, Ji-Yeon P, Eun-Mi P, Myung-Sook C, Mi-Kyung L, Seon-Min J, et al. Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in STZ induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. Clinica Chim Acta 2002; 317: 109-17.
- 23- Chakravathy B K, Gupta S, Gambhir S S, Gode KD. The prophylactic action of (-)- epicatechin against alloxan-induced diabetes in rats. Life Sci 1981; 29: 2043-7.
- 24- Porchezhani E, Ansari S H. Effect of Securigera Seuridaca on blood glucose levels of normal and alloxan-induced diabetic rats. Pharmaceutical Biology 2001; 39: 6-64.

## تقدیر و تشکر

نویسندهای این مقاله بر خود لازم می دانند که از همکاری پرسنل محترم بخش بیوشیمی و مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران تشکر و قدردانی نمایند.

## فهرست منابع

- 1- Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames EN, Saul RL. Oxygen free radicals and human disease. Ann intern Med 1987; 107:526-45.
- 2- Liu Y, Guterman D D. The coronary circulation in diabetes: vasodilation. Vascul pharmacol 2002;38(1): 43-9.
- 3- Jenette S J, Alex K H, David J R, Adviye E. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practis. Cardiovascular diabetology 2005;4: 2840-5.
- 4- Vega-Lopez S, Devaraj S, Jialal I. Oxidative stress and antioxidant supplementation in the management of diabetic cardiovascular disease. J investing Med 2004; 2(1):24-32.
- 5- Sunde R A, Hoekstra WG. Structure, Synthesis and function of glutathione peroxidase. Nutrition Reviews 1980; 38: 265-73.
- 6- Pyrala K, Laakso M, Usitupa M. Diabetes and other osclerosis: an epidemiological view. Diabetes Metab Rev 1987; 3(2): 463-524.
- 7- WHO Expert committee on diabetes mellitus. Second report, World Health organization Technical report series 1980; 646.
- ۸- قهرمان احمد، فلور ایران، چاپ دوم، تهران، انتشارات جهاد کشاورزی، ۱۳۷۸، جلد ۱۲، صفحه: ۷۵۶-۷
- 9- Hosseinzadeh H, Ramazani M, Danaei R. Antihyperglycemic effect and acute toxicity of S.S L Seed entracts in mice. Phytother Res 2002;16:745-7.
- 10- Siddique O, Sun Y, Lin J C, Chien Y W. Facilitated transdermal transport of insulin. J Pharm Sci 1987; 76: 341-5.
- 11- Litchfield J T, Wilcoxon E. A simplified method of evaluating dose effects experiments. J Pharmacol Exp Ther 1994;96:99-113.
- 12- Paglia D E, Valentine W N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clinl Med 1967; 70: 158-69.

# *Changes in Erythrocyte Glutathione Peroxidase Activity and Plasma Total Antioxidant Level due to Securigera Securidaca Extract in Diabetic Rats*

/      A. Roostazadeh Miandeh, MS

//      \*M. Firoozrai, PhD

///      M. Sha'bani, PhD

## *Abstract*

**Background & Aim:** Reactive oxygen species can affect many cellular functions through protein oxidation or initiation of lipid peroxidation cascade. The study was designed to investigate changes in erythrocyte glutathione peroxidase activity and plasma total antioxidant level due to Securigera Securidaca extract in diabetic rats.

**Material and Methods:** The present experimental study was carried out on 30 male rats scientifically named Ratus Norvegicus, including normal and diabetic groups. In addition , each group was divided into three subgroups (5 rats per each): a control group and two subgroups which received 100mg/kg and 200 mg/kg of the extract. The rats received all the injections intraperitoneally for thirty days . After the termination of injection period, blood was drawn from the heart and glutathione peroxidase activity and plasma total antioxidant levels were assessed. Statistical differences were evaluated by ANOVA and Students' t- test .

**Results:** Glutathione peroxidase activity in diabetic subgroups treated at doses of 100mg/kg and 200mg/kg was heightened in comparison to the diabetic control subgroup( $P=0.01$  and  $P=0.004$  respectively). Plasma total antioxidant level in diabetic subgroups treated at doses of 100 mg/kg and 200mg/kg was increased compared to the diabetic control subgroup ( $P=0.005$ and  $P=0.035$  respectively).

**Conclusion:** Securigera Securidaca extract probably increases antioxidant defense in diabetic rats by making changes in glutathione peroxidase activity and plasma total antioxidant level.

**Key Words:** 1) Securigera Securidaca    2) Glutathione peroxidase    3) Diabetes

4) Total antioxidant

---

This article is an abstract of Mr. Roostazadeh Miandeh's thesis advised by Dr. Firoozrai and read by Dr. Sha'bani in partial fulfillment of an MS degree in biochemistry.

I) MS in Biochemistry. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran. Iran.

II) Professor of Biochemistry.Iran Research Center of Molecular and Cellular Sciences. Faculty of Medicine. Shahid Hemmat Expressway. Shahid Chamran Crossroads. Iran University of Medical Sciences and Health Services.Tehran, Iran. (\*Corresponding Author)

III) Assistant Professor of Biochemistry. Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.