©2017 ASP Ins., *Afarand Scholarly Publishing Institute, Iran*
ISSN: 2252-0805 *Horizon of Medical Sciences 2017;23(2):149-155. DOI: 10.18869/acadpub.hms.23.2.149*

Effect of Aqueous Extract of Launaea acanthodes on DNA Oxidative Damage and Antioxidant Enzymes Activities in Diabetic Rats Testes Tissue

ARTICLE INFO

Article Type
Original Research

Authors
Tafakkor S.[1] *MSc*,
Sadoughi S.D.* *PhD*,
Rahbarian R.[1] *PhD*

How to cite this article
Tafakkor S, Sadoughi SD, Rahbarian R. Effect of Aqueous Extract of Launaea acanthodes on DNA Oxidative Damage and Antioxidant Enzymes Activities in Diabetic Rats Testes Tissue. Horizon of Medical Sciences. 2017;23(2):149-155.

*Young Researchers and Elite Club, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
[1]Biology Department, Sciences Faculty, Tehran Branch, Payam-e-Noor University, Tehran, Iran

Correspondence
Address: Biology Department, Sciences Faculty, Payam-e-Noor University, Mo'allem Boulevard, Mashhad, Iran. Post Box: 91735-433
Phone: +98 (51) 38683900
Fax: +98 (51) 38683001
damoon.sadoughi@mshdiau.ac.ir

Article History
Received: June 14, 2016
Accepted: July 25, 2016
ePublished: March 25, 2017

ABSTRACT

Aims Oxidative stress plays an important role in the initiation and progression of diabetes. Noticing the antioxidant and antidiabetes effects of Launaea acanthodes, the aim of the study was to determine the effects of the aqueous extract of the herb on DNA oxidative damage and the activities of antioxidant enzyms in the testicular tissue of diabetic rats.

Materials & Methods In the experimental study, 32 male Wistar rats were studied. The rats were randomly divided into four 8-rat groups including healthy control, diabetic control, and experimental diabetic groups treated by aqueous extract of Launaea acanthodes. Diabetes was induced in diabetic control and diabetic experimental groups via one alloxan intraperitoneal injection. 100 and 200mg/Kg aqueous extract of Launaea acanthodes were injected as intraperitoneal in diabetic experimental groups at alternate days for one month, while the control groups received only strile distilled water via injection. At the end of the study, the activities of antioxidant enzyms and the levels of 8-hydroxydeoxyguanosine and malondialdehyde were assessed in the testicular tissue. Data was analyzed by SPSS 20 software using one-way ANOVA and Tukey's post-hoc tests.

Findings The tissue activities of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase enzymes significantly increased in the experimental groups treated by 100 and 200mg/Kg aqueous extract of Launaea acanthodes as dose-dependent compared to diabetic control group, while the levels of 8-hydroxideoxiguanosine and malondialdehyde significantly decreased ($p<0.05$).

Conclusion Dose-dependent administration of aqueous extract of Launaea acanthodes increases the antioxidant capacity, while reducing lipidic peroxidation and DNA oxidative damage in the testicular tissue of rats.

Keywords Diabetes Mellitus; Launaea acanthodes; Testis; Oxidative Stress; DNA; Rats

CITATION LINKS

[1] Life and death of β cells in Type 1 diabetes ... [2] Effect of root kudzu on biochemical parameters in streptozotocin ... [3] The role of free radicals, oxidative stress and antioxidant ... [4] Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies ... [5] Replicative capacity of β-cells and ... [6] Oxidative stress, free radicals and protein ... [7] The effects of aqueous extract of Launaea acanthodes on oxidative ... [8] Urinary 8-OHdG: A marker of oxidative stress to DNA ... [9] Detection of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) levels ... [10] The effects of hydro- alcoholic extract of Launaea ... [11] Extraction and structural characterization of the polysaccharide ... [12] Anticonvulsant activity of ethanolic extract and aqueous ... [13] Effect of aqueous extract of Launaea acanthodes on testicular ... [14] The effect of aqueous extract of Launaea ... [15] Investigating the effects of hydro-alcoholic extract of ... [16] Effect of aqueous extract of Launaea acanthodes on open skin wound ... [17] The effect of aqueous extracts of Melissa officinalis ... [18] The effect of hydroalcoholic extract ... [19]Effect of chronic administration of Silymarin ... [20] Evaluating oxidative stress factors induced by chlorpyrifos poisoning... [21] Effects of hydroalcoholic extract of propolis on oxidative ... [22] Hemopexin is up-regulated in plasma from type 1 diabetes ... [23] Extracellular superoxide dismutase ameliorates ... [24] Vitamin K1 alleviates streptozotocin-induced type 1 diabetes ... [25] Effect of garlic aqueous extract on markers of oxidative stress in diabetic ... [26] Oxidative damage to DNA and lipids: Correlation with protein glycation in patients ... [27] Maternal diabetes triggers DNA damage and DNA damage response in neurulation stage embryos ... [28] Lipid peroxidation and antioxidant protection ... [29] Effect of alcoholic extract of euphorbia cyparissias on serum ... [30] Effect of alcoholic extract of Euphorbia cyparissias on the brain ... [31] Study of the effects of hyperglycemia ...

Copyright© 2017 ASP Ins. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

اثر عصاره آبی چرخه بر آسیب اکسیداتیو DNA و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی

ثمانه تفکر MSc
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد تهران، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
سیددامون صدوقی* PhD
باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
راهله رهباریان PhD
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد تهران، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

چکیده
اهداف: استرس اکسیداتیو در شروع و پیشرفت بیماری دیابت نقش بسیار مهمی دارد. با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی و ضددیابتی گیاه چرخه، هدف این مطالعه تعیین اثر عصاره آبی گیاه چرخه بر آسیب اکسیداتیو DNA و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی بود.
مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی به چهار گروه ۸تایی؛ شاهد سالم، شاهد دیابتی و گروه‌های دیابتی تجربی تحت تیمار با عصاره آبی گیاه چرخه تقسیم شدند. دیابت در گروه‌های شاهد دیابتی و دیابتی تجربی، با یک‌بار تزریق داخل‌صفاقی آلوکسان القا شد. عصاره آبی گیاه چرخه (با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم) یک روز در میان به‌مدت یک ماه به‌صورت داخل‌صفاقی به گروه‌های دیابتی تجربی تزریق شد، ولی به گروه‌های شاهد فقط آب مقطر استریل تزریق شد. در پایان دوره، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، همچنین میزان ۸-هیدروکسی‌داکسی گوانوزین و مالون‌دی‌آلدئید در بافت بیضه مورد سنجش قرار گرفت. اطلاعات توسط نرم‌افزار آماری SPSS 20 و آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.
یافته‌ها: فعالیت بافتی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز و کاتالاز در گروه‌های دیابتی تجربی تیمارشده با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی گیاه چرخه به‌صورت وابسته به دوز در مقایسه با گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش و میزان ۸-هیدروکسی‌داکسی‌گوانوزین و مالون‌دی‌آلدئید به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$).
نتیجه‌گیری: تجویز وابسته به دوز عصاره آبی گیاه چرخه باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب اکسیداتیو DNA در بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود.
کلیدواژه‌ها: دیابت، چرخه، بیضه، استرس اکسیداتیو، DNA، موش صحرایی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۵/۰۴
*نویسنده مسئول: damoon.sadoughi@mshdiau.ac.ir

مقدمه

دیابت ناشی از اختلال در متابولیزم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها است که با افزایش قند خون ناشی از عدم تولید انسولین یا مقاومت به انسولین ایجاد می‌شود. در این بیماری انسولین اگزوژن برای کنترل هیپرگلیسمی و دیگر علایم دیابت نیاز است. همچنین نوسان بین شرایط هیپوگلیسمی و هیپرگلیسمی در این بیماری شایع است[1].

افزایش قند خون از چند مسیر استرس اکسیداتیو را القا می‌نماید که می‌توان به عدم تعادل اکسیداسیون و احیا، افزایش فعالیت آلدوز ردوکتاز، افزایش محصولات نهایی گلیکوزیلاسیون، تغییر در فعالیت پروتئین‌کیناز C، اختلال در تعادل پروستانوئیدها و افزایش تولید سوپراکسیدهای میتوکندریایی اشاره کرد[2]. با بررسی پاتوفیزیولوژی عوارض دیابت مشخص شد استرس اکسیداتیو در شروع و پیشرفت بیماری دیابت نقش بسیار مهمی دارد. کمبود آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی یا تجمع بیش از حد رادیکال‌های آزاد ممکن است منجر به اختلال در تعادل اکسیدان و آنتی‌اکسیدان‌های درون‌سلولی شود. تجمع رادیکال‌های آزاد منجر به پیشرفت بیماری دیابت می‌شود و عوارض ثانویه آن تشدید می‌یابد[3]. دیابت با ایجاد رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو منجر به اکسیداسیون DNA، لیپیدها، پروتئین‌ها و اختلال در DNA میتوکندریایی می‌شود[4]. با توجه به بیان نسبتاً پایین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX) در سلول‌های بتای پانکراس، تجمع رادیکال‌های آزاد درون‌سلولی منجر به حساسیت و آسیب‌پذیربودن این سلول‌ها نسبت به شرایط استرس اکسیداتیو می‌شود. بنابراین در صورت عدم کنترل دیابت و افزایش قند خون استرس اکسیداتیو افزایش یافته و باعث کاهش بیان ژن انسولین و ترشح آن می‌شود[5].

قرارگرفتن در معرض رادیکال‌های آزاد باعث شده است تا موجودات به‌منظور توسعه مکانیزم‌های دفاعی خود دارای سیستم آنتی‌اکسیدانی باشند. آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند به‌عنوان ماده‌ای تعریف شوند که در مواجهه با اکسیدان‌ها به‌طور قابل توجهی مانع اکسیداسیون شده یا میزان اکسیداسیون را کاهش می‌دهند. مکانیزم دفاعی سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد شامل مکانیزم‌های پیشگیری‌کننده، ترمیم‌کننده و دفاع آنزیمی است[6]. دفاع آنزیمی شامل آنزیم‌هایی مانند سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون-اس-ترانسفراز (GST)، گلوتاتیون‌پراکسیداز، کاتالاز، پروکسی‌ردوکسین (PRX)، تیوردوکسین و متالوتیونین‌ها (MTs) است[7].

مشخص شده است لیپیدها از مهم‌ترین ملکول‌هایی هستند که مورد تهاجم رادیکال‌های آزاد قرار می‌گیرند. وقتی اسیدهای چرب غیراشباع تحت تاثیر رادیکال‌های آزاد قرار گیرند، یك سری واکنش‌های زنجیره‌ای منجر به تشکیل لیپیدهای الکترون‌دوست و پراکسیداسیون لیپیدی می‌شوند. در اثر پراکسیداسیون لیپیدی، مالون‌دی‌آلدئید (MDA) که یکی از سمی‌ترین انواع آلدئید است به‌وجود آمده و منجر به آسیب‌های سلولی و بافتی می‌شود. یکی از شاخص‌های بررسی استرس اکسیداتیو، مالون‌دی‌آلدئید است و میزان آسیب‌پذیری لیپیدها در برابر اکسیداسیون و رادیکال‌های آزاد را نشان می‌دهد[7].

تحقیقات نشان داده است از بین بازهای پورینی و پیریمیدینی، گوانین برای اکسیداسیون استعداد بیشتری دارد. به‌طوری که در نتیجه حمله رادیکال‌های هیدروکسیل به موقعیت هشتم مولکول گوانین، ترکیبی به‌نام ۸-هیدروکسی‌داکسی‌گوانوزین (8-OHdG) تولید می‌شود[8]. این ترکیب موتاژنیك در نتیجه فرآیندهای ترمیم DNA تولید می‌شود و به‌عنوان یک فاکتور مهم استرس اکسیداتیو و محصول ترمیم DNA مد نظر است. با توجه به اینکه 8-OHdG تعادل دینامیک بین آسیب اکسیداتیو DNA و سرعت ترمیم آن را نشان می‌دهد، اندازه‌گیری این ترکیب در ارزیابی آسیب DNA حایز اهمیت است[9].

امروزه با توجه به عوارض جانبی داروهای شیمیایی، مطالعه روی گیاهان مورد استفاده در طب سنتی با هدف رسیدن به ترکیبات جدید و موثر در اولویت قرار گرفته است. بسیاری از گیاهان دارویی منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که می‌توانند اثرات ناشی از اکسیدان‌ها و عوارض برخی از بیماری‌ها را کاهش دهند. اثر هیپوگلیسمی بسیاری از گیاهان دارویی در مدل‌های حیوانی و

مطالعات بالینی بررسی و مورد تایید قرار گرفته است و نیز تحقیقات در این زمینه همچنان ادامه دارد.

یکی از گیاهان دارویی که تحقیقات زیادی روی اثرات هیپوگلیسمی آن انجام شده است، گیاه چرخه است. این گیاه از خانواده *آستراسه* با نام علمی *لائونا آکانتودس* (*Launaea acanthodes*)، گیاهی چندساله، بوته‌ای، بیابانی، دارای شاخک‌های انبوه و ساقه‌ای بدون کرک و مقاوم است که در مناطق نسبتاً کم‌آب از قبیل قسمت‌هایی از خراسان رضوی، خراسان جنوبی، کرمان و مناطق مرکزی (کویری) ایران می‌روید. ساقه این گیاه به‌عنوان یك داروی گیاهی موثر در درمان صرع، اختلالات عصبی، دردهای موضعی و مفصلی، اختلالات معده‌ای روده‌ای، دیابت و کاهش قند خون استفاده می‌شود[10]. در عصاره این گیاه ترکیباتی از قبیل فلاونوئید، ترپنوئید، ساپونین، آلکالوئید، تانن، پلی‌ساکارید و منوساکاریدهایی نظیر آرابینوز، مانوز و مشتقات اسیدگلوکورونیک نیز شناسایی شده است[11]. از عصاره ساقه گیاه چرخه ترکیبات فلاونوئیدی تخلیص شده است. با توجه به اینکه فلاونوئیدها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان قادر به کاهش سطح رادیکال‌های آزاد سلولی هستند می‌توان از آنها در کاهش اثرات مخرب دیابت استفاده نمود[12].

در مطالعه‌ای مشخص شد عصاره آبی گیاه چرخه با غلظت ۳۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌تواند با تاثیر بر بافت بیضه موجب کاهش آتروفی لوله‌های اسپرم‌ساز در موش‌های صحرایی دیابتی شود و با بهبود پارامترهای اسپرمی و افزایش تعداد اسپرم، عوارض ناشی از دیابت در اسپرم و بافت بیضه را کاهش دهد[13]. همچنین مشخص شد تجویز عصاره آبی گیاه چرخه با غلظت ۳۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش‌های صحرایی دیابتی می‌تواند از طریق افزایش در تعداد و حجم جزایر لانگرهانس که احتمالاً در نتیجه هیپرتروفی و هیپرپلازی سلول‌های بتا است، موجب افزایش ترشح انسولین شود[14]. گزارش شده است تجویز عصاره آبی- الکلی گیاه چرخه در کاهش قند خون موثر است و نیز اثرات هیپوگلیسمیک عصاره گیاه چرخه احتمالاً ناشی از تحریک سنتز و ترشح انسولین یا هیپرپلازی سلول‌های بتای پانکراس است و اثرات مشاهده‌شده ممکن است به خواص آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فلاونوئیدی آن مربوط باشد[15]. همچنین مشخص شده است عصاره گیاه چرخه با غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت وابسته به دوز موجب بهبود شاخص‌های استرس اکسیداتیو گلبول‌های قرمز موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود[7]. تحقیقات نشان داد عصاره آبی گیاه چرخه با سرعت‌بخشیدن به فرآیند التهابی، افزایش تکثیر سلول‌های اپی‌تلیومی و افزایش تشکیل عروق خونی، نقش موثری بر روند ترمیم زخم و افزایش درصد بهبودی زخم‌های دیابتی دارد[16].

همان طور که ذکر شد استفاده از گیاه چرخه می‌تواند در کاهش قند خون و بهبود برخی عوارض دیابت موثر باشد. با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی و ضددیابتی گیاه چرخه، این مطالعه با هدف تعیین اثر عصاره آبی گیاه چرخه بر آسیب اکسیداتیو DNA و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در آزمایشگاه تحقیقاتی جانوری گروه زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور مرکز مشهد در سال ۱۳۹۴ انجام شد.

حیوانات آزمایشگاهی: برای انجام مطالعه از ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۱۸±۱۵۵گرم استفاده شد. حیوانات در دمای تقریبی ۲۵°C-۲٤، رطوبت نسبی ٤۰-۳۵% و دوره روشنایی-تاریکی ۱۲ساعته نگه‌داری شدند. حیوانات در قفس‌های استاندارد پلی‌کربنات شفاف (شرکت رازی راد؛ ایران) قرار داشتند و آب به‌مقدار کافی توسط بطری شیشه‌ای در اختیار آنها قرار داده شد و از غذای فشرده مخصوص موش آزمایشگاهی با فرمولاسیون استاندارد (شرکت دانه‌داران توس؛ ایران) تغذیه نمودند. به‌منظور حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایش‌ها حداقل ۱۰ روز پس از استقرار حیوانات به‌انجام رسید[13]. موش‌های صحرایی به‌طور تصادفی به چهار گروه ۸تایی شامل؛ گروه شاهد سالم، گروه شاهد دیابتی و گروه‌های دیابتی تجربی تحت تیمار با عصاره آبی گیاه چرخه تقسیم شدند.

نمونه‌های گروه شاهد سالم و شاهد دیابتی به‌مدت یک ماه به‌صورت یک روز در میان به‌روش داخل‌صفاقی آب مقطر استریل (شرکت داروسازی ثامن؛ ایران) دریافت نمودند. این عمل به‌منظور یکسان‌نمودن شوك حاصل از تزریق انجام گرفت. گروه‌های دیابتی تجربی به‌مدت یک ماه و یک روز در میان[14] عصاره آبی گیاه چرخه را به‌صورت داخل‌صفاقی با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند.

روش عصاره‌گیری گیاه چرخه: اندام هوایی (ساقه و برگ) گیاه چرخه در حد فاصل جاده مشهد به نیشابور جمع‌آوری شد. نمونه‌های گیاهی پس از جمع‌آوری، توسط هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه پیام نور شناسایی و تایید شدند. گیاه چرخه پس از طی مراحل خشك‌شدن در سایه در دمای ۳۶±۳°C، توسط آسیاب خرد شد. عصاره آبی گیاه چرخه با استفاده از دستگاه سوکسله (Electrothermal؛ انگلستان) تهیه شد. ابتدا ۵۰گرم پودر خشک‌شده گیاه چرخه داخل کاغذ کارتوش ریخته و در دستگاه قرار داده شد. سپس ٤۰۰میلی‌لیتر آب مقطر به‌عنوان حلال در داخل بالن دستگاه ریخته شد. آب مقطر توسط گرم‌کن دستگاه به‌جوش می‌آید و در نهایت موجب جداسازی عصاره گیاه چرخه می‌شود. مبرد، کار سردکردن بخارات اضافی را برعهده دارد. بنابراین کاهش حجم محلول بسیار آهسته است. پس از حدود ۱۰ ساعت مایع نسبتاً غلیظی در ته بالن جمع شد. با حذف حلال در دمای ٤۰°C عصاره تام استخراج شد. پس از حذف حلال، عصاره با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به موش‌های صحرایی دیابتی تزریق شد[14].

روش ایجاد دیابت نوع یک: مدل تجربی دیابت (دیابت وابسته به انسولین) در موش صحرایی با یك‌بار تزریق داخل‌صفاقی آلوکسان‌مونوهیدرات (سیگما- آلدریچ؛ آلمان) به‌میزان ۱۲۰میلی‌گرم بر کیلوگرم ایجاد شد. همچنین بافر سیترات (pH=۵/٤) به‌عنوان حلال آلوکسان مورد استفاده قرار گرفت. آلوکسان به گروه شاهد دیابتی و گروه‌های دیابتی تجربی تحت تیمار با عصاره چرخه تزریق شد. مطالعه روی دیابت مزمن است، به همین دلیل حدود ۳۰ روز پس از تزریق آلوکسان و القای دیابت تجربی، برای تایید آن از ورید دمی خونگیری صورت گرفت و قند خون توسط دستگاه گلوکومتر (EasyGluco؛ کره جنوبی) اندازه‌گیری شد. قند خون بالای ۳۰۰میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی‌شدن و روز صفر آزمایش در نظر گرفته شد[16].

تهیه هموژن بافتی: در پایان دوره تزریق و به‌دنبال ۱۲ ساعت ناشتایی، موش‌های صحرایی با دی‌اتیل‌اتر (مرک؛ آلمان) بی‌هوش شدند و بافت بیضه از بدن خارج شده، پس از شست‌وشو با محلول

سالین به‌همراه بافر تریس به‌مدت ۲ دقیقه با دستگاه هموژنایزر (IKA Ultra turrax T25 digital؛ آلمان) با ۵۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه و سپس سانتریفوژ (Hermle Z366؛ آلمان) شد. برای جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها، تمامی مراحل در دمای ۴°C (سانتریفوژ یخچال‌دار) انجام گرفت و از محلول ۰/۵میلی‌مولار فنیل‌متیل‌سولفونیل‌فلوراید (سیگما- آلدریچ، آلمان) به‌عنوان مهارکننده پروتئازها استفاده شد. پس از انجام سانتریفوژ، محلول رویی شفاف از بقیه محلول جدا شد، بخش زیرین رسوب‌کرده دور ریخته شد و محلول شفاف رویی برای سنجش مورد استفاده قرار گرفت[17].

سنجش مالون‌دی‌آلدئید (MDA): اساس این روش، واکنش مالون‌دی‌آلدئید با تیوباربیتوریک‌اسید در دمای جوش است. در این آزمایش مالون‌دی‌آلدئید با تیوباربیتوریک‌اسید واکنش داده و رنگ صورتی ایجاد می‌شود که بیشترین جذب نوری آن در طول موج ۵۳۲نانومتر است. این واکنش در pH=۲-۳، دمای ۹۰°C و به‌مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. برای این کار از نمونه‌های سانتریفوژشده به‌مقدار ۱۵۰میکرولیتر برداشته و به ۱/۵میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید و ۱/۵میلی‌لیتر تیوباربیتوریک‌اسید اضافه شد و تمامی نمونه‌ها و لوله‌های استاندارد با رقت‌های مختلف به‌مدت ۸۰ دقیقه در بن‌ماری ۹۰°C (Paatariyaco BS؛ ایران) قرار داده شد تا واکنش صورت گیرد. سپس محلول با ۳۰۰۰ دور و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد و جذب نوری آن در طول موج ۵۳۲نانومتر در مقابل بلانک معرف توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Aqualytic AL800؛ آلمان) بررسی شد. منحنی استاندارد براساس رقت‌های تترا- اتوکسی پروپان تهیه و جذب‌های نوری به‌دست‌آمده با منحنی استاندارد تطبیق داده شد. نتایج بر حسب نانومول در میلی‌گرم پروتئین بافتی گزارش شد[17].

سنجش ۸-هیدروکسی‌داکسی‌گوانوزین (8-OHdG): غلظت بافتی ۸-هیدروکسی‌داکسی‌گوانوزین توسط کیت الایزا (Gentaur؛ بلژیک) اندازه‌گیری شد. در این روش محلول هموژن تهیه‌شده با محلول آنتی‌بادی اولیه در چاهک‌هایی که قبلاً با 8-OHdG پوشیده شده بود به‌مدت یک ساعت انکوبه شد. در این زمان آنتی‌بادی به‌صورت رقابتی برای اتصال با 8-OHdG در نمونه و چاهک عمل می‌کند. آنتی‌بادی‌های متصل‌نشده شست‌وشو داده شد. آنتی‌بادی دوم به محیط اضافه شد که به آنتی‌بادی‌های متصل به 8-OHdG در چاهک متصل می‌شود. آنتی‌بادی‌های ثانویه متصل‌نشده نیز شست‌وشو داده شد. سپس محلول کروماتیک و محلول رقیق‌کننده، اضافه و به‌مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شد. در نهایت، محلول خاتمه واکنش اضافه شده و در طول موج ۴۵۰نانومتر بررسی شد. مقادیر این ترکیب با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب نانوگرم در میلی‌گرم پروتئین بافتی به‌دست آمد[18].

سنجش آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD): فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز با استفاده از کیت مخصوص (شرکت راندوکس؛ انگلستان) و براساس روش موجود در دفترچه راهنمای شرکت سازنده کیت و با کمک دستگاه فتومتر بیوشیمی (Stat Fax 2100؛ ایالات متحده) اندازه‌گیری شد. برای تعیین غلظت پروتئین از روش برادفورد استفاده شد. برای این منظور ۲میلی‌لیتر از محلول برادفورد به ۴۰میکرولیتر از محلول هموژنیزه بافتی اضافه شده و به‌مدت ۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه انکوبه شد. سپس در طول موج ۵۹۵نانومتر و در مقابل بلانک معرف، جذب آن بررسی شد. با انطباق درصد مهار روی منحنی استاندارد، فعالیت آنزیم به‌دست آمد و فعالیت آن بر حسب واحد بین‌الملل در میلی‌گرم پروتئین بافتی گزارش شد[19].

سنجش آنزیم کاتالاز (CAT): فعالیت آنزیم کاتالاز براساس تجزیه پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) در طول موج ۲۴۰نانومتر اندازه‌گیری شد. واکنش با اضافه‌کردن ۳۰میلی‌مولار پراکسیدهیدروژن به حجم مناسبی از هموژن بافتی در بافر فسفات‌سدیم ۵۰میلی‌مولار (pH=۷) انجام شد. سپس جذب نوری طی ۳ دقیقه در طول موج ۲۴۰نانومتر بررسی و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد بین‌الملل در میلی‌گرم پروتئین بافتی محاسبه شد[20].

سنجش آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX): در این روش از کیت زل‌بایو (ZellBio؛ آلمان) استفاده شد. آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز، واکنش اکسیداسیون گلوتاتیون را توسط کومن هیدروپراکسید کاتالیز می‌نماید. در حضور آنزیم گلوتاتیون‌ردوکتاز و NADP (نیکوتین‌آمید آدنین دی‌نوکلئوتید فسفات)، گلوتاتیون اکسیدشده مجدداً به گلوتاتیون احیا تبدیل می‌شود که این احیا با اکسیداسیون همزمان NADPH به $NADP^+$ همراه است. در این واکنش کاهش جذب نوری در طول موج ۳۴۰نانومتر اندازه‌گیری شد. جذب به‌دست‌آمده در فاکتور قیدشده در دستورالعمل کیت ضرب شد و میزان فعالیت آنزیم بر حسب واحد بین‌الملل در میلی‌گرم پروتئین بافتی گزارش شد[21].

اطلاعات به‌دست‌آمده توسط نرم‌افزار آماری SPSS 20 تجزیه و تحلیل شد. با توجه به اینکه نتایج به‌دست‌آمده کمی است، ابتدا فرض نرمال‌بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف- اسمیرنوف برقرار شد. برای مقایسه میانگین بین گروه‌های مورد آزمایش، آنالیز واریانس یک‌طرفه و برای مقایسه زوج گروه‌ها آزمون تعقیبی توکی مورد استفاده قرار گرفت. همچنین نتایج به‌دست‌آمده به‌همراه محاسبات آماری مربوطه به‌صورت میانگین آماری گزارش شد.

جدول ۱) مقایسه میانگین آماری میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان ۸-هیدروکسی‌داکسی‌گوانوزین و مالون‌دی‌آلدئید در بافت بیضه به تفکیک گروه (تعداد در هر گروه= ۸ سر)

گروه شاهد سالم	گروه شاهد دیابتی	گروه دیابتی با ۱۰۰میلی‌گرم عصاره	گروه دیابتی با ۲۰۰میلی‌گرم عصاره
۸-هیدروکسی‌داکسی‌گوانوزین (نانوگرم در میلی‌گرم پروتئین بافتی)			
۰/۱۹±۰/۰۵	^{a}۰/۹۴±۰/۲۱	^{b}۰/۴۰±۰/۱۵	^{bc}۰/۲۷±۰/۱۰
مالون‌دی‌آلدئید (نانومول در میلی‌گرم پروتئین بافتی)			
۲/۰۰±۰/۲۵	^{a}۱۱/۸۵±۲/۷۰	^{b}۶/۵۱±۲/۰۸	^{bc}۴/۳۴±۱/۶۹
سوپراکسیددیسموتاز (واحد بین‌الملل در میلی‌گرم پروتئین بافتی)			
۸/۴۱±۳/۰۷	^{a}۱/۸۱±۰/۴۷	^{b}۳/۴۹±۱/۲۹	^{bc}۵/۵۰±۲/۶۳
گلوتاتیون‌پراکسیداز (واحد بین‌الملل در میلی‌گرم پروتئین بافتی)			
۷/۷۶±۲/۲۴	^{a}۲/۳۸±۰/۵۱	^{b}۳/۵۵±۱/۳۴	^{bc}۴/۶۰±۱/۲۷
کاتالاز (واحد بین‌الملل در میلی‌گرم پروتئین بافتی)			
۹/۰۰±۳/۳۸	^{a}۲/۶۳±۰/۸۳	^{b}۳/۹۱±۰/۷۷	^{bc}۵/۴۰±۱/۹۷

a: $p<0/05$ در مقایسه با گروه شاهد سالم؛ b: $p<0/05$ در مقایسه با گروه شاهد دیابتی؛ c: $p<0/05$ در مقایسه با گروه دیابتی تیمارشده با غلظت ۱۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه چرخه

یافته‌ها

میزان فعالیت بافتی آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز و کاتالاز، در گروه شاهد دیابتی در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری کاهش و میزان ۸-هیدروکسی‌داکسی‌گوانوزین و مالون‌دی‌آلدئید به‌طور معنی‌داری افزایش یافت.

فعالیت بافتی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز و کاتالاز در گروه‌های دیابتی تجربی تیمارشده با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی گیاه چرخه به‌صورت وابسته به دوز در مقایسه با گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش و میزان ۸-هیدروکسی‌داکسی‌گوانوزین و مالون‌دی‌آلدئید به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

همچنین میزان فعالیت بافتی آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز و کاتالاز و نیز میزان بافتی ۸-هیدروکسی‌داکسی‌گوانوزین و مالون‌دی‌آلدئید بین دو گروه دیابتی تجربی تیمارشده با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی گیاه چرخه دارای اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۱).

بحث

در پژوهش حاضر، اثر عصاره آبی گیاه چرخه بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز و کاتالاز، همچنین میزان ۸-هیدروکسی‌داکسی‌گوانوزین و مالون‌دی‌آلدئید بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی نوع یک مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش میزان فعالیت بافتی آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز و کاتالاز، در گروه شاهد دیابتی در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. با توجه به تحقیقات انجام‌شده گزارش شده است دیابت و افزایش مزمن قند خون با افزایش تجمع گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS)، منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در انواع سلول‌های بدن می‌شود[22]. تحقیقات نشان داد مهم‌ترین دلیل افزایش سلولی رادیکال‌های آنیونی سوپراکسید، کاهش فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی است[23]. نتایج پژوهشی حاکی از کاهش دفاع آنزیمی در افراد دیابتی در مقایسه با افراد طبیعی است. همچنین گزارش شد تولید رادیکال‌های آزاد در افراد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد[24]. در پژوهشی مشخص شد، دیابت فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون‌پراکسیداز را نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. همچنین عنوان شد کاتالاز که یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مهم در سم‌زدایی رادیکال‌های آزاد است، در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری یافت[25]. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های اخیر مطابقت دارد، زیرا در موش‌های صحرایی دیابتی احتمالاً افزایش رادیکال‌های آزاد باعث تضعیف سیستم آنتی‌اکسیدانی، در نتیجه کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود.

در این پژوهش پس از ایجاد دیابت تجربی نوع یک، سطح بافتی ۸-هیدروکسی‌داکسی‌گوانوزین در مقایسه با موش‌های صحرایی سالم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. طی تحقیقات انجام‌شده مشخص شد در بیماران دیابتی نوع یک در نتیجه افزایش سطح سرمی قند خون و اختلالات متابولیزمی مربوط به آن، استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شود که نتیجه آن آسیب اکسیداتیو DNA است. همچنین گزارش شد میزان آسیب اکسیداتیو وارده به DNA با سطح سرمی قند خون در ارتباط است[26]. در پژوهشی دیگر مشخص شد دیابت با افزایش شرایط استرس اکسیداتیو و آسیب اکسیداتیو DNA موجب تغییر متابولیزم سلولی و کاهش بیان ژن‌ها و همچنین با کاهش پروتئین‌سازی باعث کاهش روند ترمیم و در نهایت تخریب سلولی می‌شود[27].

از دیگر نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش افزایش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدئید در بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی بود. گزارش‌های متعدد افزایش در سطح مالون‌دی‌آلدئید پلاسما، گلبول‌های قرمز خون و بافت‌های مختلف نمونه‌های آزمایشگاهی مبتلا به دیابت را نشان داده‌اند. این امر حاکی از افزایش پراکسیداسیون لیپیدی است که مسئول بخشی از آسیب‌های بافتی در افراد دیابتی است[28]. مطالعه‌ای نشان داد سطح مالون‌دی‌آلدئید پلاسمای موش‌های صحرایی دیابتی افزایش می‌یابد. دلیل اصلی آن افزایش اکسیداسیون چربی‌ها به‌دلیل افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی عنوان شد [۲۹]. در پژوهشی دیگر میزان مالون‌دی‌آلدئید در بافت مغز موش‌های صحرایی دیابتی در مقایسه با نمونه‌های سالم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و عنوان شد دیابت با مهار آنزیم‌های مهارکننده رادیکال‌های آزاد و افزایش تولید رادیکال‌های سوپراکسید منجر به تخریب غشا، لیپیدها و دیگر ترکیبات سلولی می‌شود[30]. نتایج پژوهش حاضر و سایر تحقیقات قیدشده با یکدیگر همسو هستند و می‌توان این گونه جمع‌بندی کرد که دیابت موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش آسیب اکسیداتیو DNA در بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود.

در پژوهش حاضر تزریق درون‌صفاقی عصاره آبی گیاه چرخه با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌مدت یک ماه و یک روز در میان به موش‌های صحرایی دیابتی به‌صورت وابسته به دوز موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز و کاتالاز شد. همچنین میزان آسیب اکسیداتیو DNA و پراکسیداسیون لیپیدی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. تحقیقات نشان داد گیاه چرخه به‌علت خواص آنتی‌اکسیدانی و تقویت‌کنندگی سیستم حذف رادیکال‌های آزاد می‌تواند موجب کاهش شرایط استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دیابتی شود[7]. در این خصوص مشخص شد فلاونوئیدهای موجود در این گیاه می‌تواند موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت کبد شود. همچنین از کاهش سطوح آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی دیابتی جلوگیری می‌کند[31].

بخش دیگر از اثر سودمند گیاه چرخه را می‌توان به اثر هیپوگلیسمیک و ضدالتهابی آن نسبت داد که از طریق کاهش شرایط استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب بهبود عوارض دیابت و بهبود ترمیم زخم در موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود[16]. براساس تحقیقات انجام‌شده، عصاره هیدروالکلی گیاه چرخه با افزایش ترشح انسولین در نتیجه هیپرتروفی سلول‌های بتای پانکراس می‌تواند موجب کاهش سطح سرمی قند خون موش‌های صحرایی دیابتی شود. این اثرات به خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی گیاه چرخه و حضور آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند فلاونوئید و ترکیبات آلکالوئیدی و ترپنوئیدی نسبت داده شد[15]. در پژوهشی مشخص شد تجویز عصاره گیاه چرخه با غلظت ۳۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب بهبود پارامترهای اسپرمی، افزایش تعداد اسپرم و کاهش آتروفی لوله‌های اسپرم‌ساز در موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود و نیز

به‌دلیل دارابودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، محافظت اسپرم‌ها در مقابل رادیکال‌های آزاد را افزایش می‌دهد[13]. مطالعه‌ای نشان داد عصاره گیاه چرخه موجب افزایش ترشح انسولین و کاهش گلوکز خون و نیز افزایش میانگین تعداد و قطر جزایر لانگرهانس در موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود[14]. گزارش شده است عصاره آبی گیاه چرخه با غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت وابسته به دوز موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلبول‌های قرمز موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود. همچنین مشخص شد ترکیبات موجود در عصاره آبی گیاه چرخه می‌تواند به‌عنوان یك عامل آنتی‌اکسیدان در کاهش آسیب‌های بافتی ناشی از استرس اکسیداتیو نقش داشته باشد[7].

با توجه به مطالعات انجام‌شده و نتایج پژوهش حاضر می‌توان این گونه جمع‌بندی نمود که عصاره آبی گیاه چرخه نه‌تنها ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت بیضه را افزایش می‌دهد، بلکه باعث کاهش غلظت بافتی 8-OHdG (شاخص آسیب اکسیداتیو DNA) در بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود. این مساله ناشی از وجود برخی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاه چرخه است و با توجه به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت بیضه به‌نظر می‌رسد عصاره چرخه دارای اثرات حفاظتی بر بافت بیضه است.

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم وجود امکانات لازم جهت شناسایی و جداسازی ترکیبات موثر موجود در چرخه اشاره کرد. همچنین عدم وجود امکانات لازم برای بررسی مکانیسم دقیق سلولی و مولکولی اثر ترکیبات موجود در چرخه در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی از دیگر محدودیت‌های مطالعه حاضر است. در نهایت پیشنهاد می‌شود مطالعات گسترده‌تری در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاه چرخه صورت گیرد. همچنین بررسی‌های بیشتر در زمینه شناسایی ترکیبات فعال و نیز سایر مکانیزم‌های موثر گیاه چرخه در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش آسیب اکسیداتیو DNA در بافت‌های مختلف ضروری است.

نتیجه‌گیری

تجویز وابسته به دوز عصاره آبی گیاه چرخه باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب اکسیداتیو DNA در بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود.

تشکر و قدردانی: بدین وسیله نویسندگان مقاله از دانشگاه پیام نور و باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد سپاسگزاری و قدردانی می‌نمایند.

تاییدیه اخلاقی: تمامی مراحل آزمایش براساس پروتکل تاییدشده کمیته اخلاق دانشگاه پیام نور مرکز مشهد اجرا شد. رعایت حقوق حیوانات آزمایشگاهی در پژوهش برای استفاده انسانی مبتنی بر دستورالعمل‌های بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی است.

سهم نویسندگان: ثمانه تفکر (نویسنده اول) پژوهشگر اصلی (۲۰%)؛ سیدامون صدوقی (نویسنده دوم) نگارنده مقدمه/روش‌شناس/تحلیل‌گر آماری/نگارنده بحث (۶۰%)؛ راهله رهباریان (نویسنده سوم) پژوهشگر کمکی (۲۰%)

تعارض منافع: موردی از طرف نویسندگان بیان نشده است.

منابع مالی: این مقاله حاصل نتایج پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد خانم *ثمانه تفکر* مصوب دانشگاه پیام نور مرکز مشهد است و هزینه اجرای این طرح پژوهشی توسط خانم *ثمانه تفکر* دانشجوی رشته بیوشیمی دانشگاه پیام نور مرکز مشهد تامین شده است.

منابع

1- Wilcox NS, Rui J, Hebrok M, Herold KC. Life and death of β cells in Type 1 diabetes: A comprehensive review. J Autoimmun. 2016;71:51-8.
2- Rashidi A, Kalalian Moghaddam H, Norouzi P. Effect of root kudzu on biochemical parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. J Knowledge Health. 2015;10(2):18-23.
3- Jakus V. The role of free radicals, oxidative stress and antioxidant systems in diabetic vascular disease. Bratisl Lek Listy. 2000;101(10):541-51.
4- Rochette L, Zeller M, Cottin Y, Vergely C. Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. Biochim Biophys Acta. 2014;1840(9):2709-29.
5- Saunders D, Powers AC. Replicative capacity of β-cells and type 1 diabetes. J Autoimmun. 2016;71:59-68.
6- Gebicki JM. Oxidative stress, free radicals and protein peroxides. Arch Biochem Biophys. 2016;595:33-9.
7- Rahbarian R, Sepehri-Moghadam H, Sadoughi SD. The effects of aqueous extract of Launaea acanthodes on oxidative stress parameters of red blood cells in diabetic rats. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2016;14(10):865-78. [Persian]
8- Wu LL, Chiou CC, Chang PY, Wu JT. Urinary 8-OHdG: A marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. Clin Chim Acta. 2004;339(1-2):1-9.
9- Setyaningsih Y, Husodo AH, Astuti I. Detection of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) levels as a biomarker of oxidative DNA damage among home industry workers exposed to chromium. Procedia Environ Sci. 2015;23:290-6.
10- Hajinejad Boshroue R, Behnam-Rassouli M, Tehranipour M, Gheybi F, Hajinejad Sh, Elahi Moghaddam Z. The effects of hydro- alcoholic extract of Launaea acanthodes on the blood, urine albumin and bilirubin levels in male hyperglycemic wistar rat. Iran J Endocrinol Metab. 2013;15(2):190-233. [Persian]
11- Piazza L, Bertini S, Milany J. Extraction and structural characterization of the polysaccharide fraction of Launaea acanthodes gum. Carbohydr Polym. 2010;79(2):449-54.
12- Karimidokht Shahrbabaki A, Oryan SH, Parivar K. Anticonvulsant activity of ethanolic extract and aqueous fraction of Launaea acanthodes gum in comparison with diazepam in mice. J Qazvin Univ Med Sci. 2009;13(1):14-20. [Persian]
13- Rahbarian R, Sepehri Moghadam H, Sadoughi SD. Effect of aqueous extract of Launaea acanthodes on testicular tissue and sperm parameters in alloxan-induced diabetic rats. Horizon Med Sci. 2015;21(1):21-9. [Persian]
14- Sepehri-Moghadam H, Rahbarian R, Sadoughi SD. The effect of aqueous extract of Launaea acanthodes (Boiss.) O. Kuntze on the serum level of insulin and blood glucose and histomorphological changes of pancreas in diabetic rats. Feyz. 2015;19(1):30-7. [Persian]
15- Behnam-Rassouli M, Ghayour N, Ghayour M, Ejtehadi M. Investigating the effects of hydro-alcoholic extract of Launaea acanthodes on the serum levels of glucose, insulin, lipids and lipoproteins in stereptozotocin induced type I diabetic rats. Arak Univ Med Sci J. 2012;14(6):48-56. [Persian]
16- Rahbarian R, Sepehri Moghadam H, Sadoughi SD. Effect of aqueous extract of Launaea acanthodes on open skin wound in diabetic rats. Horizon Med Sci. 2016;21(1):1-11. [Persian]

17- Malek-Mohammadi R, Roghani M, Salami M. The effect of aqueous extracts of Melissa officinalis on the oxidative stress indices in the midbrain tissue. Feyz. 2015;19(1):8-14. [Persian]
18- Zargari F, Ghorbanihaghjo A, Babaei H, Farajnia S, Hayati Roodbari N. The effect of hydroalcoholic extract of Nasturtium officinale R.Br on antioxidant status and DNA damage in liver and kidney rats exposed to arsenic. Med J Tabriz Univ Med Sci. 2014;36(3):44-51. [Persian]
19- Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Roghani Dehkordi F. Effect of chronic administration of Silymarin on oxidative stress markers in renal tissue of diabetic rats. J Gorgan Uni Med Sci. 2012;14(2):10-6. [Persian]
20- Kazemi A, Zarei Mahmoudabadi A, Fasihi Ramandi M, Rasouli Vani, Saberi M. Evaluating oxidative stress factors induced by chlorpyrifos poisoning in plasma of wistar rat. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci. 2014;22(2):1079-89. [Persian]
21- Sameni H, Kavakebian F, Tabriziamjad M, Bandegi A, Yousefi B, Taherian AA. Effects of hydroalcoholic extract of propolis on oxidative stress indices of rat fetal brain induced by chronic prenatal stress. Koomesh. 2014;15(4):482-92. [Persian]
22- Chen CH, Lu Y, Chen Y, Lee W, Lu CH, Chen Y, et al. Hemopexin is up-regulated in plasma from type 1 diabetes mellitus patients: Role of glucose-induced ROS. J Proteomics. 2012;75(12):3760-77
23- Kuo CW, Shen CJ, Tung YT, Chen HL, Chen YH, Chang WH, et al. Extracellular superoxide dismutase ameliorates streptozotocin-induced rat diabetic nephropathy via inhibiting the ROS/ERK1/2 signaling. Life Sci. 2015;135:77-86.
24- Varsha MK, Thiagarajan R, Manikandan R, Dhanasekaran G. Vitamin K1 alleviates streptozotocin-induced type 1 diabetes by mitigating free radical stress, as well as inhibiting NF-κB activation and iNOS expression in rat pancreas. Nutrition. 2015;31(1):214-22.
25- Salimnejad R, Jalali M, Nikravesh MR, Fazel AR. Effect of garlic aqueous extract on markers of oxidative stress in diabetic rats testes. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2014;13(4):371-82. [Persian]
26- Goodarzi M T, Navidi Abaspour A, Rezaie M, Baba Ahmadi Rezaie H, Ansari M. Oxidative damage to DNA and lipids: Correlation with protein glycation in patients with type 1 diabetes. Sci J Hamadan Univ Med Sci. 2008;14(4):33-7. [Persian]
27- Dong D, Yu J, Wu Y, Fu N, Villela NA, Yang P. Maternal diabetes triggers DNA damage and DNA damage response in neurulation stage embryos through oxidative stress. Biochem Biophys Res Commun. 2015;467(2):407-12.
28- Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Semenova NV, Grebenkina LA, Suturina LV, Dolgikh MI, et al. Lipid peroxidation and antioxidant protection in girls with type 1 diabetes mellitus during reproductive system development. Medicina. 2015;51(2):107-11.
29- Nasirzadeh MR, Heykalabadi M, Nourazar A. Effect of alcoholic extract of euphorbia cyparissias on serum glucose and antioxidant enzymes level in diabetic male rats. J Ardabil Univ Med Sci. 2014;14(2):193-202. [Persian]
30- Nasirzadeh MR, Nourazar A, Khalili-Moghadam S, Mohammadiani M. Effect of alcoholic extract of Euphorbia cyparissias on the brain antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic male rats. FEYZ. 2014;18(3):194-200. [Persian]
31- Jalali M, Behnam Rassouli M, Tehranipour M, Ghayour N, Khayatzadeh J, Jannati H. Study of the effects of hyperglycemia and Launaea acanthodes extract administration on disorders of liver function in rats. Physiol Pharmacol. 2012;15(4):562-71. [Persian]