Physiology and Pharmacology, 17 (2), 176-184

Summer 2013 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Effect of hydroalcoholic extract of *Salvia officinalis* L. on the activity of catalase and superoxide dismutase in an oxidative stress model created by intracerebroventricular STZ injection in male rats

Shahram Shahmohamadi[1], Maryam Khosravi[1], Akbar Hajizadeh Moghaddam[2*]

1. Dept. of Biology, Faculty of Biology, North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

Received: 13 Jan 2012 **Accepted: 23 Apr 2013**

Abstract

Introduction: Oxidative stress is the result of imbalance between free radicals and the antioxidant defense mechanisms of the body. Oxidative stress in brain causes dysfunction of brain activities, destruction of neurons, and disorders like Alzheimer disease. In this experimental study, we examined the protective effect of *Salvia officinalis* L. against oxidative stress induced by intracerebroventricular injection of streptozotocin in male rats.

Methods: In the experimental research, Wistar rats were divided into control, sham, and experimental groups. Experimental groups received 25, 50 and 100 mg/kg body weight of hydroalcoholic extract of *Salvia officinalis* intraperitoneally. After two weeks, surgical procedure was performed on sham and experimental groups and after one week of recovery, streptozotocin was injected intracerebroventricularly (i.c.v-STZ) at 3 mg/kg. Brain hemispheres were separated after four weeks. Finally, superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) levels were measured in brain hemispheres.

Results: In the group receiving STZ, CAT and SOD levels were significantly decreased compared to the control group ($P<0.001$), whereas intraperitoneal injection of different doses of *Salvia officinalis* leaves extract significantly increased SOD and CAT levels compared to STZ group ($P<0.001$).

Conclusion: These data show that antioxidant effects of *Salvia officinalis* L. could prevent oxidative stress induced by i.c.v.-STZ injection in the brains of male rats.

Key words: Oxidative stress, *Salvia officinalis*, Streptozotocin, Rat

* Corresponding author e-mail: a.hajizadeh@umz.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۷ (۲)، ۱۷۶ - ۱۸۴
تابستان ۱۳۹۲

فیزیولوژی و فارماکولوژی

اثر عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis L.*) بر فعالیت آنزیم های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در مواجهه با استرس اکسیداتیو ناشی از تزریق درون بطنی مغزی استرپتوزوتوسین در موش‌های صحرایی نر

شهرام شاه محمدی[۱]، مریم خسروی[۱]، اکبر حاجی زاده مقدم[۲*]
۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد واحد تهران شمال، تهران
۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر

دریافت: ۲۴ دی ۹۱ پذیرش: ۳ اردیبهشت ۹۲

چکیده

مقدمه: استرس اکسیداتیو، نتیجه عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و سیستم آنتی اکسیدانی بدن می‌باشد. افزایش استرس اکسیداتیو در مغز موجب اختلال در فعالیت‌های مغزی، مرگ نورون ها و بیماریهایی چون آلزایمر می‌شود. در این مطالعه تجربی، اثر حفاظتی گیاه مریم گلی در مقابل استرس اکسیداتیو ناشی از تزریق درون بطنی مغزی استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت.

روش ها: در این مطالعه تجربی ۴۸ سر موش صحرایی نر، در گروه های کنترل، شم و تجربی تقسیم شدند. گروه های تجربی به مدت ۳ هفته عصاره هیدروالکلی مریم گلی را با دوز های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی دریافت نمودند. در پایان هفته دوم، جراحی و کانول گذاری در بطن راست و در پایان هفته سوم، تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین (STZ -i.c.v.) با غلظت ۳ میلی گرم بر کیلوگرم انجام گرفت. در پایان هفته چهارم مغز موش‌ها خارج شد و سطوح آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) در بافت نیمکره های مغز اندازه گیری شد.

یافته ها: در گروه دریافت کننده STZ سطح آنزیم های CAT و SOD به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ($P<0/001$) در حالیکه تزریق عصاره مریم گلی، به طور معنی داری فعالیت آنزیم های SOD و CAT را نسبت به گروه دریافت کننده STZ افزایش داد ($P<0/001$).

نتیجه گیری: نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که عصاره هیدروالکلی مریم گلی می‌تواند از استرس اکسیداتیو القا شده با استرپتوزوتوسین در مغز موش صحرایی جلوگیری نماید.

واژه‌های کلیدی: استرس اکسیداتیو، مریم گلی، استرپتوزوتوسین، موش صحرایی

مقدمه

استرس اکسیداتیو، نتیجه عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و سیستم آنتی اکسیدانی بدن است [۳۶]. رادیکال‌های آزاد مانند گونه های اکسیژن واکنش پذیر (ROS) موجب تغییرات اکسیداتیو در سلول‌ها می‌شوند [۴۱]. افزایش سطح ROS منجر به آسیب به ماکروملکول های داخل سلول چون لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA و آسیب‌های پاتولوژیکی می‌شود [۲۶]. از جمله بیماری‌هایی که در نتیجه افزایش استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شوند می‌توان از آلزایمر، پارکینسون، هانتینگتون و دیابت نام برد [۱۱]. بافت عصبی به دلیل داشتن مقادیر زیادی

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: a.hajizadeh@umz.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

فسفولیپید و اسید چرب اشباع نشده و میزان بالای متابولیسم به آسیب ایجاد شده توسط استرس اکسیداتیو بسیار حساس است و به نظر می‌رسد افزایش استرس اکسیداتیو، از عوامل مهم تأثیرگذار در تغییر ساختار و عملکرد صحیح مغز می‌باشد [۳۴]. استروپتوزوتوسین (STZ) ماده ای شیمیایی است که بواسطه تخریب سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس، از آن برای درمان سرطان پانکراس استفاده می‌شود. تزریق این ماده به صورت درون صفاقی موجب القاء سریع دیابت و به صورت درون بطن مغزی (i.c.v.) باعث افزایش شاخص‌های اکسیداتیو در مغز می‌شود [۳۹]. بطوریکه تزریق i.c.v. این ترکیب مدل آلزایمری در حیوانات القاء می‌کند [۲].

گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis L.*) از گیاهان تیره نعناعیان می‌باشد، گیاهی بوته ای به ارتفاع ۳۰ تا ۶۰ سانتیمتر که در مکان‌های خشک و سنگلاخی و دامنه –های بایر غالب نواحی آسیا و شمال آفریقا می‌روید [۴۷]. عصاره گیاه مریم گلی شامل ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و... می‌باشد که قدرت آنتی اکسیدانی و کنترل رادیکال‌های آزاد دارد [۳۹، ۱۷]. در طب سنتی از عصاره این گیاه در درمان برخی از بیماری‌ها مانند نقرس، رماتیسم مزمن، سرگیجه های عصبی، سردردهای با منشأ عصبی استفاده می‌شود [۴۷]. تاکنون تحقیقات متعددی اثرات ضد دیابتی [۱۹]، ضد التهابی [۳، ۳۸]، آنتی آنژیوژنیک [۲۵] و نیز آنتی اکسیدانی [۷، ۱۹] این عصاره را گزارش نمودند. در ادامه تحقیقات فوق، با توجه به اینکه اثر آنتی اکسیدانی عصاره مریم گلی در بافت مغز تا به حال مورد تحقیق قرار نگرفته است، مطالعه حاضر با هدف بررسی نقش حفاظتی عصاره هیدروالکلی مریم گلی در مقابل استرس اکسیداتیو القاء شده با تزریق درون بطنی استروپتوزوتوسین (STZ) در نیمکره های مغز موش‌های صحرایی نر انجام شد.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی تعداد ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰–۲۵۰ گرم از پژوهشکده انستیتو پاستور آمل خریداری و به اتاق حیوانات گروه زیست شناسی دانشگاه مازندران انتقال داده شدند. حیوانات در شرایط آزمایشگاهی با دوره روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و دمای ۳ ± ۲۴ درجه سانتی نگهداری شده و در طول دوره آزمایش به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. آزمایشات یک هفته بعد از انتقال موش‌ها به مکان حیوان خانه به منظور سازگاری با محیط انجام شدند. همه آزمایشات با پیروی از قوانین و مقررات مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت که مورد تأیید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه مازندران بودند.

عصاره گیری به شیوه خیساندن (Maceration) انجام شد [۲۳، ۴۴]. برگ گیاه مریم گلی پس از خشک شدن دور از نور مستقیم خورشید توسط آسیاب مکانیکی به پودر تبدیل شد. مقدار ۱۰۰ گرم از پودر خشک گیاه با ۶۰۰ میلی لیتر اتانل ۷۰٪ در ظرفی ریخته شده و به مدت ۷۲ ساعت بر روی شیکر با دور ۱۶۰ قرار داده شد. پس از این مدت محلول توسط کاغذ صافی (واتمن شماره ۱)، صاف گردید. محلول صاف شده جهت حذف حلال در دستگاه روتاری (Heidolph WD 2000, Brinkmann, Canada) با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس عصاره غلیظ شده در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا به عصاره خشک تبدیل گردد. وزن عصاره خشک مورد استفاده در این آزمایش ۸ گرم بود. عصاره خشک با آب مقطر به صورت غلظت‌های ۲۵ ، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم [۱۴] تهیه شد. استرپتوزوتوسین (New life Science, USA) با محلول سالین به غلظت ۳ میلی گرم بر کیلوگرم [۱۲، ۳۲] تهیه گردید.

موش‌ها در ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل (Control) که هیچ دارویی به شکل داخل صفاقی و یا داخل مغزی دریافت نکردند. گروه شاهد (Sham) که حلال عصاره را بصورت درون صفاقی و حلال STZ (سالین) را بصورت i.c.v. دریافت کردند. گروه استرپتوزوسین (STZ) که به مدت سه هفته سالین را به عنوان حلال عصاره بصورت درون صفاقی دریافت نمودند و سپس STZ (۳ میلی گرم بر کیلوگرم) را بصورت i.c.v. دریافت کردند. گروه‌های عصاره مریم گلی که عصاره را به مدت سه هفته به ترتیب در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بصورت درون صفاقی دریافت نمودند و در پایان هفته سوم STZ (۳

میلی گرم بر کیلوگرم) را بصورت i.c.v. دریافت کردند.

در پایان هفته دوم تزریق عصاره، موش‌های تمامی گروهها بجز گروه کنترل جراحی شده و کانول گذاری در بطن راست مغز انجام گرفت. در این مرحله، حیوانات با تزریق محلول زایلازین (۴ میلی گرم بر کیلوگرم) و کتامین (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش شده و جهت تثبیت و مختصات برداری در دستگاه استرئوتکسی (Stoelting, USA) قرار گرفتند. با استفاده از اطلس واتسون و پاکسینوس [۳۴] محل کانول گذاری (بطن راست مغز) با مختصات (۰/۸ میلی متر از برگما، ۱/۴ میلی متر از شیار میانی به طرف بطن جانبی راست و ۳/۶ میلی متر از سطح جمجمه به عمق) مشخص شد و کانول راهنمای شماره ۲۱ (به طول ۹ میلی متر) در جمجمه قرار داده شد. سپس با استفاده از سیمان دندانپزشکی کانول راهنما روی جمجمه ثابت گردید. تزریق با سرسرنگ شماره ۲۷ و توسط سرنگ هامیلتون ۵۰ میکرولیتری (Hamilton, Swiss) انجام گرفت. در پایان هفته سوم تزریق عصاره، STZ با دوز ۳ میلی گرم بر کیلوگرم به حجم ۲۰ میکرولیتر [۴۵] در بطن راست انجام گرفت. در پایان هفته چهارم همه گروه‌ها تشریح شدند و نیمکره های مغز جدا شده و بلافاصله در نیتروژن مایع قرار گرفتند و سپس در زمان مناسب توسط بافر فسفات سالین (PH=7.4) هموژناسیون انجام گرفت و پس از سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ rpm در دقیقه (Hettich-Universal 320, Germany) محلول سوپرناتانت جهت بررسی‌های بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز: فعالیت این آنزیم بر اساس روش میسرا و فریدوویچ (۱۹۷۲) تعیین شد. ترکیبات سدیم کربنات (۱ میلی لیتر، ۵۰ میلی مولار)، نیتروبلوتترازول (۰/۴ میلی لیتر، ۲۵ میکرومولار) و هیدروکسی هیدروکلراید (۰/۲ میلی لیتر، ۰/۱ میلی مولار) به محلول رویی بافت هموژن مغز (۰/۱ میلی لیتر) اضافه شد و سپس تغییرات جذبی آن توسط اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر تعیین شد و برحسب میلی گرم بر پروتئین گزارش گردید.

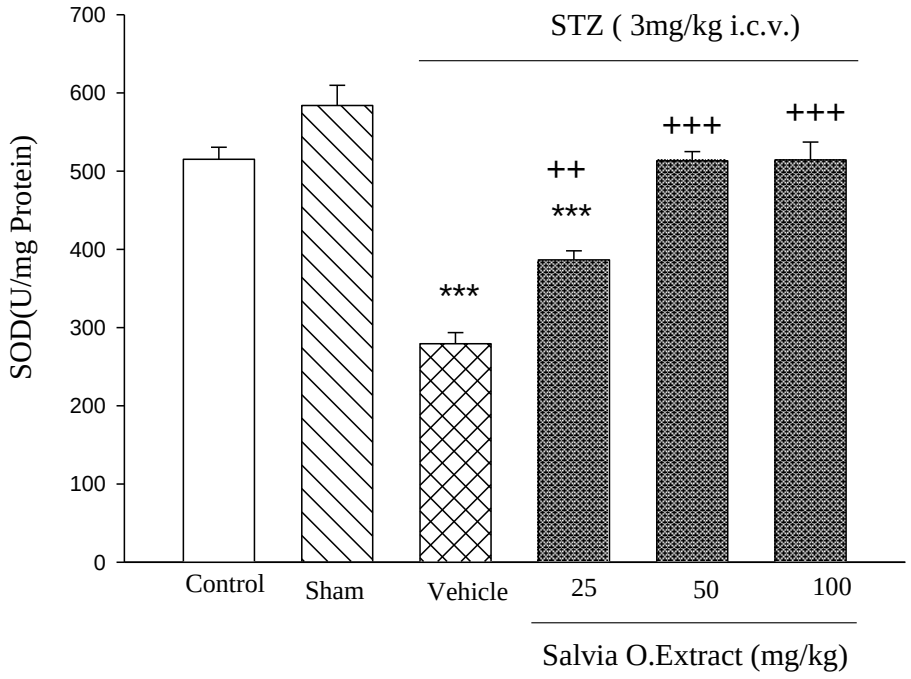
بررسی فعالیت کاتالاز: آنزیم کاتالاز پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند. طبق روش بوناونتورا، شرودر و فانگ (۱۹۷۲) با اضافه کردن هیدروژن پراکسید (۲/۱ میلی لیتر، ۷/۵ میلی مولار) به محلول رویی هموژنات بافت مغز و سپس تعیین تغییرات جذبی در ۲۴۰ نانومتر در ۲۵ درجه سانتی‌گراد میزان فعالیت این آنزیم بر حسب میلی گرم بر پروتئین مشخص شد. آنالیز آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS انجام شد. از آن‌جا که داده‌ها از توزیع نرمال برخوردار بودند برای آنالیز چند گروهی از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه با آزمون مکمل Posthoc از نوع Tukey و برای مقایسه دو گروهی از Independent-sample t-test استفاده شد. سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ انتخاب شده و نتایج به صورت میانگین± خطای معیار نشان داده شده است.

یافته ها

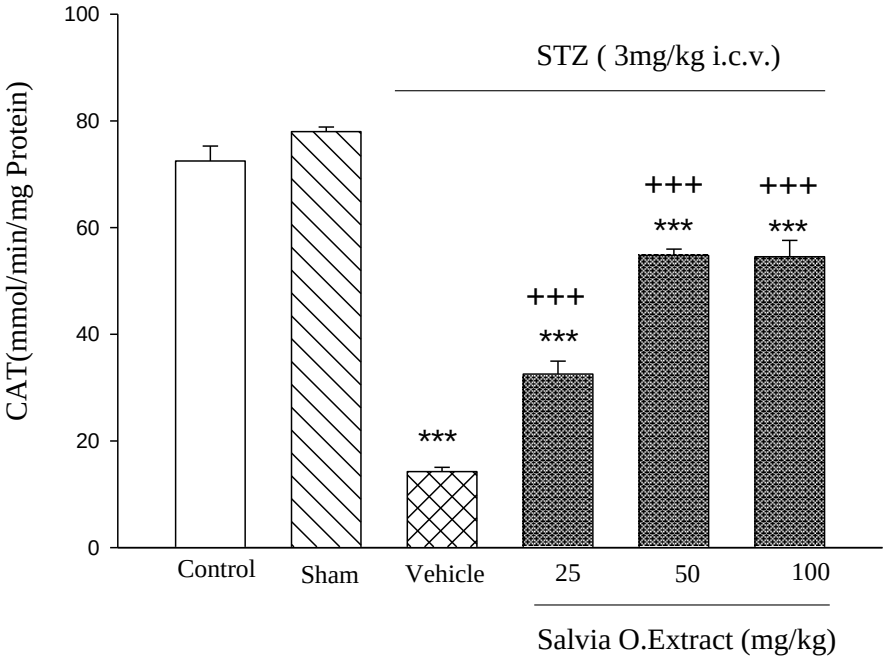
شکل ۱ و ۲ اثر تزریق STZ -i.c.v. به تنهایی یا به همراه غلظت‌های مختلف عصاره مریم گلی را بر فعالیت غلظتی آنزیم های CAT و SOD نشان می‌دهد. آنالیز واریانس نشان داد که فعالیت غلظتی آنزیم SOD [P<۰/۰۰۱، F(۵و۴۲) = ۳۹/۱] و CAT [P<۰/۰۰۱، F(۵و۴۲) =۱۳۴/۴] در گروه دریافت کننده STZ نسبت به گروه کنترل و همچنین نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری کاهش یافت. در گروه های دریافت کننده غلظت‌های مختلف عصاره گیاه مریم گلی به همراه STZ، غلظت این آنزیم‌ها نیز در مقایسه با گروه دریافت کننده STZ بطور معنی داری افزایش نشان داد. همچنین غلظت این آنزیم‌ها در گروه های دریافت کننده عصاره با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش معنی داری داشت (P<۰/۰۰۱)، اما بین دو گروه دریافت کننده عصاره با دوزهای ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی داری وجود نداشت.

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که تزریق STZ تغییرات معنی داری را در سیستم آنتی اکسیدانتی و آسیب اکسیداتیو در مغز موش‌های صحرایی ایجاد می‌کند. تجویز عصاره مریم گلی قبل از



شکل ۱- بررسی اثر تزریق درون بطنی STZ به تنهایی و یا به همراه تزریق درون صفاقی عصاره برگ گیاه مریم گلی بر غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بافت نیمکره های مغز. نتایج به صورت Mean ± S.E.M. بیان شده است. گروهها ۸ تایی می‌باشند. *** : (P <۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل ، ++ : (P <۰/۰۱) و +++ : (P<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه دریافت کننده STZ است.



شکل ۲- بررسی اثر تزریق درون بطنی STZ به تنهایی و یا به همراه تزریق درون صفاقی عصاره برگ گیاه مریم گلی بر غلظت آنزیم کاتالاز در بافت نیمکره های مغز. نتایج به صورت Mean ± S.E.M. بیان شده است. گروه ها ۸ تایی می باشند. *** : (P<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل و +++ : (P<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه دریافت کننده STZ است.

تـزریـق STZ پاسـخ آنتـی اکسـیدانتی سـلول‌هـا را بواسـطه افزایش غلظت آنزیم های سـوپر اکسـید دیسـموتاز و کاتـالاز تغییـر داد. رادیکـال‌هـای آزاد و دیگـر گونـه هـای واکـنش پذیر توسط متابولیسم هوازی سلول های زنده ایجاد مـی‌شـوند [۳۳]. بـه اضـافه قـرار گـرفتن در معـرض اشـعه یـونیزان و فرابنفش، آلودگی‌های محیطی و زیاده‌روی در مصرف الکل نیز می‌تواند موجب زایش گونه های اکسیژن فعال شود که ممکن است منجر به آسیب‌های سلولی شود [۲۶]. رادیکال‌هـای آزاد و یـا دیگـر مـواد واکـنش پـذیر نقـش مهمـی در آغـاز و پیشـرفت بعضـی بیمـاری‌هـا نظیـر ناهنجـاری‌هـای مربـوط به آسیب سیستم عصبی می‌شود [۸]. ارتباط بین تزریق STZ و اکسیداتیـو استرس در بافت عصبی مغز قـبلاً گـزارش شـده است [۲]. استرپتوزوتوسین از سنتز DNA در باکتری‌ها و نیـز سلول‌های پستانداران جلوگیری می‌کند [۵]. تصـور مـی‌شـود مکانیزم اثر STZ از طریق آسیب به DNA و کروموزوم‌هـا از طریق افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در طـی متـابولیزم خـود می‌باشد [۵]. تزریق درون صفاقی STZ موجب ایجاد تومور در شش‌ها، کلیه‌ها، پانکراس، کبد و مثانه حیوانـات آزمایشـگاهی می‌شود [۴، ۴۶]. در اثر القاء STZ و مسمومیت سلولی ایجـاد شده از طریق الکیله شدن DNA، گونه های اکسیژن واکـنش پذیر ماننـد سوپراکسـاید ($O_2^{\bullet}$)، پراکسـید هیـدروژن (H_2O_2)، رادیکال هیدروکسیل ($^{\bullet}OH$) و نیتریک اکساید ، نقش مهمـی در مکانیزم آسـیب DNA و سـمیت STZ دارنـد [۵]. تجـویز STZ موجب افزایش تولید پراکسیداسیون لیپیـدی (MDA) و نیتریک اکسـاید (NO) و کـاهش فعالیـت آنـزیم هـای آنتـی اکسـیدانتی ماننـد، CAT، SOD و گلوتـاتیون پراکسـیداز در موش‌های آزمایشگاهی می‌شود [۲۰، ۱]. در آزمایش حاضر نیز تزریق STZ درون بطن راست مغز موش‌های صحرایی که به صورت تک دوز انجام گرفت، سطح آنزیم های آنتی اکسیدانی یعنی کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز به مقـدار قابـل تـوجهی کاهش داد (نمودار های ۱ و ۲). گیاه مریم گلی دارای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می‌باشد که اثرات آنتی اکسیدانتی آنها در تحقیقات قبلی مشخص شده است [۲۸، ۴۲].

در مطالعات گذشته نشان داده شده عصـاره آبـی- الکلـی مریم گلی اثرات محـافظتی در برابـر پراکسیداسـیون لیپیـدی آنزیمی و غیرآنزیمی دارد [۲۱]. ماساکی و همکارانش (۱۹۹۵) نیز اثرات آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی مـریم گلـی را در آزمایشات خود نشان دادنـد [۳۰]. عیـدی و همکـاران (۲۰۰۶) نشان دادند که عصاره برگ گیاه مریم گلـی اثـر مفیـدی روی نگهـداری حافظـه دارنـد [۱۸]. همچنـین ایوونـه و همکـاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که عصاره هیدروالکلی مریم گلی دارای اثر محافظت نورونی در مقابل مسمویت بتا آمیلوئید مـی‌باشـد [۲۲]. ویژگی آنتی اکسیدانی فلاونوئیدها از ایـن رو اسـت کـه می‌توانند الکترون‌های رادیکـال‌هـای آزاد را از آن خـود کننـد [۳۶]. ترکیبات فنولی به آسانی اتم هیـدروژن را از گـروه OH آروماتیک به یک رادیکال آزاد داده و موجب پایداری الکتـرون منفرد می‌شوند [۱۳]. از ترکیبات موثر فنولی موجود در عصاره مریم گلی که نقش آنتی اکسیدانی دارند می‌توان از اورسـلیک اسید، روزمارینیک اسید، کارنوسیک اسید و کیرسیماریتین نـام بـرد [۱۰]. اسـیدهای فنولیـک بـه ویـژه کافئیـک اسـید و روزمارینیک اسید، دارای سـاختار کتکـولی بـوده و مـی‌تواننـد رادیکال‌ها را پاکسازی کنند [۹]. پاکسازی رادیکـال‌هـای آزاد توسط ترکیبات فنولی برای ویژگی آنتی اکسیدانی آنهـا بسـیار اهمیت دارد و می‌تواند با شکستن واکنش زنجیره ای رادیکـال آزاد، از شروع آن جلـوگیری کنـد [۹، ۳۶]. ترکیبـات فنولیـک اثرات آنتی اکسیدانی خود را در بدن موجودات زنده، احتمالاً بـا تحریک سیستم دفاعی اندوژنز آنتی اکسیدانی اعمال می‌کننـد. پلی فنول های می‌توانند با القای آنزیم‌هایی چـون گلوتـاتیون اس- ترانسـفراز (GST) موجـب افـزایش دفـع گونـه هـای اکسیدان و همچنین تحریک آنزیم های آنتی اکسـیدان شـوند [۱۶].

در این تحقیق با بررسی آنـزیم هـای آنتـی اکسـیدانی در هموژنات مغز موش‌های صحرایی مشخص شد در گروه‌هـایی که عصاره مریم گلی را قبل از تزریـق STZ دریافـت کردنـد، میزان فعالیت کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز به میـزان قابـل تـوجهی افـزایش یافـت. افـزایش غلظـت ایـن آنـزیم‌هـا در گروه های دریافت کننـده عصـاره احتمـالاً بـه خـاطر حضـور ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی است که موجب تقویـت سیسـتم آنتی اکسیدانی بدن شده است. برای دستیابی به مکانیزم‌هـای موثر در ایـن فراینـدها بـه مطالعـات بیشـتری در آینـده نیـاز می‌باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از آقای سید محمد نبوی و سرکار خانم زهرا اسماعیلی فرد به خاطر کمک‌های ارزنده‌شان در انجام کارهای آزمایشگاهی تشکر می‌کنند. همچنین از گروه زیست شناسی دانشگاه مازندران که با تأمین منابع مالی و امکانات آزمایشگاهی لازم، شرایط انجام این تحقیق را فراهم نمودند، قدردانی می‌شود.

References

[1] Adewole SO, Caxton-Martins EA, Ojewole JA, Ojewole, Protective effect of quercetin on the morphology of pancreatic β-cells of streptozotocin-treated diabetic rats. ***Afr J Tradit Complement Altern Med*** 4 (2006) 64-74.

[2] Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Effect of Naringenin on Intracerebroventricular Streptozotocin-Induced Cognitive Deficits in Rat: A Behavioural Analysis. ***Pharmacology*** 78 (2006) 193-197.

[3] Baricevic D, Sosa S, Della Loggia R, Tubaro A, Simonovska B, Krasna A, Zupancic A, Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. ***J Ethnopharmacol*** 75 (2001) 125-132.

[4] Berman LD, Hayes J.A, Sibay TM, Effect of Streptozotocin in the Chinese hamster. ***J Natl Cancer Inst*** 51 (1973) 1287-1294.

[5] Bolzan AD, Bianchi MS, Genotoxicity of Streptozotocin. ***Mutat Res*** 512 (2002) 121-134.

[6] Bonaventura J, Schroeder WA, Fang S, Human erythrocyte catalase: An improved method of isolation and a reevaluation of reported properties. ***Arch Biochem Biophys*** 150 (1972) 606-617.

[7] Capek P, Machova E, Turjan J, Scavenging and antioxidant activities of immunomodulating polysaccharides isolated from *Salvia officinalis* L. ***Int J Biol Macromol*** 44 (2009) 75-80.

[8] Choi DY, Lee YJ, Hong JT, Lee HJ, Antioxidant properties of natural polyphenols and their therapeutic potentials for Alzheimer's disease. ***Brain Res Bull*** 87 (2012) 144-153.

[9] Croft KD, The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. ***Ann N Y Acad Sci*** 854 (1998) 435-442.

[10] Cuvelier M.E, Richard H, Berset C, Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. ***Journal of the American Oil Chemists' Society*** 73 (1996) 645-652.

[11] Deshmukh R, Sharma V, Mehan S, Sharma N, Bedi K.L, Amelioration of intracerebroventricular streptozotocin induced cognitive dysfunction and oxidative stress by vinpocetine -- a PDE1 inhibitor. ***Eur J Pharmacol*** 620 (2009) 49-56.

[12] Duelli R, Schrock H, Kuschinsky W, Hoyer S, Intracerebroventricular injection of streptozotocin induces discrete local changes in cerebral glucose utilization in rats. ***Int J Dev Neurosci*** 12 (1994) 737-743.

[13] Duthie G, Crozier A, Plant-derived phenolic antioxidants. ***Curr Opin Clin Nutr Metab Care*** 3 (2000) 447-451.

[14] Eidi M, Eidi A, Bahar M, Effects of *Salvia officinalis* L. (sage) leaves on memory retention and its interaction with the cholinergic system in rats. ***Nutrition*** 22 (2006) 321-326.

[15] Eidi M, Eidi A, Zamanizadeh H, Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozocin–induced diabetic rats. ***J Ethnopharmacol*** 100 (2005) 310-313.

[16] Ferguson LR, Role of plant polyphenols in genomic stability. ***Mutat Res*** 475 (2001) 89-111.

[17] Generalić I, Skroza D, Ljubenkov I, Katalinić A, Burčul F, Katalinić V, Influence of the phenophase on the phenolic profile and antioxidant properties of Dalmatian sage . ***Food Chem*** 127 (2011) 427- 433.

[18] Grünblatt E, Koutsilieri E, Hoyer S, Riederer P, Gene expression alterations in brain areas of intracerebroventricular streptozotocin treated rat. ***J Alzheimers Dis*** 9 (2006) 261-271.

[19] Grzegorczyk I, Matkowski A, Wysokinska H, Antioxidant activity of extracts from in vitro cultures of *Salvia officinalis* L. ***Food Chem*** 104 (2007) 536–541.

[20] Gul M, Laaksonen D. E, Atalay M, Vider L, Hannien O, Effects of endurance training on tissue glutathione

homeostasis and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. ***Scand J Med Sci Sports*** 12 (2002) 163-170.

[21] Hohmann J, Zupkó I, Rédei D, Csányi M, Falkay G, Máthé I, Janicsák G, Protective effects of the aerial parts of *Salvia officinalis*, *Melissa Officinalis* and *Lavandula angustifolia* and their constituents against enzyme-dependent and enzyme-independent lipid peroxidation. ***Planta Med*** 65(1999) 576-578.

[22] Iuvone T, De Filippis D, Esposito G, D'Amico A, Izzo AA, The spice sage and its active ingredient rosmarinic acid protect PC12 cells from amyloid-beta peptide-induced neurotoxicity. ***J Pharmacol Exp Ther*** 317 (2006) 1143-1149.

[23] Kermanshah H, Hashemi-Kamangar S, Arami, Mirsalehian A, Kamalinejad M, Karimi M et al, Antibacterial activity of hydroalcoholic extract of *Salvia officinalis* and *Achillea millefolium* against cariogenic microorganisms: An in vitro investigation. ***The Journal of Islamic Dental Association of Iran*** 21 (1388) 215-220.

[24] Keshavarz M, Bidmeshkipour A, Mostafaie A, Anti tumor activity of Salvia officinalis is due to its anti-angiogenic, anti-migratory and anti-proliferative effects. ***Cell Journal (Yakhteh)*** 4 (2011) 477-482.

[25] King H, Aubert RE, Herman WH, Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. ***Diabetes Care*** 21 (1998) 1414-1431.

[26] Kiruthiga PV, Shafreen RB, Pandian SK, Arun S, Govindu S, Devi KP, Protective effect of silymarin on erythrocyte haemolysate against benzo(a)pyrene and exogenous reactive oxygen species (H2O2) induced oxidative stress. ***Chemosphere*** 68 (2007) 1511-1518.

[27] Liu J, Wang A, Li L, Huang Y, Xue P, Hao A, Oxidative stress mediates hippocampal neuron death in rats after lithium–pilocarpine-induced status epilepticus. ***Seizure*** 19 (2010) 165-172.

[28] Lu Y, Yeap Foo L, Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). ***Food Chem*** 75 (2001) 197- 202.

[29] Mancuso M, Coppede F, Migliore L, Siciliano G, Murri L, Mitochondrial dysfunction, oxidative stress and neurodegeneration. ***J Alzheimer's Dis*** 10 (2006) 59-73.

[30] Masaki H, Sakaki S, Atsumi T, Sakurai H, Active-oxygen scavenging activity of plant extracts. ***Biol Pharm Bull*** 18 (1995) 162-166.

[31] Misra HP, Fridovich I, The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and simple assay for superoxide dismutase. ***J Biol Chem*** 247 (1972) 3170-3175.

[32] Muller D, Nitsch R. M, Wurtman R. J, Hoyer S, Streptozotocin increases free fatty acids and decreases phospholipids in rat brain. ***J Neural Transm*** 105 (1998) 1271-1281.

[33] Nabavi S.F, Eslami S, Hajizadeh Moghaddam A, Nabavi S.M, Protective Effects of Curcumin against Fluoride-Induced Oxidative Stress in the Rat Brain. ***Neurophysiology*** 43 (2011) 287–291.

[34] Paxinos G, Watson C, ***The rat brain in stereotaxic coordinates***. San Diego: Academic Press, 1986.

[35] Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB, Aggarwal, Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? ***Free Radic Biol Med*** 49 (2010) 1603-1616.

[36] Rice-Evans CA, Miller NJ & Paganga G, Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. ***Free Radic Biol Med*** 20 (1996) 933-956.

[37] Rodrigues MR, Kanazawa LK, das Neves TL, da Silva CF, Horst H, Pizzolatti MG, Santos AR, Baggio CH, Werner MF, Antinociceptive and anti-inflammatory potential of extract and isolated compounds from the leaves of Salvia officinalis in mice. ***J Ethnopharmacol*** 139 (2012) 519-526.

[38] Salkovic-Petrisic M, Amyloid cascade hypothesis: is it true for sporadic Alzheimer's diseases. ***Period Biol*** 110 (2008) 17-25.

[39] Santos-Gomesa PC, Seabrab RM, Andradeb PB, Manuel Ferreira M, Phenolic antioxidant compounds produced by in vitro shoots of sage (*Salvia officinalis* L.). ***Plant Sci*** 162 (2002) 981- 987.

[40] Saravanan G, Ponmurugan P, Ameliorative potential of S-allyl cysteine on oxidative stress in STZ induced diabetic rats. ***Chem Biol Interact*** 189 (2011) 100- 106.

[41] Schulz JB, Lindenau J, Seyfried J, Dichgans J., Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration. ***Eur J Biochem*** 267 (2000) 4904–4911.

[42] Schwartz K, Terner W, Antioxidative constituents of Rosmarinus officinalis and *Salvia officinalis*. II. Isolation of carnosic acid and formation of other

R, Effects of Ascorbic Acid on Streptozotocin-induced Oxidative Stress and Memory Impairment in Rats. ***Thai Journal of Physiological Sciences*** 20 (2008) 54-61.

[46] Weisburger JH, Griswold DP, Prejean JD, Casey AE, Wood HB, Weisburger EK, The carcinogenic properties of some of the principal drugs used in clinical cancer chemotherapy, Recent results. ***Recent Results Cancer Res*** 52 (1975) 1-17.

[47] Zargari A, ***Medicinal Plant***, Vol. 4, Tehran University Press, Iran, 1997, p. 59-64.

phenolic diterpenes. ***Z Lebensm Unters Forsch*** 195 (1992) 99-103.

[43] Szkudelski T, The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cell of the rat pancreas. ***Physiol Res*** 50 (2001) 537-546.

[44] Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H, Phytochemical screening and Extraction: A Review. ***International Pharmaceutica Sciencia*** 1 (2011) 98-106.

[45] Weerateerangkull P, Praputpittaya C, Banjerdpongchai