اثرات آنتی اکسیدانی و سیتوتوکسیسیتی عصاره آبی و الکلی میوه نسترن کوهی بر لاین سلولیU937

ابراهیم فلاحی*[1] جعفر فرهادی[2]، فواد عبدالله پور[3]، مریم قاسمی[3]، زینب کاکایی[4]، زهرا کریمی[4]

۱- استاد، مرکز تحقیقات بهداشت تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

۲- دانشجوی فوق لیسانس بیوشیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور مرکز شرق، تهران، ایران.

۳- کارشناس ارشد بیوشیمی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

۴- دانشجوی لیسانس تغذیه، گروه تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

یافته / دوره هفدهم / شماره ۳ / پاییز ۹۴ / مسلسل ۶۵

چکیده

دریافت مقاله: ۹۴/۶/۲۲ پذیرش مقاله: ۹۴/۸/۱۷

مقدمه: گونه های فعال اکسیژن(ROS) می توانند برای سلول کشنده باشند.گیاهان خوراکی بعلت دارا بودن آنتی اکسیدان خطر بیماری و صدمات ناشی ازROS را پایین می آورد. هدف از این مطالعه تعیین اثر انتی اکسیدانی و سیتوتوکسیسیتی عصاره آبی و الکلی میوه نسترن کوهی بر لاین سلولیU937 است.

مواد و روش‌ها: لاین سلولی U937 (سلول های لوکمیای انسانی) خریداری شده از انستیتو پاستور برای۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. سلول ها توسط آهن(۵۰ میکرومولار) یا مس(۵۰ میکرومولار) و H2O2 (۱mM٪) دچار استرس اکسیداتیو شدند و به آن ها از هر کدام از مواد آنتی اکسیدان مورد نظر (عصاره ابی و الکلی) به طور جداگانه۱۵ میکرو مول از غلظت های ۵۰،۱۰۰و۲۵ میکرومولار اضافه شد (بجز نمونه های کنترل). سطوح گلوتاتیون توسط روش Tietze اندازه گیری شد. برای سنجش پراکسیداسیون لیپید از روش اندازه گیری مالون دی آلدیید و برای سنجش سیتوتوکسیتی از کیت LDH استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده ها با آزمون های آنالیز واریانس و توکی انجام شد.

یافته‌ها: میانگین و انحراف معیار غلظت مالون دی آلدیید در عصاره الکلی به ترتیب ۰/۶۳۳۸ و۰/۰۰۱۲میکرومول بر میلی گرم پروتیین و در عصاره آبی به ترتیب ۰/۶۳۸۹ و ۰/۰۰۱۷ در مقابل ۰/۶۵۷۰ و ۰/۰۰۲۳ برای کنترل بود($p< ۰/۰۵$) غلظت گلوتاتیون در غلظت های مختلف عصاره آبی و الکلی با کنترل تفاوت معنی داری نداشت. عصاره آبی و الکلی ۲۵٪ نسبت به سایر غلظتها باعث کاهش بیشتر و معنی دار مالون دی آلدیید شد. عصاره الکلی ۱۰۰ درصد دارای بیشترین (۱۵/۶۲٪) و ۲۵ درصد دارای کمترین (۱/۲۴٪) سمیت بود.

بحث و نتیجه‌گیری: عصاره الکلی و آبی میوه نسترن کوهی باعث کاهش پراکسیداسیون لیپید می شود و غلظت های بالای آن بیشترین سمیت را دارد.

واژه‌های کلیدی: میوه نسترن کوهی، لاین سلولی U937، پراکسیداسیون لیپید، آنتی اکسیدان، سیتو توکسیسیتی.

*آدرس مکاتبه نویسنده مسئول: خرم آباد، گلدشت شرقی، جنب بیمارستان امین اجتماعی، دانشکده بهداشت و تغذیه ، گروه تغذیه.

پست الکترونیک: e_falahi@yahoo.com

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-06]

مقدمه

در سال های اخیرمشخص شده که انواع رادیکال های آزاد و اکسید کننده های وابسته در فرایند پیری و پاتوژنز بیش از صد بیماری نقش دارند. سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در حالت طبیعی در تعادل با سرعت تولید رادیکال ها فعال می باشد و این امر در حفظ هموستاز بدن مهم است و در انجام فعالیت های فیزیولوژیک مثل التیام زخم ها، دفاع در مقابل میکروارگانیسم ها و غیره نقش دارد. در طی تکامل، ارگانیسم ها خود را با یک سیستم آنتی اکسیدانی تجهیز کرده اند، اگر تولید رادیکال های اکسیژن به هر دلیلی بیشتر شود یا ظرفیت آنتی اکسیدانی کاهش یابد نتیجه آن به صورت استرس اکسیداتیو که در واقع به هم خوردن تعادل بین این دو عامل است بروز می کند (۱).

بررسی هایی در زمینه درگیری استرس اکسیداتیودر مراحل سرطانزایی و مخصوصا روی جنبه های بیوشیمیایی، و ساختاری رادیکال های آزاد، منابع درونی و بیرونی تولیدشان و نیز تشکیل آن ها با واسطه فلزات و آسیب آن ها به اجزای مختلف سلول و محیط احیایی یک سلول، مکانیسم سرطانزایی و نقش انتقال پیام آبشاری توسط گونه های فعال اکسیژن صورت گرفته است (۲). گلوتاتیون ردوکتاز نقش کلیدی در حفاظت از کلروپلاست در برابر آسیب های اکسیداتیو دارد و همچنین در از بین بردن پراکسی هیدروژن موثر است (۳).

رژیم های غذایی حاوی مقادیر زیاد میوه و سبزیجات خطر ابتلا به بسیاری از بیماریها را کاهش می دهند که دلیل آن را مربوط به اثر آنتی اکسیدانی ویتامین هایی نظیر ویتامین E و ویتامین C و بتاکاروتن می دانند. در این راستا مطالعات زیادی در مورد اثر آنتی اکسیدانی مواد گوناگون بر روی سلول های بدن انجام شده است. گزارشات مختلف نشان داده اند که میوه های گیاهان مختلف از جمله نسترن کوهی حاوی مقادیر مناسبی از ترکیبات فنولیکی می باشد (۴،۵).

نسترن کوهی (نام علمی این گیاه روزا کانینی ال۲ و نامهای دیگر آن گل سرخ وحشی، گل باغی یا گل باخی-گل محمدی می‌باشد) از گیاهان دارویی ارزشمندی است که مردم اکثر سرزمینها از میوه این گیاه برای درمان برخی از بیماریها استفاده می کنند. از میوه نسترن کوهی بدون دانه و حتی از دانه آن به عنوان دارو یاد شده است. میوه این گیاه سرشار از ویتامین C است و سایر ویتامینها را نیز دارا می باشد و برای جبران کمبود ویتامینهای بدن استفاده می شود. نسترن کوهی گیاهی درختچه ای و چندساله است و به طور خودرو در مناطق خشک روی صخره ها و حتی در بوته زارها می روید. گلها معطر و گلبرگها سفید یا صورتی رنگ هستند. میوه آن گرد یا تخم مرغی کوزه ای شکل،کشیده، صاف با رنگ قرمز روشن (در مرحله رسیدگی کامل به رنگ قرمز تیره مایل به قهوه ای) است و دانه ها در داخل آن قرار دارند (۶). میوه های نسترن کوهی به طور سنتی جهت پیشگیری و درمان بیماریهای مختلف از جمله دیابت شیرین، آرتریت، رماتیسم، سیاتیک، سرماخوردگی، آنفولانزا و سنگهای صفراوی مورد استفاده قرار می گیرند (۷،۸).

طبق بررسی های انجام شده بر روی میوه گیاه نسترن کوهی مشخص شدکه دارای مقادیر زیادی ویتامین C و ترکیبات پلی فنلی است. مجموع ترکیبات فنولی نسترن کوهی، ۱۳/۸۳-۱۴/۹۴ میلی گرم اکی والان اسید گالیک بر گرم وزن خشک و مقدار ویتامین C آن حدود ۶۴۳ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم ماده خشک می باشد (۹،۱۰). با توجه به مقادیر بالای مواد فوق انتظار می رود میوه نسترن کوهی اثر آنتی اکسیدانی فوق العاده ای داشته باشد. سلول های لوکمیای اریتروئیدی انسانی به نام U۹۳۷ به دلیل کشت راحت و نیز

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-06]

مدل مناسب برای تحقیقات بیوشیمیایی از جمله بررسی بیان ژن و مسیر انتقال پیام داخل سلولی انتخاب شده است (۱۱).

در میان تحقیقات انجام شده کشت سلول اغلب برای مطالعه اثرات سلولی گونه های فعال اکسیژن و آنتی اکسیدان‌ها مورد استفاده است و اطلاعات خیلی مفیدی هم بدست می دهد (۱۲). هدف این مطالعه تعیین اثر آنتی اکسیدانی و سیتوتوکسیسیتی عصاره آبی و الکلی میوه نسترن کوهی بر روی گلوتاتیون در لاین سلولی U937 است.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره ها

برای تهیه عصاره الکلی میزان ۱۰ گرم از ماده خشک پودر شده میوه نسترن کوهی (با ترازوی دیجیتالی ساخت آلمان مدل JB1603C/FACT) به ارلن حاوی ۵۰ میلی لیتر الکل ۹۶٪ اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در محیط آزمایشگاه خیسانده و برای جلوگیری از تبخیر شدن الکل دهانه ارلن به وسیله پارافیلم بسته شد. سپس ماده رویی جدا و رسوب دور ریخته شد. مایع رویی به مدت ۱۰ دقیقه با دور 2000rpm با دستگاه آلمانی مدل (Zentrifugen (Rotofix 32A سانتریفیوژ شد. برای تهیه عصاره آبی ۱۰ گرم از ماده خشک پودر شده نسترن کوهی به ارلن حاوی ۵۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه حرارت ملایم داده شد. سپس ماده رویی جدا و رسوب دور ریخته شد. ماده رویی به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد (۱۳).

تهیه، کشت و آماده سازی سلول ها برای آزمون

فلاسک حاوی سل لاین U937 از بانک سلولی ایران خریداری گردید. فلاسک حاوی سلول ها در انکوباتور نگهداری شد (در دمای۳۷درجه سانتی گراد، فشار دی اکسیدکربن ۵٪ و محیط کشت DMEM کامل حاوی Fcs ۱۰٪ و پنی‌سیلین ۱۰۰ واحد بر میلی لیتر و استرپتومایسین۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر). بعد از ۲۴ ساعت محیط کشت سلول ها تعویض شد. یعنی محیط کشت قبلی تخلیه و ۵ سی سی محیط کشت تازه به فلاسک اضافه شد. هر دو یا سه روز یک بار محیط کشت سلول‌ها تعویض شد. فلاسک داخل انکوباتور ماند تا به همریزگاه مورد نظر یعنی تراکم حدود ٪۸۰-۷۰ رسید، سپس سلولها پاساژ داده شدند (۱۴).

پاساژ سلولی

محیط رویی (محیط کشت سلولی) از فلاسک تخلیه شد. به فلاسک حاوی سلولها ۱سی سی محلول (تریپسین-1X EDTA) اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه فلاسک حاوی تریپسین در انکوباتور انکوبه شد. سپس حدود ۴ میلی لیتر محیط کشت حاوی سرم به فلاسک اضافه شد تا تریپسین غیرفعال شود. سپس با پیپتینگ محلول حاوی محیط کشت و تریپسین - EDTA حاوی سلولها به درون یک فالکون منتقل شده و با دور rpm ۱۲۰۰ به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ شد تا سلولها در کف فالکون تجمع کردند.

محلول رویی (تریپسین - EDTA) از فالکون تخلیه شده و ۱ سی سی محیط کشت کامل به درون فالکون اضافه کرده و با پیپتینگ سلولها درون فالکون همگن شده، یک سوم سلولها (محیط همراه سلولها) به یک فلاسک منتقل شده و دوباره ۵ سی سی محیط کامل به آن اضافه و داخل انکوباتور قرار داده شد. هر بار که همریزگاه به ۸۰-۷۰ درصد رسید دوباره پاساژ انجام شد (۱۴).

شمارش سلولی

برای شمارش سلولها مقدار ۲۵ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی به یک ظرف میکروتیوپ منتقل شد و سپس ml ۲۵ تریپان بلو اضافه شد. با چند ضربه ملایم به جداره ی خارجی ویال اپندورف رنگ تریپان بلو با سوسپانسیون سلولی مخلوط گردید. در

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-06]

نهایت مخلوط مذکور روی لام نئوبار قرار داده شد و سلولهایی که رنگ تریپان بلو را به خود نگرفته بودند در روی دو مربع بزرگ ۱۶ خانه‌ای رو به روی هم شمارش گردید. تعداد سلولهای به دست آمده در عدد ۱۰۰۰۰ ضرب شد تا تعداد سلولها در هر میلی لیتر از سوسپانسیون سلولی به دست آید (۱۴).

آماده سازی سلولها برای تست

برای انتقال سلولها به پلیت همانطور که در بالا ذکر شد ابتدا سلولها از کف فلاسک جدا شدند و سپس شمارش گردیدند.

به داخل هر چاهک پلیت ۹۶ خانه ۱۵۰ میکرولیتر محیط کشت کامل حاوی سلول اضافه شد و پلیت، ۲۴ ساعت داخل انکوباتور انکوبه شد (۱۴).

افزودن مواد موثره به کشت سلولهای U937

ابتدا محیط کشت روی سلولهای کشت داده شده، از هر چاهک تخلیه شد و سپس محیط DMEM کامل تازه به هر چاهک اضافه شد، مواد اکسیدان و آنتی اکسیدان طبق نظم مورد نظر به چاهکها اضافه شد و پلیت برای مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. به این صورت که به سه چاهک اول به عنوان کنترل هیچ ماده موثره ای اضافه نشد. به سه چاهک بعدی به عنوان ماده اکسیدان مس (۵۰ میکرومولار) و پراکسید هیدروژن (۰/۱٪ میکرومولار) (بدون آنتی اکسیدان)، به سه چاهک بعدی به عنوان ماده اکسیدان آهن (۵۰ میکرومولار) وپراکسید هیدروژن (۰/۱٪ میکرومولار) و به ۱۸ چاهک بعدی (با توجه به اینکه از هر عصاره سه غلظت مختلف بود) به عنوان ماده اکسیدان آهن+ پراکسید هیدروژن و به ۱۸ چاهک بعد از آن به عنوان ماده اکسیدان مس+ پراکسید هیدروژن اضافه شد. به همه این چاهک ها به ترتیب از عصاره آبی و الکلی ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ درصد میوه نسترن کوهی به عنوان ماده آنتی اکسیدان به مقدار ۱۵ میکرومولار اضافه شد. به خاطر اندازه گیری مالون دی آلدئید و گلوتاتیون به طور جداگانه این ترتیب یکبار دیگر تکرار گردید (۱۴).

تخلیه چاهک ها وشستشوی سلول ها

سلولها از ته چاهکها کنده و همراه با محیط روی سلولها به درون میکروتیوپ ها تخلیه شد. میکروتیوپ ها در دور ۲۲۰۰ برای مدت ۱۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، محلول رویی هر میکروتیوپ به میکروتیوپ جداگانه ای منتقل شد. رسوب سلولی ته چاهک با بافر فسفات سالین ۵۰ میلی مول شستشو داده شد. پس از سانتریفیوژ فسفات سالین از درون میکروتیوپ ها تخلیه و به رسوب سلولی ۵۰۰ میکرولیتر بافر لیزان اضافه و ورتکس شد و به مدت ۴۵ دقیقه در۳۷ درجه سانتی گراد در بن ماری ماند (۱۴). این محلول هموژنیزه سلولی به سه قسمت تقسیم شده و برای سه آزمایش مورد نظر به طور جداگانه استفاده شد.

آماده سازی نمونه برای سنجش میزان گلوتاتیون

به نمونه‌ای که برای آزمایش سنجش گلوتاتیون جداشده بود ۵۰۰ میکرولیتر اسید سولفوسالیسیلیک اضافه شد و برای ۱۰ دقیقه ماند، و پس از مخلوط شدن در دور۲۲۰۰ برای ۱۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. از محلول رویی برای سنجش میزان گلوتاتیون استفاده شد. به رسوب حاصل (پروتئین) ۲۰۰ میکرولیتر فسفات سالین اضافه و مخلوط شد و همراه با نمونه سلولی مربوط به محلول هموژنیزه سلولی در آزمایش برادفورد سنجیده شد.

روش سنجش

۲۰۰ میکرولیتر از نمونه، حاوی سلول درون لوله آزمایش ریخته و ۱ میلی لیتر از Tris-EDTA ۰/۲ مولار به آن اضافه شد و در آخر۲۰۰ میکرولیتر ۵-۵- دی تیوبیس (۲-نیتروبنزوئیک اسید) ۰/۰۱ مولار به آن اضافه شد، سپس

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-06]

مخلوط شده و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد و با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۲ نانومتر با بلانک صفر کرده و جذب خوانده شد. مقدار جذب های به دست آمده با استفاده از ضریب مولی به عنوان میزان گلوتاتیون بر حسب میکرومول گلوتاتیون بر میلی گرم پروتیین به دست آمد (۱۵).

سنجش میزان مالون دی آلدئید

۱/۵ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۰۶٪ و ۱ میلی لیترتری کلرواستیک اسید۱٪ را داخل لوله آزمایش ریخته و ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه حاوی سلولها را به آن اضافه کرده، مخلوط کرده و ۳۰ دقیقه در دمای جوش قرار داده و پس از سرد شدن ۱۵ دقیقه در دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ و در طول موج ۵۳۵ نانومتر ابتدا با بلانک صفر شده و جذب خوانده شد. مقدار جذب های به دست آمده با استفاده از ضریب مولی به عنوان مالون دی آلدئید تشکیل شده بر حسب میکرومول مالون دی آلدئید در میلی گرم پروتئین به دست آمد (۱۴).

سنجش سیتوتوکسیسیتی

برای سنجش سیتوتوکسیتی از کیت تشخیص لاکتات دهیدروژناز استفاده گردید. (این روش یک روش رنگ سنجی دقیق و ساده برای تعیین میزان سیتوتوکسیتی با سیتولیز به وسیله سنجش فعالیت لاکتات دهیدروژناز آزاد شده از سلولهای آسیب دیده می باشد). این کیت شامل ۴ محلول است، برای درست کردن محلول نهایی واکنش ابتدا کاتالیز کننده را که به صورت لیوفیلیزه وجود دارد، در یک میلی لیتر آب مقطر حل کرده و کاملا به هم زده شد. سپس ۲۵۰ میکرولیتر از این محلول را با ۲۵/۱۱ میلی لیتر از محلول رنگی ترکیب نموده و از این محلول برای سنجش استفاده گردید.

از آهن (۵۰ میکرومولار)، مس (۵۰ میکرومولار) پراکسید هیدروژن ۱٪ میکرومولار برای ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو (بر مبنای واکنش فنتون) استفاده شد. همزمان با اضافه کردن این عوامل برای ایجاد استرس اکسیداتیو به محیط کشت سلولی، سه ماده مورد نظر به طور جداگانه در غلظت های مختلف به سلول ها اضافه شد (۱۴).

محاسبات آماری

در این مطالعه از آمار توصیفی برای تعیین شاخص های مرکزی (میانگین) و پراکندگی (انحراف استاندارد) استفاده شد. از آمار استنباطی تحلیل واریانس و آزمون تعقیبی توکی برای تجزیه و تحلیل یافته ها استفاده شد. معنی داری اختلاف داده ها نیز برای تمام محاسبات در سطح $P \leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

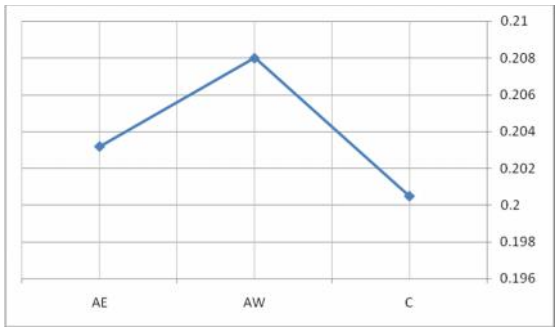
یافته‌ها

نتایج حاصل از عصاره آبی و الکلی میوه نسترن کوهی برمیزان گلوتاتیون در لاین سلولی U937

در نمودار ۱ به خوبی مشاهده می شود که عصاره میوه نسترن کوهی مقدار گلوتاتیون را در نمونه های سلولی نسبت به نمونه های حاوی اکسیدان مس+ پراکسید هیدروژن+ آهن (که فاقد آنتی اکسیدان هستند) تا حدودی افزایش داده است ولی این افزایش از لحاظ آماری معنی دار نیست. و وابسته به نوع عصاره یعنی آبی و الکلی می باشد. یعنی عصاره آبی میزان گلوتاتیون را نسبت به عصاره الکلی بیشتر افزایش داده است. هر نقطه میانگین به دست آمده از ۳ آزمایش می باشد.

با استفاده از آنالیز واریانس مشخص گردید که تفاوت معنی داری بین میانگین گلوتاتیون در بین عصاره های آبی و الکلی وجود ندارد.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-06]

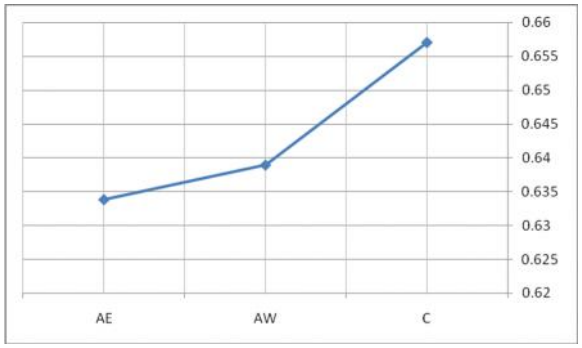


نمودار ۱. اثر عصاره آبی و الکلی میوه نسترن کوهی بر میزان گلوتاتیون (میکرومول گلوتاتیون بر میلی گرم پروتیین)در لاین سلولی U937

C:(نمونه کنترل)،نمونه سلولی حاوی مواد اکسیدان و فاقد آنتی اکسیدان با میانگین ۰/۲۰۰۵ و انحراف معیار ۰/۰۰۳۷

AW:نمونه سلولی حاوی عصاره (آنتی اکسیدان) آبی و مواد اکسیدان با میانگین ۰/۲۰۸۰ و انحراف معیار ۰/۰۰۷۴

AE:نمونه سلولی حاوی عصاره (آنتی اکسیدان) الکلی و مواد اکسیدان با میانگین ۰/۲۰۳۲ و انحراف معیار۰/۰۰۱۵



نمودار ۲. اثر عصاره آبی و الکلی میوه نسترن کوهی بر میزان MDA (میکرومول بر میلی گرم پروتیین)در لاین سلولی U937

C: (نمونه کنترل) نمونه سلولی حاوی مواد اکسیدان وفاقدآنتی اکسیدان با میانگین ۰/۶۵۷۰ و انحراف معیار۰/۰۰۲۳

AW: نمونه سلولی حاوی عصاره (آنتی اکسیدان) آبی و مواد اکسیدان با میانگین ۰/۶۳۸۹ و انحراف معیار۰/۰۰۱۷

AE: نمونه سلولی حاوی عصاره (آنتی اکسیدان)الکلی و مواد اکسیدان با میانگین ۰/۶۳۳۸ و انحراف معیار۰/۰۰۱۲

نتایج حاصل از اثر غلظت های مختلف عصاره آبی بر روی میزان مالون دی آلدئید در لاین سلولی U937

جدول ۱ نشان می دهد که غلظت ۲۵٪ عصاره های الکلی و آبی نسبت به سایر غلظتها و نمونه کنترل میزان مالون دی آلدئید را بیشتر کاهش می دهد ($p < ۰/۰۰۱$). در مورد میزان گلوتاتیون بین غلظتهای مختلف هم در عصاره آبی و هم الکلی تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

با استفاده از آنالیز واریانس مشخص گردید که تفاوت معنی داری بین میانگین مالون دی آلدئید در بین عصاره های آبی والکلی وجود دارد ($p <۰/۰۰۱$). در نمودار ۲ به خوبی مشاهده می شود که عصاره میوه نسترن کوهی مقدار مالون دی آلدئید را در نمونه های سلولی نسبت به نمونه های حاوی اکسیدان مس+ پراکسید هیدروژن+ آهن (که فاقد آنتی اکسیدان هستند) کاهش داده است. این کاهش معنی دار بوده و نیز وابسته به نوع عصاره یعنی آبی والکلی می باشد یعنی عصاره الکلی میزان مالون دی آلدئید را نسبت به عصاره آبی بیشتر کاهش داده است ($p <۰/۰۰۱$).

جدول ۱. اثر غلظت های مختلف(X±SD) عصاره آبی و الکلی میوه نسترن کوهی بر روی میزان گلوتاتیون و مالون دی آلدیید در لاین سلولی U937

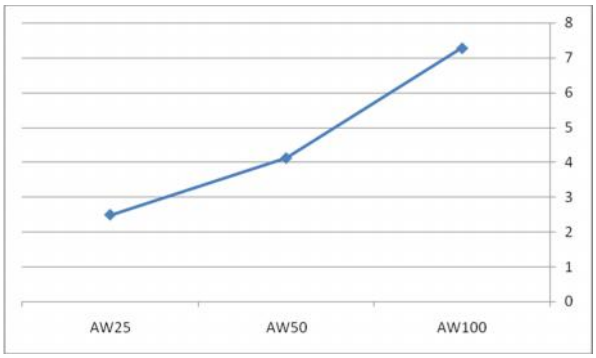
		غلظت مالون دی آلدیید(میکرومول بر میلی گرم پروتیین)	غلظت گلوتاتیون(میکرومول بر میلی گرم پروتیین)
عصاره آبی	کنترل	۰/۶۵۷۰±۰/۰۰۳۰	۰/۲۰۰۵±۰/۰۰۳۷
	٪۱۰۰	۰/۶۴۱۳±۰/۰۰۲۶	۰/۲۰۱۵±۰/۰۰۲۱
	٪۵۰	۰/۶۴۱۷±۰/۰۰۳۶	۰/۲۱۹۷±۰/۰۲۱۳
	٪۲۵	۰/۶۳۳۸±۰/۰۰۱۱*	۰/۱۹۹۲±۰/۰۰۵۸*
عصاره الکلی	کنترل	۰/۶۵۷۰±۰/۰۰۲۳	۰/۲۰۰۰±۰/۰۰۳۰
	٪۱۰۰	۰/۶۳۵۵±۰/۰۰۳۰	۰/۲۰۳۰±۰/۰۰۲۲
	٪۵۰	۰/۶۳۴۳±۰/۰۰۱۶	۰/۲۰۴۰±۰/۰۰۳۱
	٪۲۵	۰/۶۳۱۷±۰/۰۰۱۵	۰/۲۰۲۷±۰/۰۰۲۹

* P=۰/۰۰۱

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-06]

در نمودار ۳ به خوبی مشاهده می شود که غلظت های مختلف عصاره آبی میوه نسترن کوهی مقدار مالون دی آلدئید را در نمونه های سلولی نسبت به نمونه های حاوی اکسیدان مس+ پراکسید هیدروژن+ آهن (که فاقد آنتی اکسیدان هستند) کاهش داده اند. این کاهش معنی دار بوده و نیز وابسته به غلظت عصاره می باشد یعنی عصاره آبی ۲۵ درصد میزان مالون دی آلدئید را نسبت به دوغلظت دیگر عصاره آبی بیشتر کاهش داده است ($p < ۰/۰۰۱$).

نتایج حاصل از اثر غلظت های مختلف عصاره آبی میوه نسترن کوهی بر میزان سیتوتوکسیتی در لاین سلولی U937

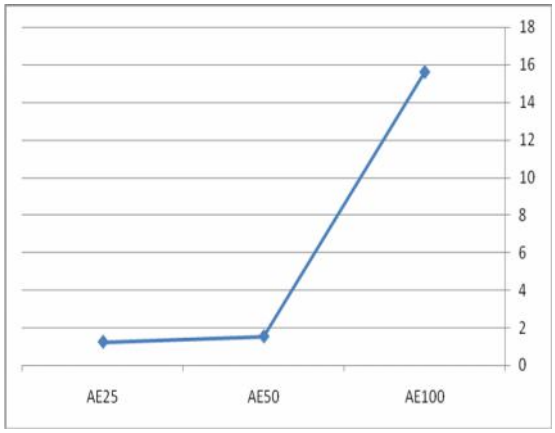


نمودار ۳. اثر غلظت های مختلف عصاره آبی میوه نسترن کوهی بر میزان سیتوتوکسیتی در لاین سلولی U937
AW100%:عصاره آبی ۱۰۰٪با سیتوتوکسیتی ۷/۲۸
AW50%:عصاره آبی ۵۰٪با سیتوتوکسیتی۴/۱۲
AW25%:عصاره آبی ۲۵٪با سیتوتوکسیتی ۲/۴۹

همانطوریکه در نمودار شماره ۳ نشان داده شده است عصاره آبی ۱۰۰ درصد دارای بیشترین (۷/۲۸٪) و عصاره آبی ۲۵ درصد دارای کمترین (۲/۴۹٪) سمیت هستند.

نتایج حاصل از اثر غلظت های مختلف عصاره الکلی میوه نسترن کوهی بر میزان سیتوتوکسیتی در لاین سلولی U937

نمودار ۴ نشان می‌دهد که غلظت‌های بالاتر عصاره الکلی میوه نسترن کوهی دارای سمیت بیشتری در محیط کشت سلولی هستند و به سلولها آسیب بیشتری وارد می‌کنند. میزان سمیت ۱۵/۶۲٪ برای غلظت ۱۰٪ و ۱/۲۴٪ برای غلظت ۲۵٪ بود.



نمودار۴. اثر غلظت های مختلف عصاره الکلی میوه نسترن کوهی بر میزان سیتوتوکسیتی در لاین سلولی U937
AE100%:عصاره الکلی ۱۰۰ درصد با درصد سیتوتوکسیتی ۱۵/۶۲
AE50%:عصاره الکلی ۵۰ درصد با سیتوتوکسیتی ۱/۵۳
AE25%:عصاره الکلی ۲۵ درصد با سیتوتوکسیتی ۱/۲۴

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که عصاره آبی والکلی میوه نسترن کوهی مقدار مالون دی آلدئید را در نمونه های سلولی نسبت به نمونه های حاوی اکسیدان (که فاقد آنتی اکسیدان هستند) کاهش داده است. این کاهش معنی دار بوده ودر این بین عصاره الکلی میزان مالون دی آلدئید را نسبت به عصاره آبی بیشتر کاهش داده است. این تاثیرات وابسته به غلظت می باشد.

نتایج این مطالعه نشان دادکه عصاره آبی و الکلی میوه نسترن کوهی مقدار گلوتاتیون را در نمونه های سلولی نسبت به نمونه های حاوی اکسیدان (که فاقد آنتی اکسیدان هستند) تا حدودی افزایش داده است که در این مورد عصاره آبی نسبت به عصاره الکلی میزان گلوتاتیون را بیشتر افزایش داده است. هر چند این افزایش معنی دار نیست.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-06]

در مطالعه ای خواص آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی موجود در میوه نسترن کوهی را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که این ترکیبات می توانند رادیکال های اکسیژن را در سیستم های سلولی و غیر سلولی مهار نمایند (۱۶). حسن کیلی گان و همکاران نشان دادند که غلظت‌های مختلف میوه نسترن کوهی قدرت رادیکالهای سوپر اکسید و پراکسید هیدروژن را کاهش می دهند (۱۷). سرتسر در ترکیه نشان داد که نسترن کوهی به عنوان یک منبع قوی آنتی اکسیدان عمل می نماید. اثرات درمانی نسترن کوهی علاوه بر فعالیت ضد التهابی آن به فعالیت آنتی اکسیدانی‌اش نیز قابل استناد می باشد. در این مطالعه مشخص شده که عصاره آبی و الکلی میوه نسترن کوهی، عمدتا به عنوان جاروب کننده پراکسید هیدروژن و رادیکال های آزاد عمل میکند (۱۸،۱۹).

در یک مطالعه که در سال ۲۰۱۰ بر روی شش گیاه جمع آوری شده از جنوب اروپا از جمله نسترن کوهی انجام گرفت دریافتند که میوه نسترن کوهی از قدرت آنتی اکسیدانی بالایی برخوردار بوده و از آن می‌توان به عنوان یک منبع جایگزین آنتی اکسیدان های سنتزی استفاده کرد (۲۰).

در مطالعه ای سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در پنج گونه گیاهی از جمله نسترن کوهی بررسی شد و به این نتیجه رسیدند که گلوتاتیون ردوکتاز نقش کلیدی در حفاظت از کلروپلاست در برابر آسیب های اکسیداتیو دارد و همچنین در از بین بردن پراکسید هیدروژن موثر است (۲۱).

در مطالعه دیگری که بر روی عصاره گیاهان منطقه مدیترانه از جمله نسترن کوهی انجام شد به این نتیجه رسیدند که یکی از گیاهانی که میوه ی آن بیشترین تأثیر را در جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدی دارد نسترن کوهی است (۲۲).

میوه های نسترن کوهی در مقایسه با بسیاری از میوه‌ها حاوی میزان بالاتری از آنتی اکسیدان های مختلف می باشد. برخی مطالعات نشان داده اند که میوه‌های نسترن کوهی حاوی میزان بالایی از کاروتنوییدها نسبت به بسیاری از میوه‌های دیگر می‌باشند، به طور نمونه میزان کاروتنوییدهای موجود در میوه‌های نسترن کوهی ۶ تا ۷ برابر میزان کاروتنوییدهای توت سیاه است (۲۳).

میوه های نسترن کوهی دارای میزان بالایی از ترکیب‌های فنولی را دارا می باشد که نشان دهنده ارزش بالای غذایی و دارویی این محصول می باشد (۱۰).

در یک مطالعه نشان داده شد که اثرات آنتی اکسیدانی نسترن کوهی وابسته به دوز است (۲۴) که با نتایج مطالعه ما هم‌خوانی دارد. در این مطالعه مشخص شده که نسترن کوهی علاوه بر خواص آنتی اکسیدانی بعنوان یک منبع پرواکسیدانت نیز مطرح است.

در مطالعه گائو و همکاران همانند مطالعه ما مشخص شد که میوه نسترن کوهی باعث کاهش پراکسیداسیون لیپید می شود (۲۵).

در مطالعه ما عصاره الکلی با غلظت بالا دارای بیشترین اثرات سمی بود.

تروواتو و همکاران نشان دادند که عصاره آبی میوه نسترن کوهی اثر توکسیسیتی خفیفی بر سلولهای سارکوما آسیت یوشیدا دارد. در حالیکه عصاره الکلی آن اثر توکسیسیتی معنی داری با دوز ۳/۹ میلی گرم بر میلی لیتر نشان داد (۲۶) این نتایج با مطالعه ما هم خوانی دارد.

دوزهای کشنده عصاره های این میوه در برخی از جوندگان مشخص شده است. در موش این دوز ۰/۹ تا ۱/۱ میلی لیتر و در رات ۰/۷ تا ۰/۹ میلی لیتر بیان شده است.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-06]

ایست قلبی در دوز ۳۹ میلی گرمی عصاره الکلی در قورباغه دیده شده که البته برگشت پذیر بوده است (۲۷).

ناروسزوییک و همکاران هیچ اثری روی عوامل خطر قلبی عروقی در افراد سیگاری که روزانه یک نوشیدنی حاوی ۱۱/۲ گرم ماده خشک نسترن کوهی مصرف می‌کردند مشاهده نکردند (۲۸).

درکل می توان نتیجه گیری نمود که عصاره آبی و الکلی میوه نسترن کوهی دارای اثرات آنتی اکسیدانی بالایی بر سلول می باشند ولی طبق این مطالعه عصاره های این میوه در غلظت های بالاتر دارای اثرات سمی در محیط کشت سلول ها می باشند که باعث آسیب به سلول می شوند. در زمینه اثرات توکسیسیتی میوه نسترن کوهی نیاز به تحقیقات بیشتری است.

تشکر و قدردانی

از مسولین وقت مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی که امکان انجام این تحقیق در آن مرکز را دادند صمیمانه قدردانی می شود. منابع مالی این تحقیق بر عهده محققین بوده است.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-06]

References

1. Boadi WY, Lyere P, Adunyah SE. In vitro exposure to quercetin and genistein alters lipid peroxides and prevents the loss of glutathione in human progenitor mononuclear (U937) cells. J Appl Toxicol. 2005 Jan-Feb; 25(1):82-88.
2. Valko M, Rhodes CJ, Monco lJ, Izakovic M ,Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem-Biol Intract. 2006 Mar ;160(1):1-40.
3. Firoozrai M, Mehrabi H, Ehsani A, Ghaffari M. Antioxidative enzyme activity: Catalase and glutathione reductase of patients with coronary artery disease. Journal of Tehran University Medical. 2002;28(9):18-25. (In Persian)
4. Oszmianski J, Chomin W. Experimental commercial manufacture of high-vitamin C cloudy juice from Rosa rugosa fruits. J Drug Metabol Personal Therapy. 1993 ;37: 16-17.
5. Cai JT, Din Z H . Nutrients composition of Rosa laevigatafruits. Sci Techno Food Industry.1995;3:26-29.
6. Gholampoor F, Javadifar T, Esllamzade M. Effects of Rosa canina L. on ischemia/ reperfusion injury in anesthetized rats. Journal of Tehran University Medical. 2012;1(70):21-26. (In Persian)
7. Gürbüz I, Ustün O, Yesilada E, SezikE, Kutsal O. Antiulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey. J Ethnopharmaco. 2003;88(1):93-7
8. Wenzig EM, Widowitz U, Kunert O, Chrubasik S, Bucar F, Knauder E, Bauer R. Phytochemical composition and in vitro Pharmacological activity of two rose hip (Rosa canina L.) preparations. Phytomedicine. 2008;15(10):826-35.
9. Hasani Moghadam E. Determination of ascorbic acid Rose canina plants in Lorestan. Journal of Crop Sciences and Horticulture and Plant. 2008:15(7):23-28 (In Persian)
10. Saedi K, Omidbeigi R. The measurement of total phenols, soluble carbohydrates, carotenoids and minerals, Rosa canina fruit of southeastern Iran .Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 2009; 2:203-215. (In Persian)
11. Subramaniam SV, Cooper RS, Adunyah SE. Interleukin-17 induces rapid tyrosine phossphorylation and activation of raf-1 kinase in human monocytic progenitor cell line U937. Biochem Biophys Res Commun. 1999; 259:172-177.
12. Halliwell B. Are polyphenols antioxidant or propoxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? J Arch Biochem Biophys.2008; 476:107-112.
13. Maspi N. Evaluation of Leishmanicidal effect of watery & Ethanolic flowers Calendula officinalis extract on pronastigotes of Leishmania Major (MRHO/IR/75/ER) in vitro. Scientific J Ilam University of Medical Sciences. 2010;1:5-18. (In Persian)
14. Ghasemi M. Antioxidant effect of Rosmarinic acid and coenzyme Q10 and vitamin E on a cell line U937, Journal of Tehran Univercity.2008;2:12-19. (In Persian)
15. Duthie SJ, Collins AR, Duthie GG, Dobson VL. Quercetin and myricetin protect against hydrogen peroxide-induced DNA damage strand breaks and oxidized

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-06]

pyrimidines in human lymphocyte Mutat. Res Microbiol.1997; 393:223-231.
16. Daels-Rakotoarison DA, Gressier B, Trotin F, Brunet C, Luyckx M, Dine T, et al. Effects of Rosa Canina fruit extract on neutrophil respiratory burst. Phytothr Res. 2002;16(2):157-161.
17. Kilicgun H, Dehen A. In vitro antioxidant effect of Rosa Canina in different antioxidant test systems. Phcog Res. 2009 ; 1(6): 417-420.
18. Serteser A, Kargioğlu M, Gök V, Bağci Y, Ozcan MM, Arslan D.Determination of antioxidant effects of some plant species wild growing in Turkey. Int J Food Sci Nutr. 2008; 59(7-8):643-51.
19. Lattanzio F, Greco E, Carretta D, Cervellati R, Govoni P, Speroni E. In vivo anti-inflamatory effect of Rosa CaninaL. Extract. J Enthropharm. 2011; 137:880-885.
20. Eqeal L, Sanchezo Bel P, Romoiaro F, Pretel MT. Six edible mild fruits as potential antioxidant additives or nutritional supplements. Plant Food Hum Nutr. 2010.65(2):121-129.
21. Keles Y, Everest A. Relation to Altitude Adaptation and Antioxidant defense system in five shrubs and trees species from middle Taurus Mountains. Inter J Natural Engin Scie. 2008; 2 (3): 45-49.
22. Ganhao R ,Estevez M , kylli P , Heinonen M , Morcuende D. Characterization of selected wild Mediterranean fruits and comparative efficacy as inhibitors of oxidative reaction s in emulsified raw pork burger patties. J Aqric Food Chem. 2010; 11, 58(15):8854-61.
23. Olsson ME, Gustavsson K E, Andersson S, Nilsson A, Duan R D. Inhibition of cancer cell proliferation in vitro by fruit and berry extracts and correlation with antioxidant levels. J Agr Food Chem. 2004; 52:7264-7271.
24. Kilicgun H, Dehen AK. Correlation between antioxidant effect mechanisms and polyphenol content of Rosa canina. Pharmacogn Mag. 2010 Jul;6(23):238-41.
25. Gao X, Bjork L, Trajkovsik V, Uggla M. Evaluation of antioxidant activities of Rosehip ethanol extracts in different test systems. J Sci Food Agric 2000; 80:2021-2027.
26. Trovato A, Monforte MT, Rossetto A, Forestieri AM. In vitro cytotoxic effect of some medicinal plants containing flavonoids. Boll Chim Farm 1996; 135: 263-266.
27. Chrubasik C, Roufogalis BD, Muller-Lander U, Chrubasik S. A systematic review on the Rosa canina effect and efficacy profiles. Phytother Res 2008; 22:725-733.
28. Naruszewicz M, Johansson ML, Zapolska-Downer D, Bukowska H. Effect of Lactobacillus plantarum 299v on cardiovascular disease risk factors in smokers. Am J Clin Nutr. 2002; 76:1249-1255.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-06]