مقاله پژوهشی

اثر عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامین E بر تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی رت‌های تحت تنش اکسیداتیو ورزش درمانده ساز

نویسندگان:

سعید ویس کرمی [1*]، محمد حسن فتحی نسری [1]، حسن احمد وند [2و3]، لادن رشیدی [4]، فروزان هادی پور مردای [2]

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

۲- گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۳- گروه بیوشیمی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۴- پژوهشگاه استاندارد، سازمان ملی استاندارد ایران، کرج، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 14, No.4, Winter 2017

چکیده:

مقدمه: فعالیت شدید بدنی منجر به افزایش رادیکال‌های آزاد حاوی اکسیژن می‌شود. این افزایش ممکن است باعث تضعیف ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن شده که از طریق ورزش منظم و مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها قابل‌بهبود است. هدف پژوهش حاضر بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدرو الکلی پوست انار بر کاهش اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از فعالیت شدید بدنی بود.

روش کار: در این مطالعه تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر به‌طور تصادفی به چهار گروه هشت‌تایی شامل گروه کنترل، گروه PPHE200 mg/kg 200 عصاره هیدرو الکلی، گروهPPHE250 mg/kg 250 عصاره هیدرو الکلی و گروه Vit E mg/kg 5 ویتامین E تقسیم شدند. پس از هشت هفته انجام تمرین منظم استرس ورزش درمانده ساز، فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز، میزان گلوتاتیون احیاء و پراکسیداسیون لیپیدی نمونه سرم تعیین شد.

یافته‌ها: فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز و همچنین میزان گلوتاتیون احیاء هر سه گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری داشت ($p<0/05$)، ولی مقدار مالون دی آلدهید این سه گروه در مقایسه با گروه کنترل با کاهش معناداری همراه بود ($p<0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد مصرف عصاره هیدرو الکلی پوست انار موجب بهبود وضعیت سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن و کاهش اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از فعالیت شدید بدنی می‌شود.

واژگان کلیدی: ورزش درمانده ساز، استرس اکسیداتیو، آنتی‌اکسیدان

Pars J Med Sci 2017;14 (4):34-42

مقدمه:

در طی دهه‌های گذشته پیشرفت‌های فراوانی در زمینه سازوکارهای دارویی میوه انار و قسمت‌های منحصربه‌فرد آن انجام‌شده است. به نظر می‌رسد عصاره‌های تمام قسمت‌های میوه انار دارای خواص درمانی باشد (۱). در برخی از گزارش‌ها بیان‌شده است که پوست، ریشه و برگ درخت انار هم به‌خوبی دارای خاصیت مفید درمانی است (۲). مطالعات نشان می‌دهد که گیاهان غنی از آنتوسیانین ها، فلاونوئیدها و پلی فنل ها در مهار رادیکال‌های آزاد مؤثر هستند (۴،۳). همچنین از میان ترکیبات پلی فنلی، فلاونوئیدها آنتی‌اکسیدان‌های قوی برعلیه اکسیداسیون LDL هستند. این ترکیبات جمع کننده و از بین برنده رادیکال‌های هیدروکسیل که در پوست انار وجود دارند، پروکسید و آنیون سوپر اکسید بوده (۵،۶) و اثرات مختلف و وسیعی روی سلامتی از جمله تأثیر مثبت روی بیماری‌های قلبی و عروقی و در کل بیماری‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد دارند. این ترکیبات همچنین باعث جلوگیری از پراکسیداسیون چربی‌های غشایی و سبب شلاته شدن عناصر فلزی و تحریک فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی

* نویسنده مسئول، نشانی: بیرجند، دانشگاه بیرجند، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی.

تلفن تماس: ۰۹۱۶۶۶۷۱۵۱۱ پست الکترونیک:sveiskarami@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۵/۶/۱۰ اصلاح: ۱۳۹۵/۱۱/۲۳ پذیرش: ۹۵/۱۱/۲۴

می‌شوند. پوست انار به خاطر ترکیبات پلی فنلی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به سایر قسمت‌های انار دارد (۷). در مطالعه‌ای که فعالیت آنتی‌اکسیدانی پلی فنل‌های دانه انار با روش اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدهید در مغز موش بررسی می‌شد، نشان داده شد که این ترکیبات به‌طور معناداری اثرات مسمومیت با تتراکلرید کربن را در موش‌ها کاهش می‌دهد (۸). در شرایط طبیعی بین تولید و حذف رادیکال‌های آزاد در بدن تعادل وجود دارد. عدم تعادل بین این دو فرایند منجر به تنش اکسیداتیو و تغییرات پاتوبیولوژیک متعدد در سطح ماکرو مولکول‌های سلولی می‌شود (۹). تولید انواع اکسیژن‌ها و نیتروژن‌های واکنش‌گر ناشی از متابولیسم طبیعی بدن که در اثر تابش اشعه فرابنفش و سایر آلودگی‌های محیطی افزایش می‌یابند، به‌صورت اکسیدان هستند که نسبت آنتی‌اکسیدان به اکسیدان را بر هم زده و موجب بروز اثرات منفی در سلول‌های بدن می‌شود. مالون دی آلدهید یکی از آلدئیدهای مهم ناشی از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء است که به‌عنوان شاخص نشان‌دهنده میزان تنش اکسیداتیو در بدن مطرح است (۱۰). آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی، سیستم اصلی دفاع بدن در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد هستند. آنزیم‌های کلیدی این سیستم شامل سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پرکسیداز (GPX)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR) و کاتالاز (CAT) هستند. خصوصیت مهم این آنزیم‌ها قابل القاء بودن آن‌ها تحت شرایط تنش اکسیداتیو است. بدین معنی که میزان آن‌ها بسته به نوع تنش افزایش یا کاهش می‌یابد (۱۱).

با بررسی‌های به‌عمل‌آمده، پژوهشی در خصوص تأثیر عصاره هیدرو الکلی پوست انار بر تنش اکسیداتیو ناشی از فعالیت شدید بدنی یافت نشد، ازاین‌رو با توجه به تأثیر مواد آنتی‌اکسیدان طبیعی در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و کم بودن اثرات منفی آن‌ها در مقایسه با مواد آنتی‌اکسیدانی مصنوعی، مطالعه حاضر به‌منظور بررسی اثر عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامین E روی تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی رت‌های تحت تنش اکسیداتیو ورزش درمانده ساز انجام شد.

روش کار:

حیوانات و پروتکل ورزشی

در این مطالعه، با توجه به‌احتمال تلفات در حین گاواژ، از ۴۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار بالغ با میانگین وزنی ۲۰±۲۲۰ گرم استفاده شد که در نهایت با احتساب تلفات، هشت سر از هر گروه بررسی شدند. موش‌ها پس از یک هفته عادت‌پذیری به‌طور تصادفی به چهار گروه کنترل (CON)، گروه PPHE200 (دریافت‌کننده mg/kg ۲۰۰ عصاره هیدرو الکلی پوست انار)، گروه PPHE250 (دریافت‌کننده mg/kg ۲۵۰ عصاره هیدرو الکلی پوست انار) و گروه Vit E (دریافت‌کننده mg/kg ۵ ویتامین E) تقسیم شدند. تمامی گروه‌ها دوز مربوط را به میزان ۲ میلی لیتر از طریق گاواژ و گروه کنترل هم به میزان مشابه سرم فیزیولوژی دریافت کردند. تیمارها روزانه و به مدت هشت هفته روی حیوانات اعمال شد. در تمام طول مدت آزمایش حیوانات توسط یک فرد جابه‌جا و تیمار می‌شدند و محدودیتی در دسترسی به آب و غذا نداشتند. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. برای ورزش حیوانات در حوضچه‌ای به شکل استوانه با قطر ۱۰۰ سانتی متر و عمق ۵۰ سانتی متر قرار داده‌شده و درجه حرارت آب در محدوده ۲±۳۲ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. در روز اول آزمایش، حیوانات به مدت ده دقیقه در حوضچه به شنا پرداخته که این مدت در طی شش روز به ۶۰ دقیقه رسید (۱۲) و این روند به مدت هشت هفته ادامه یافت. در آخرین جلسه تمرین ورزش، تمامی گروه‌ها تحت شرایط استرس ورزش درمانده ساز قرار داده شدند. ملاک استرس ورزش درمانده ساز در آخرین جلسه تمرین ورزشی، عدم حرکت حیوان در اثر خستگی مفرط در سطح آب بود که ادامه آن منجر به غرق شدن می‌شد (۱۳). در این مرحله، مراقبت کامل به‌منظور جلوگیری از خفگی حیوانات در آب انجام شد. تمام مراحل کار با حیوانات آزمایشگاهی، بر اساس دستورالعمل جهانی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام و اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

تهیه عصاره هیدرو الکلی پوست انار

عصاره هیدرو الکلی پوست انار به روش ماسیراسیون تهیه َشد. بدین منظور پوست انار در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد توسط آون خشک و یک قسمت از پودر حاصل به سه قسمت هیدرو الکل (هیدرو الکل شامل ۵۰ درصد آب مقطر و ۵۰ درصد اتانول ۷۰ درجه) اضافه شد. سوسپانسیون تهیه‌شده به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه نگهداری و عصاره حاصل پس از عبور از کاغذ صافی با استفاده از دستگاه دوار تقطیر در خلأ تغلیظ و حلال آن جدا شد.

تهیه نمونه سرم

حیوانات پس از انجام ورزش درمانده ساز بدون درنگ با ترکیب بالایی از کتامین (۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش و خون‌گیری از سیاهرگ باب تا بیشترین مقدار ممکن (۵-۴ میلی لیتر) انجام شد. نمونه خون‌های تهیه‌شده برای جداسازی سرم به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس در دور ۵۰۰g به

مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ و سرم جداشده برای انجام آزمایش‌های بعدی در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی (MDA)

سنجش مالون دی آلدهید به روش استرباور و همکار انجام گرفت. برای این کار به لوله‌آزمایش ۱۵۰۰ میکرو لیتر TBA ۰/۰۶ درصد و ۱۰۰۰ میکرو لیتر TCA با غلظت ۱ درصد اضافه شد. سپس ۱۰۰ میکرو لیتر از نمونه سرم یا بافت هموژن شده را اضافه کرده، لوله‌ها را به مدت ۳۰ دقیقه درون بن ماری جوش (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده و بعد از سرد شدن ۱۵ دقیقه با دور RPM ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. میزان جذب مایع رویی (سوپرناتانت) در طول‌موج ۵۳۵ نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر در مقابل بلانک تعیین شد. مقدار جذب‌ها با استفاده از ضریب مولی به‌عنوان مالون دی آلدهید تشکیل‌شده برحسب میکرو مول در میلی‌گرم پروتئین مشخص شدند (۱۴).

اندازه‌گیری غلظت گلوتاتیون احیا (GSH)

سنجش گلوتاتیون به روش راهمن و همکاران انجام شد. برای این کار ۲۵ میکرو لیتر از نمونه سرم یا بافت هموژن شده درون میکروپلیت های الایزا ریخته و ۱۴۰ میکرو لیتر از بافر Tris-EDTA ۰/۲ مولار با PH= ۸ به آن اضافه شد. در مرحله آخر ۳۰ میکرو لیتر از DNTB ۰/۱ مولار به آن افزوده و مخلوط شد. سپس جذب چاهک‌ها در طول‌موج ۴۱۲ نانومتر به کمک دستگاه قرائت گر الایزا تعیین شد. مقدار جذب‌ها با استفاده از ضریب مولی به‌عنوان میزان گلوتاتیون برحسب میکرو مول در میلی‌گرم پروتئین مشخص شدند (۱۵).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

سنجش کاتالاز به روش ابی و همکاران انجام شد. برای این کار درون لوله‌آزمایش ۱۰۰۰ میکرو لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با PH= ۸ و ۵۰ میکرو لیتر از نمونه سرم یا بافت هموژن شده ریخته و سپس در مرحله پایانی در زمان قرائت میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر،۵۰ میکرو لیتر H2O2 به ترکیبات اضافه و جذب نمونه‌ها در زمان‌های صفر، ۳۰ و ۶۰ ثانیه در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر در مقابل بلانک تعیین شد. مقدار جذب با استفاده از ضریب مولی به‌عنوان میزان فعالیت کاتالاز برحسب واحد آنزیم در میلی‌گرم پروتئین مشخص شد (۱۶).

فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)

سنجش گلوتاتیون پراکسیداز به روش راتروک و همکاران انجام شد. برای این کار درون لوله‌آزمایش، ۲۰۰ میکرو لیتر بافر Tris-HCl ۰/۴ مولار با PH=۷ ، ۱۰۰ میکرو لیتر سدیم آزید ۱ میلی مولار،۲۰۰ میکرو لیتر نمونه سرم یا بافت هموژن شده، ۲۰۰ میکرو لیتر گلوتاتیون ۲ میلی مولار و ۱۰۰ میکرو لیتر آب‌اکسیژنه ۰/۲ میلی مولار اضافه کرده و ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از آن، ۰/۴ میلی لیتر TCA۱۰ درصد به لوله‌ها اضافه‌شده و به مدت ۳ دقیقه با دور RPM ۲۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. سپس ۲۵ میکرو لیتر از مایع رویی (سوپرناتانت) درون لوله در میکروپلیت های الایزا ریخته و ۱۴۰ میکرو لیتر Tris-EDTA ۰/۲ مولار با PH= ۸ و ۳۰ میکرو لیتر DNTB به آن‌ها اضافه شد. پس از سی دقیقه انکوبه کردن در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها به کمک دستگاه قرائت گر الایزا در طول‌موج ۴۲۰ نانومتر تعیین شدند. مقدار جذب‌ها با استفاده از ضریب مولی به‌عنوان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز برحسب واحد آنزیم در میلی‌گرم پروتئین مشخص شدند (۱۷).

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌های آزمایش

نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار استاندارد ارائه‌شده‌اند. تفاوت بین میانگین میزان پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بین گروه‌های مختلف با کمک آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن آزمون چند دامنه‌ای دانکن برآورد شدند. مقادیر $p<۰/۰۵$ به‌عنوان حداقل سطح معنادار بودن تفاوت میانگین‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

نمودار ۱ یافته‌های مربوط به فعالیت آنزیم کاتالاز بین گروه‌های مختلف آزمایشی را نشان می‌دهد. فعالیت آنزیم کاتالاز بین گروه کنترل در قیاس با گروه‌های PPHE200، PPHE250 و Vit E کاهش معناداری نشان داد ($p<۰/۰۵$). همچنین فعالیت این آنزیم بین گروه Vit E و گروه PPHE200 اختلاف معناداری نشان داد ($p<۰/۰۵$)، ولی بین دو گروه Vit E وPPHE250 این اختلاف معنادار نبود (نمودار ۱).

نمودار ۲ یافته‌های مربوط به فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بین گروه‌های مختلف آزمایشی را نشان می‌دهد. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز سرم بین گروه کنترل در قیاس با گروه‌های PPHE200، PPHE250 و Vit E کاهش معناداری نشان داد ($p<۰/۰۵$). از طرفی فعالیت این آنزیم بین گروه Vit E و گروه PPHE200 معنادار بود ($p<۰/۰۵$)، ولی بین دو گروه Vit E و PPHE250 این اختلاف معنادار نبود (نمودار ۲).

نمودار ۳ یافته‌های مربوط به میزان گلوتاتیون احیاء را بین گروه‌های مختلف آزمایشی نشان می‌دهد. میزان گلوتاتیون احیاء سرم گروه کنترل در قیاس با گروه‌های PPHE200، PPHE250

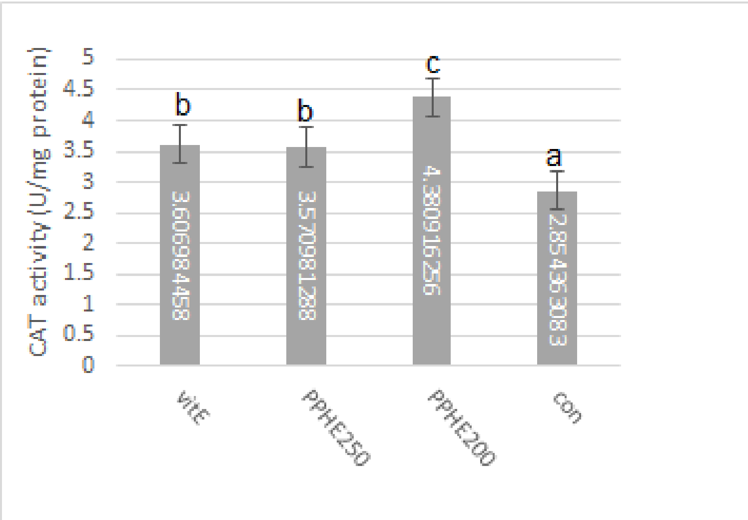
و Vit E کاهش معناداری نشان داد (p<۰/۰۵). در آزمون مقایسه میانگین‌ها میزان گلوتاتیون احیاء بین گروه‌های Vit E، PPHE200 و PPHE250 هم اختلاف معناداری نشان داد (p<۰/۰۵)، ولی بین دو گروه PPHE200 و PPHE250 این اختلاف معنادار نبود (نمودار ۳).

نمودار ۴ یافته‌های مربوط به میزان مالون دی آلدهید بین گروه‌های مختلف آزمایشی را نشان می‌دهد. میزان مالون دی آلدهید سرم گروه کنترل در قیاس با گروه‌های PPHE200، PPHE250 و Vit E افزایش معناداری نشان داد (p<۰/۰۵). در آزمون مقایسه میانگین‌ها بین گروه‌های Vit E، PPHE200 و PPHE250 اختلاف معنادار نبود (نمودار ۴).

جدول ۱: فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و مقادیر گلوتاتیون احیاء و مالون دی آلدهید

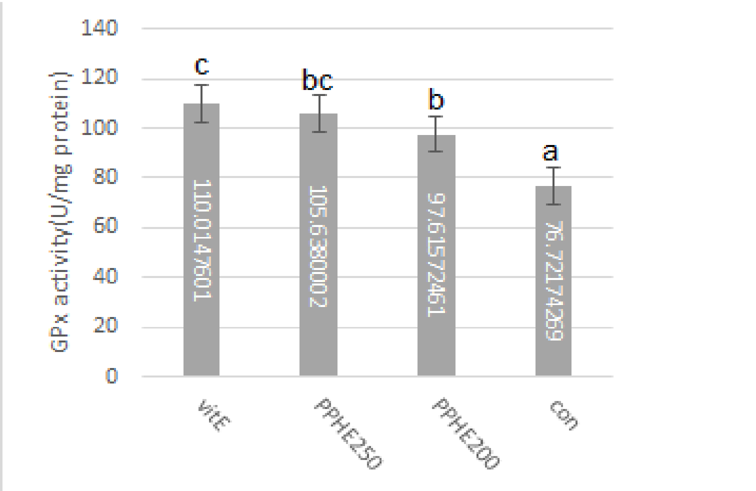
فرا سنجه	تیمار آزمایشی				خطای معیار	P-Value
	یک ۱	دو ۲	سه ۳	چهار ۴		
کاتالاز (واحد/ میلی‌گرم پروتئین)	۲٫۵۸±۰٫۳۸[a]	۴٫۳۸±۰٫۴۵[c]	۳٫۵۷±۰٫۲۴[b]	۳٫۶±۰٫۵۹[b]	۰/۲۸	۰/۰۰۰
گلوتاتیون پراکسیداز (واحد/ میلی‌گرم پروتئین)	۷۶٫۷۲±۴٫۴۹[a]	۹۷٫۶۱±۵٫۹۱[b]	۱۰۵٫۶۳±۲٫۸۸[c]	۱۱۰٫۰۱±۸٫۳۶[c]	۴/۷۶	۰/۰۰۰
گلوتاتیون (میکرو مول/ میلی‌گرم پروتئین)	۷۵٫۲۶±۱٫۳۵[a]	۸۹٫۳۹±۶٫۹۸[b]	۹۳٫۵۴±۳٫۷۲[b]	۱۰۷٫۸۶±۴٫۷۶[c]	۲/۸۴	۰/۰۰۰
مالون دی آلدهید (میکرو مول/ میلی‌گرم پروتئین)	۵٫۸۸±۰٫۵۶[b]	۳٫۶۲±۰٫۱۵[a]	۳٫۳۵±۰٫۵۱[a]	۳٫۲۶±۰٫۲۵[a]	۰/۲۵	۰/۰۰۰

۱. رت های دریافت‌کننده سرم فیزیولوژی (گروه کنترل) ۲. رت های دریافت‌کننده mg/kg ۲۰۰ عصاره هیدرو اتانولی پوست انار ۳. رت های دریافت‌کننده mg/kg ۲۵۰ عصاره هیدرو اتانولی پوست انار ۴. رت های دریافت‌کننده mg/kg ۵ ویتامین E.

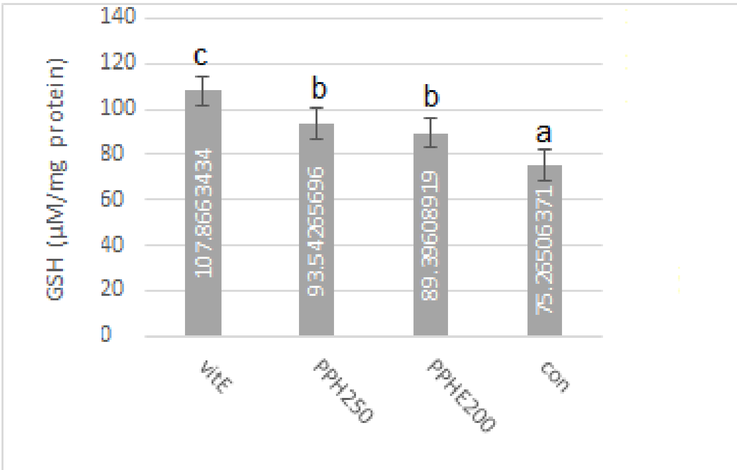


نمودار ۱: فعالیت آنزیم کاتالاز بین گروه‌های آزمایشی

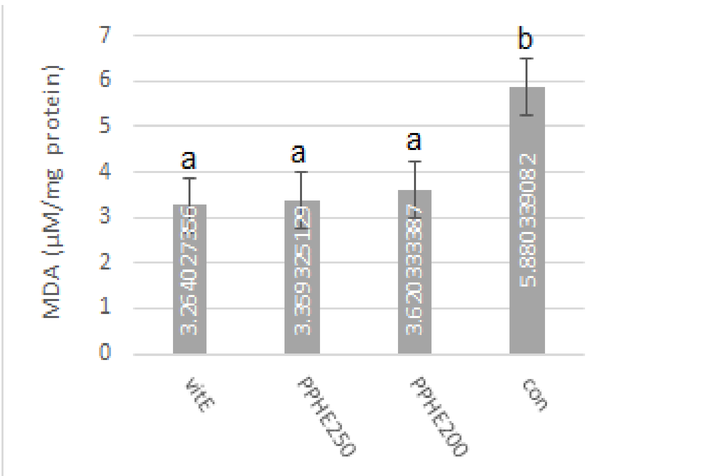
a-c در هر ستون دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).



نمودار:۲ فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بین گروه‌های آزمایشی
a-c در هر ستون دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).



نمودار ۳: میزان گلوتاتیون احیاء بین گروه‌های آزمایشی
a-c در هر ستون دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).



نمودار ۴: میزان مالون دی آلدهید بین گروه‌های آزمایشی
a-c در هر ستون دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

بحث:

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات آنتی‌اکسیدان (غیر آنزیمی) منجر به تبدیل رادیکال‌های آزاد سمی به محصولات غیر سمی شده و از این طریق باعث محافظت سلول‌ها در برابر صدمات ناشی از استرس اکسیداتیو می‌شوند (۱۹،۱۸). وجود ترکیبات پلی فنلیک در پوست انار ممکن است مسئول اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی عصاره تهیه‌شده از آن باشد (۲۰). ازاین‌رو می‌توان پیشنهاد کرد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدرو الکلی مشاهده‌شده در پوست انار به دلیل حضور این ترکیبات باشد. همچنین ویتامین E برای فعالیت طبیعی سلول‌های بدن در حین فعالیت ورزشی ضروری است و نشان داده‌شده است که تولید رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدی در کبد و ماهیچه اسکلتی رت هایی که دارای کمبود ویتامین E بودند و تحت استرس ورزش شدید قرار داشتند به‌شدت افزایش‌یافته است (۲۱). از آنجا که همه واکنش‌های شیمیایی در سلول‌های بدن تحت کنترل دقیق آنزیم‌ها است ازاین‌رو، برای تطابق و کنترل سوخت‌وساز بدن نیاز است واکنش‌های جانبی ناخواسته مانند پراکسیداسیون چربی و اکسیداسیون پروتئین‌ها برای عملکرد طبیعی سلول‌ها به حداقل برسد. این امر تا میزان زیادی بر حفظ ساختار طبیعی مولکول‌ها در برابر اختلال سوخت‌وساز بدن تکیه دارد. بااین‌حال تولید رادیکال‌های سوپر اکسید $O2^{\bullet-}$ و هیدروکسیل (OH) در اثر فعالیت فیزیکی بدن اجتناب‌ناپذیر است که نتیجه آن تولید مالون دی آلدهید و حمله به لیپیدهای غشا سلول خواهد بود (۲۲). بنابر این در بررسی حاضر تأثیر احتمالی هم‌افزایی مصرف آنتی‌اکسیدان‌های با منشاء خارجی به همراه ورزش منظم شنا و به دنبال آن استرس ناشی از فعالیت شدید ورزشی موردمطالعه قرارگرفته است. یافته‌ها نشان داد که مصرف عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامین E به‌صورت خوراکی به‌عنوان منبع آنتی‌اکسیدان به همراه فعالیت ورزشی منظم می‌تواند باعث کاهش اثرات استرس ناشی از فعالیت شدید بدنی و بالا بردن ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن شود.

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که مصرف mg/kg ۲۰۰ و mg/kg ۲۵۰ عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامین E در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل موجت کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در سرم می‌شود. ورزش‌های طاقت‌فرسا به‌صورت مستقیم از طریق مهار سیستم دفاع آنزیمی گلبول قرمز منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در پلاسما شده (۲۴،۲۳) و مطالعات زیادی افزایش غلظت مالون دی آلدهید را به‌عنوان یکی از شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی در افراد به دنبال یک جلسه ورزش درمانده ساز گزارش کرده‌اند (۲۶،۲۵). جی و همکاران گزارش کرده‌اند که به دنبال یک جلسه فعالیت بدنی حاد غلظت مالون دی آلدهید در موش‌های صحرایی افزایش می‌یابد (۲۴). در مطالعه‌ای دیگر آلیسو و همکاران، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی را در جریان ورزش‌های درمانده ساز گزارش کرده‌اند (۲۷). در مطالعه‌ای دیگر مصرف عصاره متانولی پوست انار موجب کاهش مقدار مالون دی آلدهید در سرم شده است (۲۸) به‌طور مشابه، مصرف عصاره گیاه جینسنگ نیز در موش‌های صحرایی تحت استرس ورزش درمانده ساز موجب کاهش مقدار مالون دی آلدهید در سرم شد (۲۹). همچنین در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که مصرف عصاره متانولی پوست انار موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در بافت کبد، قلب و کلیه نیز می‌شود (۳۰) که با نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر مطابقت دارد. به نظر می‌رسد توانایی عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامین E در کاهش مولکول‌های اکسیدان ناشی از مهار رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS) توسط آن‌ها بوده که منجر به کاهش پراکسیداسیون لیپیدی شده است (۳۱).

مطالعه حاضر نشان داد که مصرف mg/kg ۲۰۰ و mg/kg ۲۵۰ عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامین E در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل موجت افزایش مقدار گلوتاتیون احیاء در سرم می‌شود. همچنین مطالعات قبلی نشان داده‌اند که ورزش طاقت‌فرسا باعث ایجاد آسیب‌های اکسایشی و اکسیداسیون گلوتاتیون می‌شود (۳۴،۳۳،۳۲). در یک مطالعه روی ۱۸ دونده ماراتن غلظت گلوتاتیون اکسیدشده پلاسما بلافاصله بعد از ماراتن افزایش پیدا کرد (۳۲). باوجودی که نتایج یک مطالعه حاکی از آن است که مصرف عصاره متانولی پوست انار باعث افزایش غلظت سرمی گلوتاتیون احیاء می‌شود (۲۸)، در مطالعه دیگری مصرف آب انار به همراه ورزش منظم باعث تغییری در غلظت سرمی گلوتاتیون احیاء در مقایسه با گروه کنترل نشده است (۳۵). نتایج مطالعه‌ای نشان داد که مصرف عصاره گیاه سنگ قرمز موجب افزایش غلظت سرمی گلوتاتیون احیاء می‌شود (۳۶) که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مطابقت دارد. به نظر می‌رسد مصرف عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامین E موجب کاهش اثر بازدارندگی آنزیم محدودکننده سنتز گلوتاتیون می‌شود (۳۶).

همچنین یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که مصرف mg/kg ۲۰۰ و mg/kg ۲۵۰ عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامین E در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل موجب افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در سرم شد. در خصوص فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نتایج مطالعات قبلی نشان داده است که فعالیت این آنزیم تحت استرس ورزش درمانده ساز در بافت عضلانی و سرم روندی کاهشی (۳۷،۳۲) یا بدون تغییر (۳۸) بوده است، درحالی‌که در مطالعه‌ای دیگر غلظت سرمی این آنزیم

روندی افزایشی داشته است (۳۹). مصرف عصار متانولی دارچین باعث افزایش غیر معناداری در فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در بافت عضلانی رت های تیمار شده با این عصار و تحت استرس ورزش درمانده ساز در مقایسه با گروه کنترل شده است (۴۰). از طرفی وسس و همکاران گزارش کردند که مصرف عصاره گیاه جینسنگ باعث بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی کبد توسط فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز می‌شود (۴۱). به‌طور مشابه در مطالعه‌ای دیگر عصاره متانولی پوست انار موجب افزایش فعالیت این آنزیم در مغز موش‌های صحرایی شده است (۲۸) که با نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش حاضر مطابقت دارد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف mg/kg ۲۰۰ و mg/kg ۲۵۰ عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامینE در مقایسه با گروه کنترل موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در سرم شده است. مطالعات قبلی نشان داده که مصرف عصاره متانولی پوست انار موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در مغز و سرم موش‌های صحرایی شده (۲۸) و در موردی دیگر مصرف عصاره گیاه جینسنگ موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز عضله موش‌های صحرایی تحت استرس ورزش حاد شد (۴۲) که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت داشت. به نظر می‌رسد قدرت مهارکنندگی عصاره هیدرو الکلی و ویتامین E در خنثی نمودن رادیکال‌های آزاد گونه اکسیژن باعث کمک به سیستم دفاع آنزیمی شده که نتیجه آن افزایش فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز است.

نتیجه‌گیری:

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، مصرف عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامین E به‌عنوان یک منبع خارجی آنتی‌اکسیدانی می‌تواند با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و کمک به سیستم دفاعی آنزیمی منجر به کاهش اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از فعالیت شدید بدنی شود.

تشکر و قدردانی:

بدین‌وسیله از مدیریت و کارکنان مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان که امکانات لازم برای اجرای این طرح را فراهم کردند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

تعارض و منافع:

هیچ‌گونه تعارض و منافع توسط نویسندگان بیان‌نشده است.

References:

1. Lansky EP, Newman RA. Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. J Ethnopharmacol 2007; 109(2): 177-206.
2. Jurenka JS. Therapeutic applications of pomegranate (Punica granatum L.): A review. Altern Med Rev 2008; 13(2): 128-144.
3 Kiran B, Lalitha V, Raveesha KA. Psoralea corylifolia L. A potent medicinal plant with broad spectrum of medicinal properties. J Fundam Appl Sci 2013;2(1):20–22.
4. Prasad MP, Shekhar S, Amit B. Phytochemical analysis and antioxidant potential of Piper species and its molecular characterization by RAPD markers. J Fundam Appl Sci 2012; 1(1):7–10.
5. Rice-Evans C.A, Miller N.J, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radic Biol Med 1996; 20(7), 933-56.
6. Yu J, et al. Antioxidant activity of citrus limonoids, flavonoids, and coumarins. J Agric Food Chem 2005; 53(6): 2009-14.
7. Zhang L, Li L, Li Y, et al. In vitro antioxidant activities of fruits and leaves of pomegranate. Acta Hortic 2008; 765, 31-34.
8. Wang R.F,et al. Bioactive compounds from the seeds of Punica Granatum (pomegranate). J Nat Prod 2004; 67(12): 2096-8.
9.Yumiko Y, Ryuichi N, Akira O, et al. ROS Scavenging Activity and Muscle Damage Prevention in Eccentric Exercise in Rats. Physiol Sci 2007; 57(4): 211–216
10. Esterbauer H, Schaur RJ, Zoliner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehydeand related aldehydes. Free Radic Biolo Med 1991; 11(1): 81-128.
11. Oruc EO, Usta D. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of Cyprinus carpio. Environ Toxicol Pharmacol 2007; 23(1) : 48-55
12. Ji LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. Med Sci Sports Exerc 1993; 25(2):225-231.
13. Gündüz F, Sentürk UK, Kuru O, et al. The effect of one year’s swimming exercise on oxidant stress and antioxidant capacity in aged rats. Physiol Res 2004; 53(2):171-176.
14. Esterbauer H, Zollern H. Methods for determination of aldehydic lipid peroxidation products. Free Radic Biol Med 1989; 7(2): 197-203.
15. Rahman I, Kode A, Biswas SK.Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. Nat Protocols 2007; 1(6): 3159-3165.
16. Aebi H. Catalase in vitro. Methods in enzymology 1984; 105: 121-126.

17. Rotruck J, et al. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Science 1973; 179(4073): 588-590.
18. Kim HY, Sin SM, Lee S, et al. The butanol fraction of bitter melon (Momordica charantia) Scavenges Free Radicals and Attenuates Oxidative Stress. J Prev Nutr Food Sci 2013; 18(1):18-22.
19. Tekiner-Gulbas B, Westwell AD, Suzen S. Oxidative stress in carcinogenesis: new synthetic compounds with dual effects upon free radicalsand cancer. J Curr Med Chem 2013; 20(36):4451-9.
20. Gil MI, Tomas-Barberan FA, Hess-Pierce B, et al. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. J Agric Food Chem 2000; 48(10): 4581-4589.
21. Daveis KJA, Quintaniha TA, Brooks GA, et al. Free radical and tissue damage producted by exercise. J Biophys Res common 1982; 107(4):1198-1205.
22. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. J Physiol Rev 2008; 88:1243–1276.
23. Scandalios JG. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. Braz J Med Biol Res 2005; 38(7):995-1014
24. Ji LL, Fu R. Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide. J Appl Physiol 1992; 72(2): 549-554.
25.Oztasan N, Taysi S, Gumustekin K, et al. Endurance training attenuates exercise-induced oxidative stress in erythrocytes in rat. Eur J Appl Physiol 2004; 91(5-6):622-7.
26. Dabidi Roushan V, Choubineh S, Faramarzi M. The effect of taurin on lipid peroxidation following exhaustive endurance training in Wistar rats. Olympic 2006; 4(36):99-109.
27. Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, et al. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. J Med Sci Sports Exerc 2000; 32(9):1576-81.
28. Ahmed E, Abdel M. Antioxidant activities of Punica granatum (pomegranate) peel extract on brain of rats. J Med Plants Res 2012; 6(2), 195-199.
29. Oliveira AC, Perez AC, Prieto JG, et al. Protection of Panax ginseng in injured muscles after eccentric exercise. J Ethnopharmacol 2005; 97(2):211–214.
30. Parmar HS, Kar A. Medicinal values of fruit peels from Citrus sinensis, Punica granatum, and Musa paradisiaca with respect to alterations in tissue lipid peroxidation and serum concentration of glucose, insulin, and thyroid hormones. J Med Food 2008; 11: 376-381.
31. Sérvio A B, Luiz C A, Vitor E V, et al. Effects of vitamin E supplementation on renal non-enzymatic antioxidants in young rats submitted to exhaustive exercise stress. J BMC Complementary and Alternative Medicine 2011; 11:133
32. Scandalios JG. Oxidative stress. Molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. Braz J Med Biol Res 2005; 38(7):995-1014.
33. Petibois C, Deleris G. Evidence that erythrocytes are highly susceptible to exercise oxidative stress: FT-IR spectrometric studies at the molecular level. J Cell Biol Int 2005; 29(8):709-16.
34. Sastre J, Asensi M, Gasco E, et al. Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration. Am J Physiol 1992; 263(5 pt 2):992-5
35. Jordan G, Luz L O, SophieV, et al. Exercise training combined with antioxidant supplementation prevents the antiproliferative activity of their single treatment in prostate cancer through inhibition of redox adaptation. J Free Radic Biol Med 2014; 95–105.
36. Verhaeghe J, van Bree R, Van Herck E. Oxidative stress after antenatal betamethasone: acute down regulation of glutathione peroxidase-3. J Early Hum Dev 2009; 85:767–771.
37. Dunlap KL, Reynolds AJ, Duffy KL. Total antioxidant power in sled dogs supplemented with blueberry comparison of blood parameters associated with exercise. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 2006; 143(4): 429-434.
38. Morrillas- Ruiz JM, Villegas Garcia JA, Lopez FJ, et al. Effect of polyphenolic antioxidant on exercise-induced oxidative stress. J Clin Nutr 2006; 25(3): 444-453.
39. Dehghan Gh, Ebrahimi S, Mohammadi M, et al.Antioxidant effect of cinnamom bark extract following and exhaustive exercise in male rats. J Babol Univ Med Sci 2011; 13(5): 21-28.
40. Dehghan Gh, Shaghaghi M, Jafari A, et al. Effect of endurance training and cinnamon supplementation on post-exercise oxidative responses in rats. Mol Biol Res Commun 2014; 3(4):269-281.
41. Voces J, Alvarez AI, Vila L, et al. Effects of administration of the standardized Panax ginseng extract G115 on hepatic antioxidant function after exhaustive exercise. J Comp Biochem Physiol Pharmacol Toxicol Endocrinol 1999; 123(2):175–184.
42. Szu-Hsien Yu, Hui-Yu H, Mallikarjuna K, et al. Oral Rg1 supplementation strengthens antioxidant defense system against exercise-induced oxidative stress in rat skeletal muscles. J Int Soc Sports Nutr 2012; 9:23.

Original Article

The effect of pomegranate peel hydroalcoholic extract and vitamin E supplementation on strengthening antioxidant defense system in rats under exhaustive exercise stress

Saeed Veiskarami*[1], Mohammad Hassan Fathi Nasri[1], Hassan Ahmadvand[2, 3] Ladan Rashidi[4], Forozan Hadipur Moradi[2]

Received: 2017/12/02 Revised: 2017/11/02 Accepted: 2016/31/06

1. Dept of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran
2. Dept of Biochemistry, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran
3. Dept of Biochemistry, Razi Medical Plants Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran
4. Standards Research Institute, National Standards Organization of Iran, Karaj, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 14, No.4, Winter 2017

Pars J Med Sci 2017; 14(4):34-42

Abstract

Introduction:
Acute exhaustive exercise increases reactive oxygen species, which may decrease antioxidant capacity of the body. Regular exercises and antioxidants consumption can improve antioxidant capacity. The present study aimed to determine the protective effect of pomegranate peel hydroalcoholic extract supplementation on oxidative responses induced by an exhaustive exercise schedule in rats.

Materials and Methods:
Thirty-two male rats were randomly divided into four groups of eight: control group received saline, PPHE200 group received 200 mg/kg pomegranate peel hydroalcoholic extract orally, PPHE250 gorup received 250 mg/kg pomegranate peel hydroalcoholic extract orally, and Vit E group received 5 mg/kg vitamin E orally. After eight weeks of regular exhaustive exercise the activity level of glutathione peroxidase, catalase, reduced glutathione and lipid peroxidation was measured.

Results:
The activity of glutathione peroxidase, catalase and reduced glutathione significantly increased in PPHE200, PPHE250 and vit E groups than in the control ($p<0.05$). Malondialdehyde level significantly reduced in PPHE200, PPHE250 and vitE groups than in the control ($p<0.05$).

Conclusion:
The results showed that pomegranate peel hydroalcoholic extract supplementation may be beneficial in improving antioxidant defense system and in reducing oxidative stress induced by an exhaustive exercise.

Keyword: Exhaustive Exercise, Oxidative Stress, Antioxid

* Corresponding author, Email: sveiskarami@gmail.com