«مقاله‌ی اصیل»

بررسی تأثیر عصاره‌ی متانولی هسته‌ی خرما (*Phoenix dactylifera*) بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی تام و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز خون موش صحرایی

امیر سیاهپوش[1*]، فرهاد مؤمنی[2]، یونس آزادبخت[2]، سید مرتضی حسینی [2]

1- استادیار گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و ترکیبات طبیعی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران.
تلفن و پست الکترونیک: 09167250548
Amirsiahpoosh@yahoo.com

2- دانشجوی دکترای حرفه‌ای داروسازی، دانشکده داروسازی،کمیته تحقیقات دانشجویی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و ترکیبات طبیعی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران.
تلفن و پست الکترونیک: 09163619548
farhadmomeni90@gmail.com

تلفن و پست الکترونیک: 09196315742
yones.azadbakht@yahoo.com
تلفن و پست الکترونیک: 09166607224
mortezahosine@yahoo.com

* نویسنده‌ی مسؤول:
امیر سیاهپوش؛ ایران، اهواز، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران، دانشکده‌ی داروسازی، گروه فارماکوگنوزی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و ترکیبات طبیعی.
تلفن: 09123866989
Email:amirsiahpoosh@yahoo.com

چکیده

زمینه: در شرایط استرس اکسیداتیو شدید تعادل سیستم اکسیدان-آنتی‌اکسیدان در بدن بهم خورده که این اختلال معمولاً در جهت تولید اکسیدان‌های بیشتر است و بدنبال آن ماکرومولکول‌های مهمی مانند DNA در بدن دچار تغییرات جبران‌ناپذیری می‌شوند. گزارش‌هایی مبنی بر اثرات درمانی خرما وجود دارد. در این مطالعه میزان تأثیر هسته‌ی خرما بر روی ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی و میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در سرم خون و اریتروسیت‌های موشهای صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

روش: پس از جمع‌آوری و شناسایی میوه‌ی خرما، هسته‌ی آن خرد شده و با استفاده از روش خیساندن و حلال متانول عصاره‌گیری انجام گردید. موش‌های صحرایی در 4 گروه 6 تایی (کنترل، 25، 50، 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم و بمدت 15 روز بصورت تزریق داخل صفاقی عصاره داده شد. سپس از شریان کاروتید خون‌گیری انجام گردید. نمونه‌ها به دو قسمت سرم و اریتروسیت تقسیم و ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی و میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در نمونه-های سرم و اریتروسیت با استفاده از کیت بررسی شد.

نتایج: در دوزهای 25، 50 و 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان ظرفیت آنتی-اکسیدانتی سرم از حجم 10 میکرولیتر به‌ترتیب:23/40، 40/40 و 54/34 و دراریتروسیت 124/35، 156/73 و 198/29 می‌باشد و میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز سرم در دوزهای فوق بترتیب: 0/087، 0/232و 0/306 و اریتروسیت-ها بترتیب: 0/116،0/285 و 0/653 می‌باشد.

نتیجه‌گیری: موش‌های صحرایی که دوز بیشتری از عصاره‌ی هسته‌ی خرما به آنها تزریق شده بود دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل بیشتری بودند و میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در آنها نسبت به بقیه بالاتر بود که این نشان دهنده تأثیرگذاری مناسب عصاره‌ی هسته‌ی خرما می‌باشد.

کلید واژگان: هسته، خرما، آنتی‌اکسیدانت، گلوتاتیون‌پراکسیداز، موش صحرایی.

تاریخ دریافت: 91/1/23 **تاریخ پذیرش**: 91/4/18

www.SID.ir

مقدمه

آسیب اکسیداتیو، اصطلاحی کلی است که نشان‌دهنده‌ی حمله‌ی رادیکال‌های آزاد به مولکول‌های بیولوژیکی است. همه‌ی مولکول‌های موجود در بدن جانداران شامل: لیپیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و کربوهیدرات‌ها در معرض آسیب اکسیداتیو قرار دارند (1).

چنانچه غلظت مواد اکسیدان در بدن از حد طبیعی بالاتر رود می‌تواند موجب آسیب‌های جبران‌ناپذیری برای بدن گردد. برای مثال به قند دزوکسی‌ریبوز در ساختار DNA حمله و باعث موتاسیون آن می‌شوند. آنتی‌اکسیدانت، ماده‌ای است که بتواند از آسیب اکسیداتیو به مولکول هدف جلوگیری کند یا آن را به تأخیر بیندازد (1). آنتی‌اکسیدانت‌های بیولوژیک، مولکول‌های طبیعی هستند که می‌توانند از تشکیل کنترل نشده‌ی رادیکال‌های آزاد و اکسیژن فعال‌شده جلوگیری کنند یا واکنش‌هایی که توسط آنها انجام می‌شود را مهار کنند. از بین رفتن رادیکال‌های آزاد و اکسیژن فعال‌شده توسط آنتی-اکسیدانت داخلی انجام می‌شود (2). با این حال به خاطر نقص در تولید آنتی‌اکسیدانت‌ها در بدن یا به خاطر عوامل و موقعیت‌های فیزیوپاتولوژیک (از قبیل سیگار کشیدن، آلودگی هوا، تابش UV، رژیم‌های حاوی اسید چرب اشباع نشده بالا، التهاب، خونریزی و غیره) که در آن‌ها اکسیژن فعال به مقدار فراوان تولید می‌شوند، آنتی-اکسیدانت‌های خوراکی برای مقابله با اثرات تجمعی آسیب‌های اکسیداتیو مورد نیاز هستند (3). در بدن موجودات زنده آنزیم‌ها و مواد آنتی‌اکسیدانت مانند یک چرخه‌ی بسیار منظم عمل می‌کنند و این موجودات را در برابر خطر ناشی از اکسیدان‌ها حفظ می‌کنند. از مهمترین این آنزیم‌ها می‌توان به سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردکتازو... اشاره کرد. آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در سال 1957 توسط گردون میلز کشف شد (4) نام کلی یک آنزیم از خانواده‌ی پراکسیدازها می‌باشد که دارای نقش زیست‌شناختی مهمی در بدن موجودات زنده برای جلوگیری از آسیب‌های اکسیدانی است. عملکرد بیوشیمی گلوتاتیون پراکسیداز کاهش لیپید هیدروپراکسیدها به الکل و همچنین هیدروژن پراکسید به آب می‌باشد، گلوتاتیون پراکسیداز دارای چندین ایزوآنزیم است که توسط ژن‌های مختلف رمزگذاری شده است در انسان هشت ایزوآنزیم از گلوتاتیون پراکسیداز یافت شده است (5). گلوتاتیون پراکسیداز به طور کلی یک سلنو پروتئین است که همه‌ی ایزوآنزیم‌های آن به جز GP_X4 که ساختار مونومری دارد تترامر هستند (6) موش‌های فاقد GP_X در طول دوران جنینی از بین می‌روند (7) آسیب به این آنزیم موجب افزایش ریسک سرطان می‌گردد (8). پراکسیدازهای نشاندار به عنوان ایمونوگلوبولین برای نشان دادن آنتی‌ژن بافت‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین در ایمنواسی برای اندازه‌گیری کمی آنتی‌ژن‌های محلول و نامحلول استفاده می‌شوند (9-11). پراکسیداز توسط سیانید در غلظت 5-10 مولار مهار می‌گردد (12).

درخت خرما *(Phoenix dactylifera* L.*)* از خانواده‌ی Palmae است *(13)*. از جمله اثرات ذکر شده برای خرما در طب سنتی می‌توان به تقویت‌کننده‌ی عمومی بدن و چاق کننده، تسریع کننده‌ی زایمان، ضد درد اشاره کرد (14). همچنین خرما برای فلج، لقوه، تقویت کلیه، درد کمر و نرم کردن مفاصل خوب است. هسته‌ی خرما قابض است. خوردن دم‌کرده‌ی هسته برای خرد کردن سنگ مثانه و ساییده‌ی آن برای بند آوردن اسهال و گرد سوخته‌ی آن برای زخم‌های بدخیم نافع است (15).

گزارش‌هایی از اثرات ضدسرطانی، ضدتومور، حفاظتی در زخم معده، ضدالتهابی و آنتی‌موتاژنیکی میوه‌ی خرما وجود دارد (16). تحقیقات اپیدمیولوژیک نشان داده که بسیاری از این ترکیبات آنتی‌اکسیدانت دارای اثرات ضدالتهابی، ضد آترواسکلروزیسی، ضد توموری، ضد موتاژنی، ضد سرطان‌زایی، ضد ویروسی و ضد باکتریایی می‌باشند (17).

www.SID.ir

روش

ابتدا میوه‌ی خرما (*Phoenix dactylifera*)را از رویشگاه طبیعی آن در استان خوزستان (شهرستان بهبهان) در فصل پاییز جمع‌آوری کرده و پس از جدا کردن هسته از میوه، هسته را به صورت جداگانه آسیاب کرده و عصاره‌گیری با استفاده از روش خیساندن و حلال متانول انجام شد(18) و توسط دستگاه *Freeze dryer* پودر عصاره تهیه گردید. دوزهای 25، 50 و 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره‌ی هسته‌ی خرما تهیه گردید. در این آزمایش از چهار گروه شش‌تایی از موش‌های صحرایی استفاده شده که به سه گروه دوزهای بالا از عصاره و به یک گروه نرمال سالین، به مدت 15 روز به صورت داخل صفاقی تزریق گردید سپس خون‌گیری به صورت مستقیم از شریان کاروتید انجام شد. برای آماده کردن نمونه‌های خونی برای جلوگیری از لخته شدن نمونه‌ها به آنها *EDTA* اضافه شد.

روش تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل

برای آماده‌سازی نمونه‌های خونی برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل، ابتدا نمونه‌ها در4 درجه‌ی سانتیگراد به مدت 10 دقیقه در 1000 دور سانتریفیوژ شدند. لایه‌ی رویی که شامل سرم خون است به لوله‌های جدید انتقال داده و نمونه‌ها تا زمان انجام تست‌های جدید در دمای 80- درجه‌ی سانتیگراد نگهداری گردیدند، و به لایه‌ی زیرین که شامل سلول‌های خونی است به اندازه‌ی 5 برابر حجم‌شان آب مقطر دوبار تقطیر اضافه شده و نمونه‌ها را در 4 درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت 10 دقیقه در 10000 دور سانتریفیوژ می‌شوند. به منظور تعیین ظرفیت آنتی-اکسیدانتی از کیت‌های مخصوص تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانتی ساخت شرکت abcam استفاده گردید (Uk, ab65329) بدین منظور0-100 میکرولیتر از هر یک از نمونه‌های سرم و سلول‌های خونی را در هر چاهک ریخته و سپس حجم نمونه‌ها را با استفاده از آب مقطر دو بار تقطیر به 100 میکرولیتر رسانده شد و به هر چاهک 100 میکرولیتر محلول کار که حاوی (CU^{++}) اضافه گردید که در اثر واکنش این ماده با مواد آنتی‌اکسیدانت، CU^{++} به CU^{+} تبدیل می‌گردد، سپس نمونه‌ها را به مدت 1/5 ساعت در دمای اتاق انکوبه و جذب در 570 نانومتر اندازه‌گیری شد.

نمودار استاندارد ترولاکس: برای اندازه‌گیری میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل باید منحنی استاندارد ترولاکس (ویتامین E محلول در آب) رسم گردد. برای رسم این منحنی 0، 2، 4، 8، 12، 16 و 20 میکرولیتر از محلول استاندارد ترولاکس داخل هر چاهک ریخته شده و سپس حجم کلی هر چاهک با استفاده از آب مقطر دوبار تقطیر به 100 میکرولیتر رسیده که غلظت‌های 0، 2، 4، 8، 12، 16 و 20 نانومولار از ترولاکس به دست می‌آید، در آخر به هر چاهک 100 میکرولیتر محلول کار (CU^{++}) اضافه گردید و به مدت 1/5 ساعت در دمای اتاق انکوبه می‌گردند و جذب در طول موج 570 نانومتر اندازه گردید و منحنی استاندارد ترولاکس رسم می‌گردد (19).

روش تعیین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز:

اندازه‌گیری گلوتاتیون پراکسیداز (*GPx*): به منظور تعیین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز از کیت این آنزیم که ساخت شرکت abcam استفاده گردید (Uk, ab102530) و بدین منظور ابتدا آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با کمک گلوتاتیون ردکتاز فعال می‌گردد. سپس *GPx*, کامن‌هیدروپراکساید (Cummene hydroperoxide) را کاهش می‌دهد، و GSH به GSSG کاهش می‌یابد سپس GSSG توسط گلوتاتیون ردکتاز با مصرف *NADPH* به GSH تبدیل می‌شود. کاهش *NADPH* متناسب با گلوتاتیون پراکسیدازی است، که در واکنش فعال می‌گردد. کاهش *NADPH* در 340 نانومتر اندازه‌گیری می‌شود از این روش می‌توان برای اندازه‌گیری گلوتاتیون پراکسیداز در سرم و اریتروسیت استفاده کرد.

www.SID.ir

برای بررسی نمونه‌های خونی ابتدا مانند روش فوق نمونه‌ها در 1000 دور سانتریفیوژ می‌گردند و سپس محلول رویی (سرم) مستقیماً مورد استفاده قرار می‌گیرد و در مورد نمونه‌های اریتروسیت ابتدا (تعداد 10^6 یا 0/2ml اریتروسیت) را که در محیط سرد یا روی یخ قرار داده شده است به آن 0/2 میلی‌لیتر بافر سرد اضافه می‌گردد سپس نمونه‌ها در 4 درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه در 10000 دور سانتریفیوژ می‌شوند. محلول رویی برای اندازه‌گیری جمع می‌شود. نمونه‌ها را می‌توان به مدت یک ماه در 80- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری کرد. 20 میکرولیتر از نمونه‌ها را به پلیت‌های 96 خانه‌ای اضافه کرده و حجم آنها را با بافر اندازه‌گیری، به 100 میکرولیتر رسانده سپس به هر یک از چاهک‌ها 90 میکرولیتر *Reaction Mix*، را که به شیوه‌ی زیر آماده می‌شوند، اضافه می‌گردد.

82µl Assay Buffer, 4µl NADH 40Mm, 2µ l GR Solution,2µl GSH solution) به هر نمونه تست 90 میکرولیتر از محلول فوق را اضافه کرده و آن را خوب هم زده و سپس به مدت 15 دقیقه اینکوبه می‌کنیم تا از همه‌ی *GSSG* خالی شود 10 میکرولیتر از محلول کامن هیدروپراکساید برای آغاز واکنش، GP_X به نمونه‌ها اضافه کرده و خوب هم زده و سپس جذب در 340 نانومتر به عنوان زمان T_1 برای اندازه‌گیری A1 خوانده می‌شود سپس بعد از 5 دقیقه اینکوبه کردن در دمای 25 درجه‌ی سانتیگراد در زمان T_2 در 340 نانومتر جذب خوانده می‌شود A2 اندازه‌گیری می‌گردد.

نمودار استاندارد*NADPH* :

25 میکرولیتر از محلول 40 میلی‌مولار *NADPH* را در 975 میکرولیتر آب مقطر دیونیزه رقیق کرده که *NADPH* یک میلی‌مولار به دست آمد 0، 2، 4، 8، 12، 16 و 20 میکرولیتر از *NADPH* یک میلی‌مولار را در چاهک‌های 96 خانه‌ای ریخته و سپس حجم نهایی با بافر اندازه‌گیری به 200 میکرولیتر رسانده شد و جذب آن را در طول موج340 نانومتر خوانده شد و نمودار استاندارد آن رسم گردید (20).

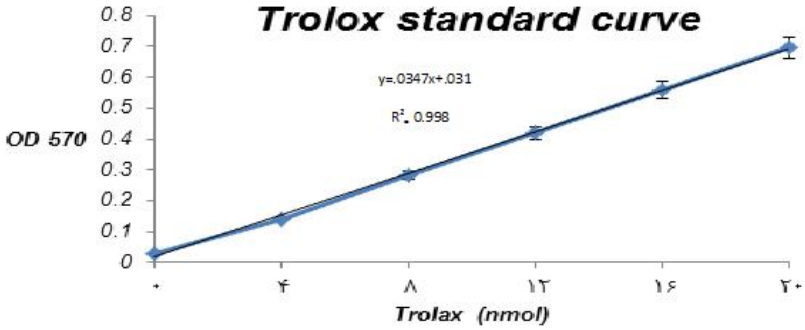
نتایج

الف- نتیجه‌ی بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل: در این آزمایش با کمک نمودار استاندارد ترولاکس و شیب به دست آمده از آن (نمودار1)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی نمونه‌های سرم و سلول‌های خونی به دست آمد. ابتدا حجم‌های 25، 50 و 75 میکرولیتر از نمونه‌های سرم و سلول‌های خونی استفاده گردید، که جذب آنها از محدوده‌ی جذب ترولاکس بیشتر شد، سپس غلظت 5 و 10 میکرولیتر از نمونه‌ها استفاده شد میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی سرم در غلظت‌های 0، 25، 50 و 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم از حجم 10 میکرولیتر به ترتیب: 23/40،1/81، 40/40 و 54/34 و در اریتروسیت: 32/66، 124/35، 156/73 و 198/29 می‌باشد که در حجم 10 میکرولیتر از نمونه‌های سرم (نمودار2) و نمونه‌های اریتروسیت (نمودار3) به دست آمد همان‌طور که مشخص است در دوز 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی هسته-ی خرما بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی را دارد و بین کل نمونه‌ها چه در نمونه‌های سرم و چه در نمونه‌های اریتروسیت تفاوت معناداری وجود دارد ($P< 0/05$).

ب- نتایج بررسی میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز: برای بررسی فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز ابتدا باید نمودار استاندارد *NADPH* رسم گردد (نمودار4)، سپس در نمودارهای 5و6 میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در نمونه‌های مربوط به سرم واریتروسیت مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه از حجم20 میکرولیتر از نمونه‌ها استفاده گردید در نمودار 5 به بررسی فعالیت آنزیم *GPx* در سرم خون پرداخته شده است و در نمودار 6 بررسی فعالیت آنزیم *GPx* در اریتروسیت پرداخته است، میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز سرم در غلظت‌های فوق به ترتیب: 0/076 ،0/087، 0233 و 0.306 و اریتروسیت‌ها به ترتیب: 0/089،0/116،

Archive
www.SID.ir

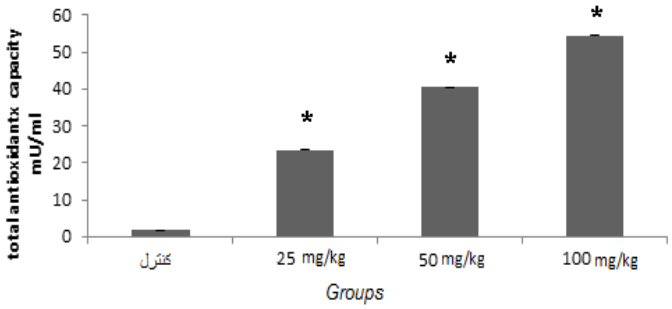
0/285 و 0/653 می‌باشد که نشان می‌دهد با افزایش دوز تزریقی از عصاره‌ی هسته‌ی خرما میزان فعالیت آنزیم *GPx* در نمونه‌های مربوط به اریتروسیت‌های خون افزایش می‌یابد که میزان افزایش آنزیم در این نمونه‌ها بیشتر از نمونه‌های سرم می‌باشد و در نمونه‌های سرم بین گروهی که دوز 25 mg/kg به آنها تزریق شده بود و گروهی که نرمال سالین به آنها تزریق شده بود اختلاف معناداری وجود ندارد و در گروه‌های دیگر اختلاف معنادار است در نمونه‌های اریتروسیت هم در کل گروه‌ها اختلاف معنادار است (P< 0/05).



نمودار1: نمودار استاندارد ترولاکس

-نتایج به صورت Mean±SEM حاصل از سه بار تکرار می‌باشد.

-جذب در طول موج 570 نانومتر می‌باشد



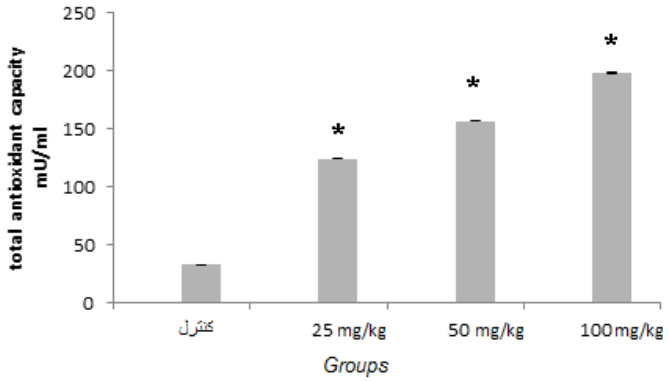
نمودار 2: مقایسه‌ی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در سرم موش صحرایی در چهار گروه

نتایج به صورت Mean ±SD می‌باشد.

تعداد نمونه ها در هر گروه 6 موش صحرایی می‌باشد

*: P<0/05 می‌باشد.

www.SID.ir

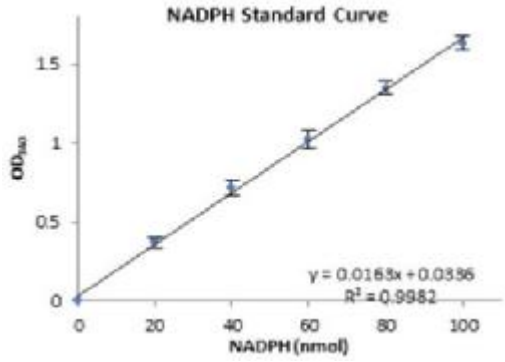


نمودار 3: مقایسه‌ی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در اریتروسیت سلول‌های خونی در چهار گروه

نتایج به صورت Mean ±SD می باشد.

تعداد نمونه‌ها در هر گروه 6 موش صحرایی می‌باشد

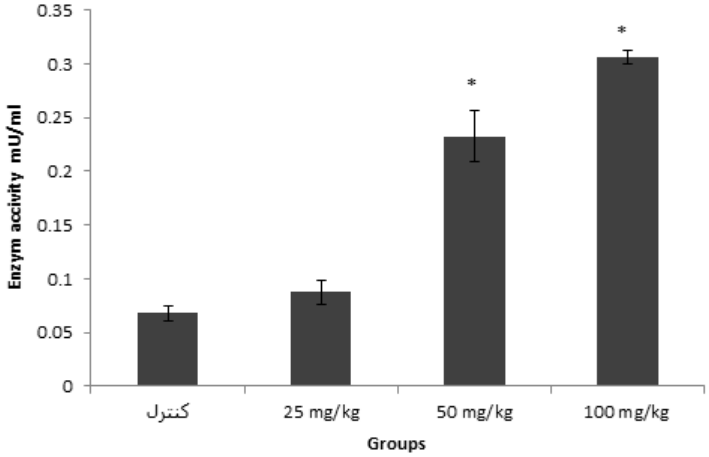
*: P<0.05 می‌باشد



نمودار4: نمودار استاندارد NADPH

-نتایج به صورت Mean±SEM حاصل از سه‌بار تکرار می‌باشد.

-جذب در طول موج 340 نانومتر می‌باشد



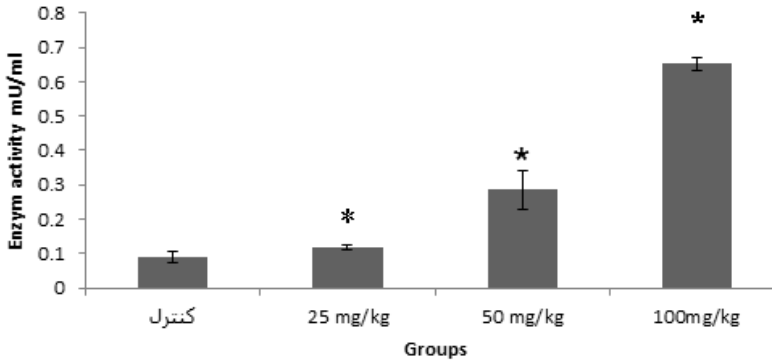
نمودار 5 : مقایسه‌ی فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در سرم خون در چهار گروه

تعداد نمونه‌ها در هر گروه 6 موش صحرایی می‌باشد

نتایج به صورت Mean ±SD می‌باشد.

*: P<0.05 می‌باشد.

www.SID.ir



نمودار 6: مقایسه‌ی فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در سلول‌های اریتروسیت در چهار گروه

نتایج به صورت Mean ±SD می‌باشد.

تعداد نمونه‌ها در هر گروه 6 موش صحرایی می‌باشد

*: $P<0.05$ می‌باشد.

بحث

اغلب آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در گیاهان در درمان بیماری‌های مختلف مؤثر بوده، بنابراین اندازه‌گیری دقیق ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در بدن موجودات زنده و تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت حیاتی در بدن موجودات زنده مانند گلوتاتیون پراکسیداز حائز اهمیت فراوان می‌باشد. پراکسیدازها همچنین بیشترین فراوانی را در بین آنتی‌اکسیدانت‌های طبیعی بدن دارا می‌باشند. سینگ و همکاران در مطالعه‌ای که بر روی سرطان سر و گردن انجام دادند، نشان دادند که در بیماران مبتلا به این سرطان میزان گلوتاتیون کاهش پیدا می‌کند (21).

در بررسی که در سال 2002 بر روی اثرات چای سبز بر روی لیپید پراکسیدها و همچنین اثرات آن بر روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در کبد و سرم خون موش صحرایی و همچنین سلول‌های مغزی آن صورت گرفت محققان مشاهده کردند که عصاره‌ی چای سبز در کبد باعث افزایش آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز می‌شود، و موجب کاهش لیپید هیدروپراکسیدها می‌گردد و همچنین موجب افزایش کم این آنزیم‌ها در سرم خون می‌شود (22).

بر اساس یک پژوهش در سال 2008 مشخص شد که اتانول باعث کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در بدن موش‌های صحرایی می‌گردد و آنزیم گلوتاتیون را به مقدار قابل توجهی کاهش می‌دهد که با استفاده از ریشه‌ی *Rubia Cordifolia* L می‌توان این ضعف آنتی-اکسیدانتی را جبران کرد (23). در مطالعات قبلی نشان داده شده است که هسته‌ی خرما دارای مقادیر بسیار بالای ترکیبات پلی‌فنلی می‌باشد و میزان ترکیبات پلی‌فنلی آن به مراتب بیش از میوه‌ی آن است (24). در نمودار 2 که به بررسی ظرفیت آنتی‌اکسدانتی کل در سرم پرداخته است همان‌طور که مشاهده می‌گردد موش‌های صحرایی که نرمال سالین به آنها تزریق شده است دارای ظرفیت آنتی-اکسیدانتی کل کمتر از گروه‌های دیگر هستند، اما هر چه میزان غلظت عصاره‌ی تزریقی بالاتر رفته است میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل بیشتر شده است. در نمونه‌های سلول‌های خونی هم هر چه میزان غلظت تزریقی از عصاره بالاتر رفته است، میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل بیشتر شده است اما تفاوت بین نمونه‌های سلول‌های خونی از نمونه‌های سرم است که این می‌تواند به دلیل

www.SID.ir

وجود مواد آنتی‌اکسیدانتی طبیعی در سلول‌های موجودات زنده باشد، ترتیب ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل در گروه‌های مختلف به شرح زیر است:

100mg/kg>50mg/kg>25mg/kg>NS همان-طور که مشخص است بیشترین ظرفیت مربوط به گروهی است که دوز 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم، به آنها تزریق شده است که این موارد خود نشان‌دهنده‌ی تأثیر مناسب عصاره‌ی هسته‌ی خرما بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل می-باشد. همچنین در مطالعات*in vitro* قبلی مشاهده گردیده است که هسته‌ی خرما دارای ظرفیت آنتی-اکسیدانتی مناسبی در تست‌های *TEAC)* Trolox equivalence anti oxidant capacity.*)* *FRAP (*Ferric reducing antioxidant power (picryl hydrazyl-diphenyl) *DPPH, (* می‌باشد (22). در نمودارهای 5و6 به بررسی فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در نمونه‌های سرم و سلول‌های خونی پرداخته شده است و همان طور که آمده است با افزایش غلظت تزریقی به موش‌های صحرایی میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در خون افزایش می‌یابد، که این نشان‌دهنده‌ی این است که بین افزیش غلظت تزریقی و افزایش در خون رابطه‌ی مستقیم وجود دارد، البته میزان افزایش آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در نمونه‌های مربوط به اریتروسیت بیشتر از نمونه‌های سرم است که نشان‌دهنده‌ی فعالیت بیشتر این آنزیم در درون سلول‌های اریتروست می‌باشد.

نتیجه‌گیری

عصاره‌ی هسته‌ی خرما باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل، هم در نمونه‌های سرم و هم در نمونه‌های سلول‌های خونی می‌شود، و این افزایش در نمونه‌های مربوط به اریتروسیت بیشتر است. همچنین باعث افزایش میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در نمونه‌ها می‌گردد، که با توجه به حضور بیشتر این آنزیم در داخل سلول میزان افزایش این آنزیم در نمونه‌های اریتروسیت بیشتر بوده است.

References

1-Guttridge JMC, Halliwell B. Antioxidants in nutrition, health and disease. London: Oxford University Press;1994.

2-Chaudiere G, Ferrari – Iliou R . Intracellular antioxidant : from chemical to biochemical mechanism . J Food Chem Toxicol 1999;37(9-10):949 –62.

3-Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. J Clin Nut 1993;57(5):715–25.

4-Mills GC. Hemoglobin catabolism I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. J Biol Chem. 1957; 229(1):189–97

5-Muller FL, Lustgarten MS, Jang Y, Richardson A, Van Remmen H. Trends in oxidative aging theories. Free Radic Biol Med 2007;43(4):477–503.

6-Epp O, Ladenstein R, Wendel A. The refined structure of the selenoenzyme glutathione peroxides at 0.2-nm resolution. Eur J Biochem 1983;133(1):51–69.

7-Ran Q, Liang H, Ikeno Y, Qi W, Prolla TA, Roberts LJ 2nd. Reduction in glutathione peroxidase 4 increases life span through increased sensitivity to apoptosis. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2007;62(9):932–42.

8-Khan MA, Tania M, Zhang D, Chen H. Antioxidant enzymes and cancer. Chin J Cancer Res 2010; 22(2):87–92.

9-Nakane PK, Pierce GB Jr. Enzyme-Labeled Antibodies for the Light and Electron Microscopic Localization of Tissue Antigens. J Cell Biol 1967;33(2):307-18.

10-Avrameas S, Guilbert B. Enzyme-Immunoassay for the Measurement of Antigens Using Peroxides Conjugates. Biochimie 1972;54(7):837-842.

11-VanWeemen BK, Schuurs AHWM. Immunoassay Using Antibody-Enzyme Conjugates. FEBS Lett 1974;15(3):232-236.

12- Kraus RJ, Prohaska JR, Ganther HE. Oxidized forms of ovine erythrocyte glutathione peroxidase. Cyanide inhibition of a 4-glutathione:4-selenoenzyme. Biochimica et Biophysica Acta. 1980, 615(1):19-26.

www.SID.ir

13-Azadbakht M. [Classificationof medicinal plants]. Tehran: Teimourzadeh publication; 1999. P. 342.[In Persian]
14-Samsamhariat H. [Selection of medicinal plants]. Isfahan: Mani;2004. p. 153. [In Persian]
15-Meyer Haider H. [Plant Sciences] Tehran: Office of the Islamic culture; 1993. P. 120-2. [In Persian]
16-Al-Qarawi AA, Abdel-Rahnama H, Ali BH, Mousa HM, Elmougy SA. The ameliorative effect of dates on ethanol-induced gastric ulcer in rat. J Ethnopharmacol 2005; 98(3):313-317.
17-Yizhong C, Qiong L, Mei S, Harold C. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sci 2004;74(17):2157-84.
18-Ghasemi N, Moatar F, Mohagheghzadeh A. [Introduction.Iranian Herbal Pharmacopoeia]. Tehran: Iranian Ministry of Health; 2003. P. 1-33. [In Persian]
19-Manual abcam.Total Antioxidant Capacity Assay Kit (ab65329).
20-Manual abcam.Glutathione Peroxidase Assay Kit (ab102530).
21-Singh YP, Sachdeva OP, Aggarwal SK. Blood Glutathione Levels in head and neak malignancie. Indian J Clin Biochem 2008;23(3):290-2.
22-Skrzydlewska E, Ostrowska J, Farbiszewski R, Michalak K.. Protective effect of green tea against lipid peroxidation in the rat liver, blood serum and the brain. Phytomedicine 2002; 9(3):232–8.
23- Joharpourkar AA, Zambad SP, Wanjari MM. In vivo evaluation of antioxidant activity of alcoholic extract of Rubia Cordifolia L. and its influence ethanol-induced immunosuppression. Indian J Pharmacol 2003;35:232-236.
24-Siahpoosh A, Golfakhrabdi F, Joorkesh F. [Determine and compare the antioxidant capacity of aqueous and methanol extracts of date fruits Phoenix dactylifera L. varieties Diri Abadan]. Res Med J Shahid beheshti Uni Med Sci 2011;35(2): 81-86.

Archive of SID

www.SID.ir

«Original Article»

Evaluation of the effect of date kernel (*phoenix dactylifera*) methanolic extract on the total antioxidant capacity and glutathione peroxidase enzyme of rat`s blood

Amir Siahpoosh[1*], Farhad Momeni[2], Younes Azadbakht[2], Seyed Morteza Housseini [2]

1-Assistant Professor of Pharmacognosy, Medicinal Plant And Natural Products Research Center, Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Jondishapour University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
2-Pharm. D. Student, School of Pharmacy, Student Research Committee, Medicinal Plant And Natural Products Research Center, Jondishapour University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran,

**Corresponding Author:*
Amir siahpoosh; Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Medicinal Plant And Natural Products Research Center, Jondishapour University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
Tell: 09166121382
Email: amirsiahpoosh@yahoo.com

Abstract

Background: In a severe oxidative stress condition, balance of oxidant-anioxdiant system of the body breaks down, which is in order to produce more oxidants and, after that, important macromolecules such as DNA undergo irreversible changes. There are reports indicating the therapeutic effects of the date. This study was aimed to evaluate the effect of date kernel`s on antioxidant capacity and the rate of glutathione peroxidase activity in the Rat`s blood serums and erythrocytes after intraperitoneal administration.

Methods: After collecting and identifying the date fruit, in this study, its kernel was crushed and extracted using maceration method by methanol. Rats were randomly divided into 4group (6 Rats),(control; 25, 50, and 100 mg/kg) and injected intraperitoneally with the extracts for 15 days. Sampling was carried out from the carotid artery. Samples were divided into two parts of serum and erythrocyte.by kits,
the antioxidant capacity and the rate of glutathione peroxidase activity in the samples of serum and erythrocytes were evaluated.

Results: Rates of antioxidant capacity of serum and erythrocyte in the concentration of 25, 50, and 100 were 23.40, 40.40, 54.34 and 124.35, 156.73, 198.29, respectively, and rates of glutathione peroxidase activity of serum and erythrocytes in the concentrations above were 0.87, 0.232, 0.306 and 0.116, 0.285, 0.653, respectively.

Conclusion: Rats which were injected by a more concentration of date kernel`s extract had more total antioxidant capacity and the rate of their glutathione peroxidase activity was more than the others indicating an appropriate effectiveness of the date kernel`s extract.

Keywords: antioxidant date, kernel, glutathione peroxidase, rat.

►*Please cite this paper as:*
Siahpoosh A, Momeni F, Azadbakht Y, Housseini SM . Evaluation of the effect of date kernel (phoenix dactylifera) methanolic extract on the total antioxidant capacity and glutathione peroxidase enzyme of rat`s blood. Jentashapir 2012;3(4):479-488

Received: 11.04.2012 **Accepted: 08.07.2012**

www.SID.ir