Archive of SID

مقاله پژوهشی

اثر مکمل آنتی اکسیدانها یا رژیمهای محدود از کالری بر استرس اکسیداتیو در موشهای صحرائی تغذیه شده با رژیمهای پرچربی

علی اصغر وحیدی نیا *، دکتر راهبه شاکر حسینی**، دکتر حسین محجوب***

دریافت : ۸۹/۵/۱ ، پذیرش : ۸۹/۸/۳۰

چکیده:

مقدمه و هدف: چاقی موجب افزایش استرس اکسیداتیو و پروسه های التهابی در هردو جنس می شود. نشان داده شده است آنتی اکسیدانهای طبیعی موجود در غذا دارای آثار ضد التهاب و ضد اکسیداسیون می باشند. هدف از مطالعه حاضر بررسی آثار مکملهای آنتی اکسیدانها یا محدودیت دریافت کالری بر مقادیر 8-Iso-PGF2α سرمی و ظرفیت کلی آنتی اکسیدان در رتهای تحت رژیمهای پرچرب القاءِ کننده چاقی بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی ۴۸ رت ویستار نر بطور تصادفی به چهار گروه رژیم پرچرب آزاد(۶۱٪ کالری از چربی)، رژیم پرچرب محدود (۳۰٪)، رژیم پرچرب حاوی مکمل آنتی اکسیدانهایastaxanthin، ویتامین Eو C آزاد، رژیم پرچرب- محدود (۳۰٪) حاوی مکمل آنتی اکسیدانها تقسیم و به مدت ۱۲ هفته با رژیم مورد نظر تغذیه شدند. غذای دریافتی حیوانات بصورت روزانه اندازه گیری و هفتگی توزین شدند. میزان سرمیIsoprostan-8 و ظرفیت کلی آنتی اکسیدان به روش EIA اندازه گیری شد.

نتایج: انرژی دریافتی روزانه حیوانات در گروههای دسترسی آزاد (۵۸/۸ kcal/rat/day و ۶/ ۵۸ به ترتیب برای رژیم فاقد آنتی اکسیدانها و حاوی آنتی اکسیدانها)و دسترسی محدود(۴۱/۷ kcal/rat/day و۴۱/۶ به ترتیب برای رژیم فاقد آنتی اکسیدانها و حاوی آنتی اکسیدانها) با یکدیگر تفاوت معنی دار نداشتند. مقدار 8-Iso-PGF2α در گروه کنترل۴۴۳/۵±۱۴۱۶/۲ و در گروه کنترل-محدود ۴۲۴/۴±۱۲۰۹/۴ pg/ml بود(P>0.05). این مقدار در دو گروه آنتی اکسیدان یکسان بود. کمترین میزان ظرفیت کلی آنتی اکسیدان درگروه کنترل ۰/۳۶±۰/۴ mM و بالاترین ظرفیت در گروه آنتی اکسیدان ۱/۱۳±۳/۰ mM بود(P<0.001).

نتیجه نهایی : این بررسی نشان داداعمال محدودیت در دریافت کالری و نیز افزودن مکمل آنتی اکسیدانها به رژیمهای پرچرب القاءِ کننده چاقی در رتها قادر است ضمن بهبود ظرفیت کلی آنتی اکسیدانی سرم تا حدودی نیز موجب سرکوب افزایش شاخص استرس اکسیداتیو گردد. بطوریکه در این مطالعه شاهد تمایل به کاهش این شاخص در گروههای دریافت کننده مکمل آنتی اکسیدانها و محدودیت در دریافت کالری غذائی بودیم.

کلید واژه ها: استرس اکسیداتیو / آنتی اکسیدان ها / چاقی / رژیم پر چربی

مقدمه :

چاقی بیماری مزمن، بد نام و پرهزینه ای است که به سختی درمان شده و طی چند دهه گذشته شیوع آن در اغلب نقاط دنیا افزایش یافته است (۱). بر آورد میشود قریب یک میلیارد بالغ دارای اضافه وزن و حدود ۳۰۰میلیون فرد چاق در جهان وجود داشته باشد(۲). عوامل مختلف شناخته شده محیطی و ژنتیک موجب چاقی می گردند. یکی از فاکتورهای محیطی اصلی چاقی مصرف رژیم پرچربی است که امروزه زیاد مصرف می شود. چاقی ریسک فاکتور بیماریهای متعددی نظیر بیماریهای قلبی- عروقی ، دیابت، هیپرلیپیدمی، پر فشاری خون، استئوآرتریت، سکته، و برخی انواع خاص سرطانها می باشد(۳) از اینرو پیشگیری از ابتلا به این بیماری و درمان آن برای فراهم کردن زندگی سالم بسیار مهم و از

* دانشجوی دوره دکتری علوم تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی (vahidinia@umsha.ac.ir)
** دانشیار گروه تغذیه دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
*** استاد گروه آمار و اپیدمیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی همدان

www.SID.ir

Archive of SID

مسائل مورد توجه سیستمهای مراقبتهای بهداشتی است.

در هنگام افزایش وزن و چاقی میزان گونه های واکنش پذیر اکسیژن و استرس اکسیداتیو در بدن افزایش یافته و یکی از دلائل ارتباط بین چاقی و بیماریهای مرتبط با چاقی نظیر مقاومت به انسولین و پرفشاری خون را این حالت میدانند(۴). ساخت غیر آنزیماتیک ایزوپروستانها از طریق رادیکالهای آزاد حاصل از پراکسیداسیون اسید آراشیدونیک از شاخصهای منحصر بفرد استرس اکسیداتیو می باشد(۵). 8-Iso-PGF2α (F2-isoprostane اصلی) در طی اکسیداسیون اسید آراشیدونیک توسط رادیکالهای آزاد هم در حیوانات آزمایشگاهی و هم در انسان افزایش می یابد. در افراد چاق مقدار 8-Iso-PGF2α پلاسما در مقایسه با افراد غیر چاق افزایش معنا داری دارد(۵،۶). کاهش وزن در افراد چاق منجر به کاهش مقدار پلاسمائی8-Iso-PGF2α شده است(۷). ارتباط مثبت بین BMI و 8-Iso-PGF2α در برخی مطالعات دیده شده است اما در مطالعه انجام شده بر روی مردان مسن این ارتباط دیده نشد(۵) علاوه بر این مطالعات مختلف نشان داده اند مقادیر سرمی ویتامینهای آنتی اکسیدان نیز در افراد چاق پائین می باشد(۸،۹). در مطالعه کیمونز مشخص شده است شایعترین مشکلات از نظر کمبود مواد مغذی در مبتلایان به اضافه وزن وچاقی، کمبود ویتامینهایE ، کارتنوئیدها و ویتامینC می باشد(۱۰). گالان نشان داده است مقادیر کاروتن و ویتامینC در افراد چاق مورد بررسی کمتر از افراد غیر چاق است(۱۱). از این رو مبتلایان به اضافه وزن وچاقی از یکسو با افزایش استرس اکسیداتیو مواجه اند و از سوئی دیگر کمبود ویتامینهای آنتی اکسیدان موجود درجریان خون آنها دیده می شود.

در حال حاضر اطلاعات ما در زمینه تاثیر مکمل آنتی اکسیدانها بر مقادیر F_2-isoprostane در بدن چندان زیاد نیست و بعضاً نتایج ضد و نقیضی نیز بدست آمده است. این مطالعه به دنبال پاسخ به این سئوال میباشد که آیا استرس اکسیدایتو که در طی رژیمهای غذائی پر کالری و پرچرب ممکن است ایجاد گردند را میتوان با تجویز مکمل آنتی اکسیدانها(سه ترکیب آنتی اکسیدانastaxanthin - پیگمان کارتنوئیدی با خاصیت آنتی اکسیدانی قویتر از بتاکاروتن (۱۴-۱۲) ، ویتامینE و ویتامینC که همراه با یکدیگر قادرند آثار آنتی اکسیدانی قویتری را اعمال کنند) محدود نمود ؟ وآیا این تاثیر با اثر محدودیت در دریافت کالری همسان است یا متفاوت ؟ و نیز اینکه آیا تجویز توام محدودیت در دریافت انرژی و مکمل آنتی اکسیدانها این تاثیر را میتواند تشدید نماید یا خیر؟ تا بتوان تاثیر مخرب بیماریهای حاصل از چاقی نظیر بیماریهای قلبی عروقی ، سرطانها و غیره را که بدنبال چاقی بروز آنها افزایش می یابد را کنترل نمود. این فرضیه از این موضوع نشات میگیرد که افزایش استرس اکسیداتیو حاصل از چاقی ممکن است دلیل بروز و عامل ارتباطی بیماریهای مذکور با چاقی باشد(۳،۱۵،۱۶).

روش کار:

با توجه به اینکه رتها در رژیمهای القاء کننده چاقی تشابه زیادی با انسان دارند(۱۷،۱۸)، در یک مطالعه تجربی۴۸ موش صحرائی نر ویستار با سن ۸ هفته و وزن های نزدیک به یکدیگردر قفسهای منفرد به چهار گروه ۱۲ راسی تقسیم شدند. گروه ۱ به عنوان گروه کنترل، با رژیم غذائی پر چرب و بدون مکمل آنتی اکسیدان به شکل دسترسی آزاد (ad libitum) تغذیه شدند. گروه ۲ (کنترل- محدود) رژیم غذائی پر چربی وبدون مکمل آنتی اکسیدان را به شکل محدود (۳۰٪ کمتراز میانگین روز قبل گروه ۱) تغذیه شدند. بدین ترتیب که مقدار غذای خورده شده در هر روز گروه دسترسی آزاد اندازه گیری و معادل ۳۰٪ کمتر از این غذای مصرفی در روز بعد در اختیار گروه دسترسی محدود قرار داده شد.

گروه ۳ (آنتی اکسیدان) رژیم غذائی پر چربی را همراه با مکمل آنتی اکسیدانها به شکل دسترسی آزاد دریافت کردند و گروه ۴(آنتی اکسیدان- محدود) نیزبا رژیم غذائی پر چرب مخلوط با مکمل آنتی اکسیدانها، به شکل محدود (۳۰٪ کمتراز میانگین روز قبل گروه۳) تغذیه شدند. حیوانات قبل از شروع مطالعه برای تطابق با محیط جدید ابتدا به مدت ۱ هفته در محل مربوطه نگهداری شدند. هر چهار گروه به مدت ۱۲ هفته با رژیمهای غذائی مورد نظر تغذیه شدند. دمای محل نگهداری ۲۵- ۲۰ درجه سانتیگراد و سیکل روشنائی و تاریکی ۱۲ ساعته بود. رژیم غذائی پر چرب بر اساس رژیم غذائی D12492 که برای ایجاد چاقی استفاده میشود، با استفاده از ترکیباتی که در جدول آمده است ساخته شد(۱۸).

www.SID.ir

Archive of SID

ترکیب رژیم gr%	کنترل	رژیم آنتی اکسیدان
چربی شیر	۳۱/۶۶	۳۱/۰۰
روغن سویا	۳/۲۳۱	۳/۰۸۹
کازئین	۲۵/۸۴۵	۲۵/۸
مالتودکسترین	۱۶/۱۵۳	۱۶/۰
ساکارز	۸/۸۹۷	۸/۸۹۷
α- سلولز	۶/۴۶۱	۶/۴۶۱
سیترات پتاسیم	۲/۱۳۲	۲/۱۳۲
L- سیستئین	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸
کربنات کلسیم	۰/۷۱۱	۰/۷۱۱
کولین کلراید	۰/۲۵۸	۰/۲۵۸
مخلوط ویتامین(۱۹)	۱/۲۹۲	۱/۲۹۲
مخلوط املاح(۱۹)	۱/۲۹۲	۱/۲۹۲
دی کلسیم فسفات	۱/۶۸	۱/۶۸
ویتامین E *	_	۰/۲
Astaxanthin10% €	_	۰/۶
ویتامین C £	_	۰/۲

* ویتامین E (ساخت شرکت Roshe، آلمان)

€ آستازانتین 10% (ساخت شرکت Fuji Chemical ، آمریکا)

£ ویتامین C (ساخت شرکت Northeast pharma ، چین)

برای تهیه رژیمهای غذائی ابتدا مواد خشک پودری رژیمها با استفاده از همزن الکتریکی Dito Electrolux (فرانسه) ۵ کیلوئی به مدت ۱۵ دقیقه به آرامی مخلوط می شدند. سپس روغنها به به مواد مخلوط شده اضافه شده و به مدت ۱۵ دقیقه با دور کند مخلوط می شدند. برای اضافه کردن ویتامین E و آستازانتین به رژیم آنتی اکسیدان این مواد پس از توزین در روغن حل و سپس به مواد خشک مخلوط شده، اضافه می شد. رژیمهای ساخته شده در کیسه های فریزر ۱ کیلو گرمی تقسیم و تا زمان مصرف در فریزر ۲۸- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

مقدار پروتئین نمونه های غذائی به روش کجلدال، میزان کربوهیدرات با استفاده از هیدرولیز اسیدی و به روش فهلینگ و درصد چربی تام رژیمها به روش استخراج با حلال (سوکسله) اندازه گیری شد. نتایج آنالیز رژیمها نشان داد در رژیم کنترل مقدار چربی۳۴/۲۴، کربوهیدرات ۲۵/۶، پروتئین ۲۲/۷۹ (گرم ٪)و این مقادیر در رژیم آنتی اکسیدان به ترتیب ۳۵، ۲۵/۳۹ و ۲۳/۱۸ (گرم ٪) بود.

درصد کالری حاصل از چربی، کربوهیدرات وپروتئین به ترتیب در رژیم کنترل ۶۱/۴۲، ۲۰/۴۱ و۱۸/۱۷ درصد و در رژیم آنتی اکسیدان۶۱/۸۵، ۱۹/۹۴ و ۱۸/۲۱ درصد بود. میزان انرژی هر گرم رژیم کنترل و رژیم آنتی اکسیدان به ترتیب ۵/۰۲ و ۵/۰۹ کیلوکالری بود.

مقدار غذای مصرفی حیوان های گروه دسترسی آزاد در هر روز با ترازو با دقت۰/۰۱ گرم اندازه گیری و ثبت می شد. به گروه دسترسی محدود معادل ۷۰٪ میانگین غذای مصرفی روز قبل گروه دسترسی آزاد، غذا داده می شد. تمامی حیوانات بصورت هفتگی با استفاده از ترازو با دقت ۰/۰۱ توزین میشدند.

پس از طی دوره مطالعه حیوانات با استفاده از تزریق داخل صفاقی کتامین (Ketamine hydrochloride) (شرکت Rotex Media، آلمان) با دز ۷۵ تا ۱۰۰ mg/kg بیهوش شدند(۲۰). نمونه خون ناشتا از بزرگ سیاهرگ زیرین(inferior vena cava) تهیه و سرم آنها پس از ۳۰ دقیقه با استفاده از سانتریفوژ یخچال دار در دمای ۴ درجه سانتیگراد و با دور g ۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه جدا شد. نمونه های سرم تا زمان انجام آزمایشها در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

میزان استرس اکسیداتیو با استفاده از شاخص سرمی 8-Isoprostane به روش EIA و با استفاده از کیت شرکت Cayman Chemical Company(آمریکا) اندازه گیری شد.

ظرفیت کلی آنتی اکسیدان سرمی هم با استفاده از کیت ارزیابی وضعیت آنتی اکسیدانی شرکت یاد شده اندازه گیری شد. با این روش مجموع آنتی اکسیدانهای محلول در چربی و آب سنجیده می شود. بنابر این ترکیب انواع آنتی اکسیدانها مانند ویتامینها، پروتئینها، لیپیدها، گلوتاتیون و غیره نیز با این روش سنجیده میشود. این روش براساس توانائی آنتی اکسیدانهای موجود در سرم نمونه درجلوگیری از اکسیداسیون ABTS® (2,2′-azino-di-3-ethylbenzthiazoline sulphonate) به ABTS $^{+}$•® توسط مت میوگلوبین (metmyoglobin) می باشد. مقدار ABTS $^{+}$• تولید شده در این روش را می توان با قرائت مقدار جذب در 405 nm تعیین نمود. توانائی آنتی اکسیدانهای نمونه در پیشگیری از اکسیداسیون ABTS با Trolox (یک آنالوگ محلول در آب توکوفرول) مقایسه شده و به شکل کمی معادل Trolox (millimolar) گزارش می شود.

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 16 صورت گرفت. توزیع داده ها با استفاده

www.SID.ir

Archive of SID

از آزمون آماری کولموگروف- اسمیرنوف تک نمونه نشان دهنده نرمال بودن توزیع داده ها بود، برای مقایسه بین گروهها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه توکی استفاده شد. سطح معنی داری برای معنی دار بودن تفاوتها P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج:

میانگین مقدار غذای مصرفی و انرژی دریافتی روزانه حیوانات در هر دو گروه دسترسی آزاد با یکدیگرتفاوت معنی داری نداشتند. مشابه این حالت دردو گروه دسترسی محدود نیز مشاهده شد(جدول۱). متوسط غذای مصرفی هفتگی گروههای مختلف در طول مطالعه نشان داد گروه کنترل و گروه آنتی اکسیدان به ترتیب ۱۱/۸۵±۸۲/۴۵ و ۱۴/۰۲±۸۰/۵۹ گرم/هفته غذا مصرف کرده اند. این مقادیر برای گروه کنترل- محدود و آنتی اکسیدان– محدود به ترتیب برابر با ۲/۵۳±۵۸/۱۵ و ۱/۲۷±۵۷/۱۵ گرم/هفته بود. مجموع کالری دریافتی حیوانات گروههای کنترل، کنترل– محدود به ترتیب ۵۵۰/۰۷±۴۹۹۶/۵ و۳۵۴۲/۶ کیلوکالری (P<0.001) و در گروههای آنتی اکسیدان و آنتی اکسیدان- محدود به ترتیب ۶۴۶/۳۶±۴۹۷۷/۸ و۳۵۳۳/۴ کیلوکالری بود (P<0.001). مجموع غذا و انرژی دریافتی در گروه های کنترل و آنتی اکسیدان تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند.

میانگین و انحراف معیار وزن حیوانات در ابتدا و انتهای مطالعه در جدول ۲ آورده شده است. بین وزن حیوانات گروههای مختلف در ابتدای مطالعه با آنالیز واریانس یک طرفه تفاوت معنی داری وجود نداشت. میانگین وزن نهائی حیوانات گروه کنترل ۲۸۴/۴۲ گرم و در گروه آنتی اکسیدان کمتر و برابر با ۲۶۷/۹۲ گرم بود. البته این تفاوت از نظر آماری معنی داری نبود. مشاهده میانگین وزن نهائی حیوانات دو گروهی که رژیمهای فوق را به صورت محدود شده دریافت می کردند، نشان داد کمترین میانگین وزن در حیواناتی بود که رژیم حاوی آنتی اکسیدان رابه صورت محدود شده دریافت می کردند (P<0.01). متوسط افزایش وزن هفتگی حیوانات مصرف کننده رژیم آنتی اکسیدان حدود ۱۱ گرم و برای رژیم کنترل ۱۲/۶ گرم بود. بطور متوسط دریافت کنندگان رژیم آنتی اکسیدان ـ محدود هر هفته ۷/۳ گرم و حیوانات گروه کنترل ـ محدود۹/۴۴ گرم افزایش وزن داشتند.

جدول ۱ : میانگین و انحراف معیار افزایش وزن ، غذای مصرفی ، انرژی دریافتی روزانه و نسبت کارائی رژیم در هر یک از گروههای مورد مطالعه

	غذای مصرفی(g/day)	انرژی دریافتی(kcal/rat/day)	نسبت کارائی غذا[1]
کنترل	۱۱/۷۲ # ±۱/۲۹	۵۸/۷۸ # ± ۶/۴۷	۰/۱۵۳ ± ۰/۰۳
کنترل- محدود	۸/۳۱ ¥ ± ۰/۰	۴۱/۶۸ ¥ ± ۰/۰	۰/۱۷۹ ¥ ± ۰/۰۳
آنتی اکسیدان	۱۱/۵ $ ± ۱/۴۹	۵۸/۵۶ $ ± ۷/۶۰	۰/۱۳۱ ± ۰/۰۴
آنتی اکسیدان- محدود	۸/۱۶ * ± ۰/۰	۴۱/۵۷ * ± ۰/۰	۰/۱۲۸ # ±۰/۰۲۷

۱- نسبت کارائی غذا = گرم غذای مصرفی روزانه/گرم افزایش وزن درروز

* تفاوت معنی دار با گروه کنترل آنالیز واریانس یک طرفه توکی P. Value<0.05

¥ تفاوت معنی دار با گروه آنتی اکسیدان آنالیز واریانس یک طرفه توکی P. Value<0.05

تفاوت معنی دار با گروه کنترل– محدود آنالیز واریانس یک طرفه توکی P. Value<0.05

$ تفاوت معنی دار با گروه آنتی اکسیدان- محدود آنالیز واریانس یک طرفه توکی P. Value<0.05

جدول۲ : میانگین و انحراف معیار وزن اولیه ، وزن نهائی و تغییرات وزن حیوانات در هر یک از گروههای مورد مطالعه

	وزن اولیه	وزن نهائی	تغییرات وزن
کنترل	۱۱۵/۴۲ ± ۱۵/۵۹	۲۸۴/۴۲ ± ۴۵/۹۹	۱۶۹/۰۰ ± ۴۷/۸۶
کنترل- محدود	۱۱۵/۶۷ ± ۱۸/۰۹	۲۵۸/۵۰ ± ۱۳/۳۹	۱۴۲/۸۳ ± ۲۰/۰۱
آنتی اکسیدان	۱۱۵/۵۰ ± ۱۴/۷۳	۲۶۷/۹۲ ± ۴۷/۷۷	۱۵۲/۴۲ ± ۴۷/۲۷
آنتی اکسیدان- محدود	۱۱۵/۲۵ ± ۱۷/۰۶	۲۳۲/۱۷ ± ۲۳/۱۹*	۱۱۶/۹۲ ± ۲۵/۶۳*

* تفاوت معنی دار با گروه کنترل - آنالیز واریانس یک طرفه توکی P. Value<0.01

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی ظرفیت کلی آنتی اکسیدان در گروهها نشان داد این ظرفیت در حیوانات مصرف کننده رژیم پرچربی - دسترسی آزاد به شکل معنی داری از سه گروه دیگر پائین تر بود(جدول۳).

جدول۳ : مقایسه میانگین وانحراف معیار ظرفیت کلی آنتی اکسیدان(mM) و8-Isoprostane (pg/ml) سرم در گروههای مورد مطالعه

	ظرفیت کلی آنتی اکسیدان (mM Trolox equivalent)		8-Isoprostane (pg/ml)	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
کنترل	۰/۳۶*	۰/۴۳۳	۱۴۱۶/۲	۴۴۳/۴۷
کنترل- محدود	۱/۷۲	۰/۸۷	۱۲۰۹/۴	۴۲۴/۴۰
آنتی اکسیدان	۳/۰#	۱/۱۳	۱۲۷۸/۷	۴۶۳/۱۹
آنتی اکسیدان- محدود	۲/۲۴	۰/۵۳	۱۲۷۶/۱	۲۷۲/۸۵

* تفاوت معنی دار با سایرگروهها، آنالیز واریانس یک طرفه توکی P. Value<0.001
# تفاوت معنی دار با گروه کنترل– محدود، آنالیز واریانس یک طرفه توکی P. Value<0.001

درحیوانات مصرف کننده رژیمهای پرچربی حاوی آنتی اکسیدان به شکل دسترسی آزاد و محدود به ترتیب این ظرفیت بالاتر از سایر گروهها بود. مقایسه این ظرفیت در گروههای دسترسی آزاد ومحدود نیز نشان داد در هر دو گروهی که رژیم آنها حاوی آنتی اکسیدان بود این ظرفیت بالاتر از رژیمهای فاقد آنتی اکسیدان بوده است.

میانگین غلظت سرمی 8-Isoprostane در حیوانات مورد بررسی گروههای مختلف در جدول ۳ آورده شده است. همانطور که ملاحظه می شود علی رغم اینکه این فاکتور در حیوانات گروه کنترل بالاتر بوده است، اما این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود. سطح این فاکتور در حیوانات تغذیه شده با رژیمهای حاوی مکمل آنتی اکسیدانها بصورت آزاد و محدود نیز بسیار نزدیک به یکدیگر بود.

بحث:

بررسی اثر مکمل آنتی اکسیدانهای astaxanthin، ویتامین E و C یا رژیمهای محدود از کالری بر روی محصولات غیر آنزیماتیک حاصل از پراکسیداسیون لیپیدی در رتها پس از۱۲هفته نشان داد اعمال محدودیت در مصرف غذا و یا افزودن مکمل آنتی اکسیدانها، علی رغم تفاوت مقادیر حاصله در چهار گروه مورد بررسی، این تفاوتها از نظر آماری معنی دار نبودند. شاید یکی از دلائل معنی دار نبودن تفاوتها ناشی از کمبود تعداد نمونه ها باشد که بررسی بازو و همکاران موید این موضوع است که اگر تفاوت در گروهها بیش از ده درصد باشد و حجم نمونه به اندازه کافی بزرگ باشد تفاوتهای حاصله معنی دار خواهد شد(۵). اعمال محدودیت دریافت نیز نتوانسته بود تاثیری معنی دار آماری متفاوت از افزودن مکمل آنتی اکسیدانها بر وضعیت استرس اکسیداتیو بر جای گذارد. با این وجود اعمال محدودیت دریافت بدون آنتی اکسیدان توانسته بود میانگین شاخص استرس اکسیداتیو را ۱۴/۶٪ نسبت به گروه دسترسی آزاد کاهش دهد اما اعمال محدودیت همراه با آنتی اکسیدان تاثیر کاهندگی کمتری بر جای گذاشته بود(۹/۹٪-).کمترین کاهش در مقایسه با گروه دسترسی آزادمربوط به گروه آنتی اکسیدان- آزاد بود(۹/۷٪-)که عملا تفاوتی با گروه آنتی اکسیدان ـ محدود نداشت. مطالعات نشان داده اند در صورت وجود تعداد کافی نمونه، تفاوت ده درصدی در مقدار ایزوپروستانها نسبت به حالت پایه برای بروز حالات پاتولوژیک ناشی از استرس اکسیداتیو کافی است(۵).

رمضانی و همکارانش در مطالعه تاثیر رژیمهائی هیپوکالریک بر مالون دی آلدئید پلاسما نشان داده اند رژیم محدود از کالری برای مدت ۱۲ هفته توانسته است ضمن کاهش ۱۰ درصدی وزن در زنان چاق مقدار مالون دی آلدئید پلاسمائی را نیز کم کند(۲۱). مطالعه ای که تاثیر مصرف همزمان چندین آنتی اکسیدان را بر استرس اکسیداتیو بررسی کرده باشد، در جستجوهای بعمل آمده یافت نشد اما در چند مطالعه تاثیر مصرف ویتامینE را در مدلهای حیوانی بیماریهای انسان که طی آن تشکیل ایزوپروستانها نسبت به گروه کنترل بالاتر است را بررسی کرده اند. سودرگرین و همکارانش نشان دادند دریافت ۶۳ mg/kg ویتامین E در رتهای تغذیه شده بارژیم غذائی معمولی (۴٪چربی و ۵۸٪ پروتئین) برای مدت ۳ هفته، در مقایسه باگروه کنترل تفاوت معنی داری را در سطح سرمی 8-Iso-$PGF_{2\alpha}$، برخلاف دفع ادراری آن که افزوده شده بود، بوجود نمی آورد. این درحالی بود که سطح سرمی ویتامین E در گروه دریافت کننده مکمل این ویتامین افزایش چند برابری داشته و وسعت ضایعات آئورت و سطح ایزوپروستانها در دیواره شریانی با مصرف مکمل ویتامین E، بدون اینکه سطح کلسترول کم گردد، کاهش یافته بود(۲۲). مشاهده شده است چاقی و هیپرلیپیدمی سبب افزایش ایزوپروستانهای ادراری در موشهای مبتلا به

www.SID.ir

Archive of SID

کمبود رسپتورهای لپتین و LDL شده و پس از مصرف مکمل ویتامینE (۲۰۰۰IU/kg) در موشهای چاق و لاغر کاهشی در دفع ادراری ایزوپروستانها دیده نشده است. در حالیکه درموشهای فاقد ApoE، ویتامین E توانسته است مقادیرF2-isoprostane ادراری، پلاسمائی و بافت عروقی را کم کند(۵). این مطالعه نشان داد استرس اکسیداتیو در موشهای فاقد ApoE افزایش و با مصرف خوراکی ویتامینE کم می شود(۵). این نتایج نشان می دهند ویتامینE دارای آثار متفاوتی بر حیوانات آزمایشگاهی مدل بیماری انسان بوده و در مدلهای آزمایشکاهی دارای آثار و سرانجام متفاوتی هستند.

بازو و همکاران تاثیر مصرف آنتی اکسیدانها را بر F2-isoprostane انسان مورد بررسی قرار داده است. او نشان داد تجویز آلفا توکوفرول از مقدار ۲۰۰ تا IU/day ۲۰۰۰ برای مدت ۸ هفته نمی تواند اثری بر مقدار F2-isoprostane بر جای گذارد. در مطالعه دیگری نیز نشان داده شد ویتامینE با دز IU/day ۲۰۰ برای مدت ۲ هفته تغییری در مقدار F2-isoprostane افراد سالم بر جای نگذاشته است(۵). مصرف آلفا توکوفرول در مقادیر IU/day۴۰۰،۲۰۰،۱۰۰،۱۶ برای ۲۸ روز تغییری در مقادیر پایه F2-isoprostane افراد سالم ایجاد نکرد(۵) همچنین ویتامینE در سیگاریها اثری برمقدار F2-isoprostane ایجاد نکرده بود و حتی در بررسی دیگری که افراد سیگاری رژیم غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع مصرف کرده بودند، ویتامینE تاثیر پرواکسیدانی نیز بر جای گذاشته است. درمان بیماران هیپرکلسترولمی با دزهای IU/day ۳۲۰۰-۸۰۰ ویتامینE برای ۲۰ هفته ، تنها در هفته های ۱۶ تا ۲۰ مقادیر F2-isoprostane را کم کرده بود(۵) اما چنین کاهشی در بیمارانی که دزهای کمتر(IU/day ۴۰۰-۱۰۰) ویتامینE را برای ۲۰ هفته دریافت کرده بودند مشاهده نشد(۵). در مطالعه دیگری اثر کاهندگی مکمل ویتامینE در دزهای بالای آن (IU/day ۳۲۰۰-۱۶۰۰) دیده شده است(۲۳). برخی مطالعات نشان داده اند مکمل ویتامینE توانسته است مقادیر F2-isoprostane را در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲، سیستیک فیبروز و هیپرکلسترولمی کم کند(۵). مصرف ۶ ماهه ویتامین درمبتلایان به اضافه وزن، منجر به افزایش۷۶٪ غلظت سرمی ویتامین E و کاهش ۱۱٪ isoprostane پلاسما شده بود(۲۴).

استفاده از اکسیژن به منظور متابولیسم اکسیداتیو تولید سوخت منجر به تولید رادیکالهای آزاد یا ROS میگردد. افزایش کالری دریافتی فاکتوری مهم در کاهش سیالیت غشاء میتوکندری و افزایش تولید ROS است از اینرو حیواناتی که تحت رژیم های پرکالری (چاقی القاء شده) قرار می گیرند متفاوت از حیوانات نرمال بوده و احتمال افزایش استرس اکسیداتیو در این حیوانات وجود دارد(۲۵).

کاهش ظرفیت کلی آنتی اکسیدان در رتهای ویستار تغذیه شده با رژیم پرکربوهیدرات و رژیم معمولی با آب حاوی ۳۰٪ شکر، گزارش شده است(۲۵) این موضوع بخصوص چنانچه همراه با دریافت ناکافی مواد مغذی آنتی اکسیدانی باشد، تشدید واحتمال شروع پدیده های التهابی و خطر ابتلا و بروز بیماریهای مانند آترواسکلروز، دیابت و پرفشاری خون را افزایش می دهد(۲۲،۲۵). از اینرو در چنین شرائطی لازم است با استفاده از مواد آنتی اکسیدان آندوژنی نظیر اوریک اسید، آلبومین یا با فعالیت سایر آنزیمهای آنتی اکسیدان مثل گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز به مقابله با رادیکالهای آزاد تولیدی پرداخته شود(۲۶) زیرا این شرائط موجب مصرف ذخائر آنتی اکسیدانی و کاهش ظرفیت کلی آنتی اکسیدان بدن خواهند شد، مگر اینکه منابع اگزوژن آنتی اکسیدانی از طریق غذا فراهم گردند.

افزایش وزن در حیوانات آزمایشگاهی همراه با افزایش تولید مواد اکسیدان و کاهش پتانسیل آنتی اکسیدانی است(۲۷). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد حیوانات گروه کنترل که رژیم پرچربی را بدون هرگونه محدودیت مصرف کرده اند، ضمن افزایش وزن، ظرفیت کلی آنتی اکسیدان آنها در مقایسه با گروههای دریافت کننده مکمل بسیار پائین تر بود. از اینرو با مصرف ذخائر آنتی اکسیدانی در این حیوانات، ضمن مقابله با افزایش بیش از پیش استرس اکسیداتیو در این گروه، علی رغم بالا بودن مقدارش در مقایسه با سایر گروهها، موجب شده بود تفاوت معنی داری با آنها نداشته باشد. افزودن مکمل آنتی اکسیدانها توانسته بود به دفاع بدن برای مقابله با استرس اکسیداتیو افزایش یافته کمک کرده و ضمن پائین نگهداشتن آن شاهد بالا باقی ماندن ظرفیت آنتی اکسیدانی در گروههای حاوی آنتی اکسیدان نیز باشیم. ملکولهای آنتی اکسیدان پلاسما قادر به پاکسازی رادیکالهای آزاد هستند بنابراین مصرف

www.SID.ir

Archive of SID

رژیم غنی از آنتی اکسیدانها می تواند ظرفیت کلی آنتی اکسیدانی پلاسما را افزایش و حفظ نماید(۲۸).

نتایج این بررسی نشان داد با مصرف رژیمهای پرچرب سطوح ظرفیت کلی آنتی اکسیدان برای مقابله با استرس اکسیداتیو تقلیل معنا داری می یابد. این در حالی است که اعمال محدودیت در دسترسی به غذا و در نتیجه کاهش انرژی دریافتی، این مشکل را تاحدود زیادی بر طرف کرده است، بطوریکه در این بررسی شاهد افزایش ۴/۷ برابری این ظرفیت بودیم. بررسی انجام شده بر روی افراد مبتلا به چاقی مرضی نیز نشان داده است استرس اکسیداتیو در این افراد بالا بوده و پس از ۶ ماه جا گذاری بالن در معده این افراد ظرفیت کلی آنتی اکسیدان بطور معنی داری نسبت به قبل از عمل جراحی کاهش یافته است(۲۶). به عبارت دیگر کاهش وزن القاء شده از طریق محدودیت در غذای دریافتی منجر به کاهش تولید گونه های واکنش پذیر اکسیژن توسط لکوسیتها و آسیبهای اکسیداتیو در لیپید، پروتئین و اسیدهای آمینه شده و از اینرو موجب حفظ ذخائر آندوژن آنتی اکسیدانها نیز شده است(۲۶). علاوه بر این افزودن مکمل آنتی اکسیدانها به رژیمهای غذائی در هر دو شکل دسترسی محدود یا آزاد نیز موجب افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی شده است.

ظرفیت کلی آنتی اکسیدان در گروه آنتی اکسیدان ـ محدود معادل ۷۴/۶٪ گروه آنتی اکسیدان- آزاد بود. دلیل این امر احتمالاً دسترسی محدودتر این گروه به رژیم حاوی آنتی اکسیدان است چرا که این مقدار تقریباً معادل با مقدار دسترسی این گروه به منابع غذائی حاوی آنتی اکسیدان می باشد. مصرف رژیم کم کالری ویا همراهی آن با میوه ها به عنوان منبع خوب آنتی اکسیدان در زنان چاق، نشان داده است منابع غذائی آنتی اکسیدانها تاثیر مثبتی بر کاهش مالون دی آلدئید داشته و تاثیر رژیمهای کاهش وزن بر کاهش استرس اکسیداتیو با همراهی میوه ها بهتر بوده است . از اینرو استراتژی کاهش وزن با رژیمهای کم کالری چنانچه همراه با منابع غذائی آنتی اکسیدانها باشد در کاهش وزن و بهبود شرائط قلبی عروقی موثرتر میباشد(۲۸) البته فریز و همکارانش در بررسی افراد سالم چنین نتیجه ای را مشاهده نکردند، او نشان داد مصرف چهار نوع رژیم غذائی ایزوکالریک با ۳ تا ۱۱ درصد انرژی حاصل ازاسیدهای چرب غیر اشباع با چند باند مضاعف و مصرف میوه وسبزی (۵۱۶ g/10 MJ یا۱۰۵۹) در افراد سالم داوطلب برای مدت ۶ هفته ضمن تمایل به کاهش در هر چهار گروه ، تفاوت معنی داری در شاخص استرس اکسیداتیو، این گروهها بوجود نمی آورد. همچنین رژیمهای غذائی از نظر آنزیمهای آنتی اکسیداتیو گلبولهای قرمز خون با یکدیگر تفاوت معنی داری نداشتند. از اینرو در این افراد، مصرف میوه و سبزی همراه با اسیدهای چرب غیر اشباع با چند باند مضاعف نتوانسته بود تفاوتی را در استرس اکسیداتیو ایجاد نماید(۲۹).

شن و همکاران در بررسی اثر ویتامینE (350 mg/kg) بر استرس اکسیداتیو در رتهای تغذیه شده با رژیم پرچربی نشان داده است پس از ده هفته 8-epi-PGF(2)alpha و مواد واکنش دهنده با تیو باربیتوریک اسید (TBARS) در هر دو گروه مصرف کننده رژیم پر چربی با ویتامین و بدون ویتامین بالاتر از گروه کنترل (رژیم معمولی حیوان) بوده است اما در گروه ویتامینE سطح آنزیمهای گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و ظرفیت کلی آنتی اکسیدان بالاتر از گروه رژیم پرچرب بود(۳۰) چنین اثری با مصرف پوست انگورکه حاویresveratrol به عنوان ماده آنتی اکسیدان می باشد در مطالعه لی نیز دیده شده است(۳۱).

از جمله محدودیتهای این بررسی عدم اندازه گیری سطوح سرمی ویتامینهای E و C با توجه به اندازه گیری مجموع فعالیت آنتی اکسیدانهای محلول در چربی و آب به روش ظرفیت کلی آنتی اکسیدان (TAC) بود که باید به شرائط غیر فیزیولوژیک حاکم بر این روش توجه داشت. علاوه براین باید توجه داشت اندازه گیری 8-Isoprostane به روشهای گوناگونی صورت می گیرد که ارجح ترین آنها روشmass spectrometry است که با توجه به محدودیت دسترسی ، از روش جایگزین EIA استفاده شد.

نتیجه نهایی:

با توجه به نتایج حاصله از این بررسی و تفاوت حدود ۱۰تا۱۵ درصدی در شاخص استرس اکسیداتیو با اعمال در محدودیت در دریافت کالری یا افزودن مکمل آنتی اکسیدانها، می توان ادعا نمود این روش قادر به کاهش شدت اثر استرس اکسیداتیو در رتهای تغذیه شده با رژیمهای پرچربی است. از اینرو می توان نتیجه گرفت اعمال محدودیت در دریافت کالری و نیز افزودن مکمل آنتی اکسیدانها به رژیمهای پرچرب القاء کننده چاقی در رتها قادر است ضمن بهبود ظرفیت کلی آنتی اکسیدانی

www.SID.ir

Archive of SID

سرم تا حدودی نیز موجب سرکوب افزایش شاخص استرس اکسیداتیو گردد. بطوریکه در این مطالعه شاهد تمایل به کاهش این شاخص در گروههای دریافت کننده مکمل آنتی اکسیدانها و محدودیت در دریافت کالری غذائی بودیم.

سپاسگزاری :

بدینوسیله از همکاری و زحمات معاونین محترم پژوهشی انستیتو تغذیه و صنایع غذائی ایران و دانشگاه علوم پزشکی همدان همچنین از مسئول محترم آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی همدان اقای دکتر سید محمد حسینی پناه تقدیر و تشکر می گردد.

منابع :

1. Fontana L, Klein S. Aging, adiposity, and calorie restriction. JAMA 2007;297(9): 986-994
2. Fantuzzi G, Mazzone T. Adipose tissue and adipokines in health and disease. Totowa, N.J: Humana Press , 2007.
3. Packer L, Sies H. Oxidative stress and inflammatory mechanisms in obesity, diabetes, and the metabolic syndrome. New York: CRC Press , 2007.
4. Kim MJ. Radical scavenging activity and anti-obesity effects in 3T3-L1 preadipocyte differentiation of Ssuk (Artemisia princeps pamp) extract. Food Sci Biotechnol 2010:19(2):535-540
5. Basu, S. F2-Isoprostanes in human health and diseases: From molecular mechanisms to clinical implications. Antioxidants Redox Signal 2008; 10(8):1405-1434.
6. Pou KM. Visceral and subcutaneous adipose tissue volumes are cross-sectionally related to markers of inflammation and oxidative stress: The Framingham heart study. Circulation 2007; 116(11): 1234-1241.
7. Davi G. Platelet activation in obese women: Role of inflammation and oxidant stress. JAMA 2002; 288(16): 2008-2014.
8. Canoy D. Plasma ascorbic acid concentrations and fat distribution in 19608 British men and women in the European prospective investigation into cancer and nutrition orfolk cohort study. Am J Clin Nutr 2005; 82(6): 1203-1209.
9. Neuhouser ML. Serum concentrations of retinol, {alpha}-tocopherol and the carotenoids are influenced by diet, race and obesity in a sample of healthy adolescents. J Nutr 2001; 131(8): 2184-2191.
10. Kimmons JE. Associations between body mass index and the prevalence of low micronutrient levels among US adults. Med Gen Med 2006; 8 (4): 59.
11. Galan P. Serum concentrations of (beta)-carotene, vitamins C and E, zinc and selenium are influenced by sex, age, diet, smoking status, alcohol consumption and corpulence in a general French adult population. Eur J Clin Nutr 2005; 59(10): 1181-1190.
12. Kim JH. Astaxanthin improves the proliferative capacity as well as the osteogenic and adipogenic differentiation potential in neural stem cells. Food Chem Toxicol 2010;48(6):1741-1745.
13. Ikeuchi M. Effects of astaxanthin in obese mice fed a high-fat diet. Biosci Biotechnol Biochem 2007; 71(4): 893-899.
14. Hussein G. Astaxanthin ameliorates features of metabolic syndrome in SHR/NDmcr-cp. Life Sciences 2007; 80: 522-529.
15. Furukawa S. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. J Clin Invest 2004; 114(12): 1752-1761.
16. Chrysohoou C. The implication of obesity on total antioxidant capacity in apparently healthy men and women: The ATTICA study. Nutr Metab Cardiovas Dis 2007; 17(8): 590-597.
17. Buettner R, J.r. Scho¨lmerich, Bollheimer LC. High-fat Diets: Modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. Obesity 2007; 15(4): 798-808.
18. Furnes M, Zhao CM, Chen D. Development of obesity is associated with increased calories per meal rather than per day. A Study of high-fat diet-induced obesity in young rats. Obesity Surg 2009;19(10): 1430-1438.
19. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American institute of nutrition Ad Hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76 A rodent diet. J Nutr 1993; 123(11): 1939-1951.
20. Sharp PE, La Regina MC. The laboratory rat. The laboratory animal poket refrence series. Florida: CRC press LLC , 1998.
21. Ramezani F. The effect of weight loss on plasma MDA, lipids profile and ApoA and ApoB in obese woman. ARYA Atherosclerosis J 2008; 4(2): 77-81.
22. Sodergren E. Vitamin E supplementation decreases basal levels of F2-Isoprostanes and Prostaglandin F2{alpha} in rats. Obesity 2000; 130 (1): 10-14.
23. Roberts II, LJ. The relationship between dose of vitamin E and suppression of oxidative stress in humans. Free Radical Biol Med 2007; 43(10): 1388-1393.
24. Sutherland WHF. Vitamin E supplementation and plasma 8-isoprostane and adiponectin in overweight subjects. Obesity 2007;15(3):386-391.
25. Novelli ELB. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. Lab Anim 2007; 41 (1): 111-119.
26. Melissas J. Plasma antioxidant capacity in morbidly obese patients before and after weight

www.SID.ir

Archive of SID

loss. Obesity Surg 2006; 16 (3): 314-320.
27. Bełtowski J. The effect of dietary-induced obesity on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and total plasma antioxidant capacity. J Physiol Pharmacol 2000; 51(4): 883-96.
28. Crujeiras AB. A role for fruit content in energy-restricted diets in improving antioxidant status in obese women during weight loss. Nutrition 2006; 22(6): 593-599.
29. Freese R. No effect on oxidative stress biomarkers by modified intakes of polyunsaturated fatty acids or vegetables and fruit Diet and oxidative stress. Eur J Clin Nutr 2008;62:1151-1153.
30. Shen X. Effect of vitamin E supplementation on oxidative stress in a rat model of diet-induced obesity. Int J Vitam Nutr Res 2009; 79(4): 255-63.
31. Lee SJ, Choi SK, Seo JS. Grape skin improves antioxidant capacity in rats fed a high fat diet. Nutr Res Pract 2009; 3(4): 279-285.

www.SID.ir