

تأثیر عصاره آب انار بر استرس اکسیداتیو دختران ۱۷-۱۵ ساله شهر اراک

داود فضلی^{*}، علی اکبر ملکی راد^{*، †}، دکتر سید محمد علی شریعت زاده[‡]، اعظم کارخانه[‡]
مری^{*} گروه زیست شناسی - دانشگاه پیام نور منند، ^{*}مری^{*} گروه زیست شناسی - دانشگاه پیام نور شازند و دانشجویی دکتری علوم اعصاب شناختی دانشگاه
تبریز، ^{‡*}استادیار گروه روانشناسی - دانشگاه تبریز، ^{‡*}دانشسراپر تبریز، ^{‡*}دانشسراپر دختران ۱۷-۱۵ ساله شهر اراک، ^{‡*}آزمایشگاه رفانس سازمان
تامین اجتماعی تهران.

تاریخ دریافت: ۸۷/۴/۱۵ تاریخ تایید: ۸۷/۱۰/۲۴

چکیده:

زمینه و هدف: استرس اکسیداتیو که در اثر عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ایجاد می‌شود در پاتوزنر بیماری‌های مختلف نقش دارد. این پژوهش با هدف ارزیابی تاثیر آب انار به عنوان آنتی‌اکسیدان بر استرس اکسیداتیو انجام شد.

روش بروزرسانی: در این مطالعه نیمه تجربی ۳۰ نفر از دختران مقطع سنی ۱۵-۱۷ سال پس از تکمیل پرسشنامه از لحاظ معیارهای ورود، به مدت دو هفته روزانه ۱۰۰ میلی متر آب انار مصرف کردند. پارامترهای استرس اکسیداتیو شامل: ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تمام سرم، گروه‌های تام تیول و پراکسیداسیون لیپیدی در نمونه خون قبل و بعد از مصرف آب انار ارزیابی شد. برای تعزیزی و تحلیل داده‌ها از آمار توصیفی و تحلیلی (ازوچ) استفاده شد.

یافته‌ها: قبل و پس از مصرف دو هفته ای آب انار، میانگین پراکسیداسیون لیپیدی به ترتیب 11.3 ± 0.93 و 6.4 ± 0.001 (P<0.001) بود. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تمام سرم (1.95 ± 0.36) در برابر 0.43 ± 0.27 (P<0.05) و گروه‌های تیول تمام سرم (0.19 ± 0.03) در برابر 0.26 ± 0.05 (P<0.05).

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این مطالعه آب انار بعلت داشتن فلاونوئیدهای پلی فنولیک دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است و مصرف آن باعث کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آب انار، آنتی‌اکسیدان، استرس اکسیداتیو، رادیکال آزاد.

مقدمه:

رادیکال‌های آزاد، اتم‌ها یا مولکول‌هایی هستند که به خاطر وجود الکترون تک در بدن موجودات بسیار واکنش پذیرند و آسیب‌های فراوانی را به ماکرومولکول‌های بدن جانداران از جمله DNA، پروتئین‌ها، چربی‌ها و هیدرات‌های کربن وارد می‌سازند (۱). رادیکال‌های آزاد در بیماری‌ای بیش از یکصد نوع بیماری از جمله سرطان، دیابت، پیری و بیماری‌های شایع دیگر دخالت دارند (۲). در بدن برای مقابله با آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد سیستمی به نام سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی وجود دارد (۳) که به دو گروه آنزیمی و غیر آنزیمی تقسیم می‌شود. سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (مهترین عوامل آنتی‌اکسیدانی در درون سلول‌ها) آنزیم‌هایی چون سوپراکسید

به طور کلی در حالت معمول بین تولید رادیکال‌های آزاد در بدن و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی توزان برقرار است اما مواجهه با عواملی همچون آلاینده‌های محیطی، داروها و سموم باعث افزایش تولید

^۱نویسنده مسئول: اراک- شاه زند- خیابان عباس آباد- دانشگاه پیام نور- تلفن: ۰۹۱۸۴۱۰۰۳۱ E-mail: Ak_malkirad@yahoo.com

خصوص بررسی وضعیت آنتی اکسیدانی دانش آموزان دختر ۱۵-۱۷ ساله شهر اراک بیانگر پایین بودن آنتی اکسیدان های دختران نسبت به پسران و همچنین کمتر بودن ظرفیت آنتی اکسیدان های این افراد از افراد کشورهای دیگر بود که به عنوان ناهنجاری آنتی اکسیدانی می تواند زمینه ساز بیماری های مختلفی در این گروه سنی حساس و آسیب پذیر باشد (۱۳). با توجه به این مسایل این مطالعه با هدف بررسی نقش آب انار بر استرس اکسیداتیو این افراد در شهر صنعتی اراک که تماس با آلاینده ها زیاد و استرس اکسیداتیو بالا است انجام شد.

روش بورسی:

این مطالعه یک مطالعه نیمه تجربی بود که در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی اراک انجام گرفت.

افراد مورد مطالعه بر اساس محاسبه حجم نمونه ۳۰ نفر از افراد ۱۵-۱۷ ساله شهر اراک بودند که معیارهای ورود به مطالعه شامل: گروه سنی ۱۵-۱۷ سال، نداشتن سابقه مصرف هر نوع دارو، الکل، سیگار، آنتی اکسیدان و همچنین عدم مبتلا به بیماری های خاص نظری دیابت، سرطان، تیروئید، اختلالات قلبی و عروقی و تنفسی و نبودن در دوره عادت ماهیانه را داشتند. پس از گرفتن رضایت نامه و تکمیل پرسشنامه از نظر داشتن معیارهای ورود خواسته شد که رژیم غذایی معمول خود را طی دو هفته مطالعه داشته باشد. سپس از این افراد ۵۰۰ خون سیاهرگی گرفته شد و آنها به مدت ۲ هفته روزانه ۱۰۰۰۰ آب انار (گرفتن آب انار بدون له شدن دانه ها) مصرف کردند و در پایان دو هفته ۵۰۰ خون سیاهرگی گرفته شد. پس از جداسازی سرم با سانتریفوژ پارامترهای استرس اکسیداتیو این افراد ارزیابی گردید. لازم به ذکر است

رادیکال های آزاد در بدن و عدم تعادل بین تولید و دفع آن می شود که می تواند زمینه ساز بیماری ها باشد (۵). میوه انار شامل ۸۰ درصد آب انار و ۲۰ درصد دانه می باشد. آب انار تازه شامل ۸۵ درصد آب، ۱۰ درصد شکر (سوکروز) و ۱/۵ درصد پکتین، اسید اسکورییک و فلاونوئیدهای پلی فتوولیک است (۶). پونیکالاژین ترکیب عمده در پوست میوه است و در طی فرایند پردازش به داخل آب انار استخراج می شود. اسید الازیک و تانین دارای خواص ضد سرطانی در محیط in vivo و همچنین دارای خواص ضد سرطانی در تقویت آپوپتوزیس و مهار تشکیل تومور در حیوانات می باشد (۷). پلی فل های قابل حل در آب در آب انار حدود ۱/۲-۰ درصد است و عمدتاً شامل آنتوسیانین ها (مانند سیانیدین ۳-گلوکوزید، سیانیدین ۳ و ۵ دی گلوکوزید و دلفینیدین ۳ گلوکوزید)، کاتشین، تانین الازیک، اسید گالیک و اسید الازیک می باشد و می تواند میزان استرس اکسیداتیو را کاهش دهد (۸).

مطالعات اخیر نشان داده است که انار شامل صد ها آنتی اکسیدان مختلف است (۹) و از طرف دیگر آنتی اکسیدان های پلی فنیک موجود در آب انار باعث کاهش استرس اکسیداتیو می شود (۱۰). Khan و همکاران در مطالعه ای تحت عنوان پیشگیری شیمیایی سرطان از طریق آنتی اکسیدان های مواد غذایی گزارش کردند که یک سوم مرگ و میر سرطانی در کشور آمریکا از طریق مصرف مواد غذایی حاوی آنتی اکسیدان از جمله آب انار قابل پیشگیری است (۱۱).

امروزه نوجوانان و جوان بیش از یک چهارم جمعیت جهان را تشکیل می دهند که از این میان ۸۰ درصد در کشورهای در حال توسعه زندگی می کنند. به دلیل آسیب پذیری این گروه بر سلامت جسمی و روانی نوجوانان تاکید زیادی شده است زیرا تامین سلامت جسمی و روانی آنان باعث ارتقا سطح سلامت جامعه می شود (۱۲). از طرف دیگر مطالعه قبلی ما در

در حضور ماده‌ای به نام TPTZ استوار است و کمپلکس Fe^{+2} – TPTZ کمپلکس آبی رنگ با ماکریم جذب ۵۹۳ نانومتر است که میزان قدرت احیاء کنندگی سرم یا پلاسمای با افزایش غلظت کمپلکس فوچ توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری می‌شد (۱۵).

جهت ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدی از روش (Thio Barbituric Acid) TBA استفاده شد. در اثر حمله رادیکال‌های آزاد به لیپیدها، آلدیدهای گوناگونی از جمله MDA (مالون دی‌آلدید) ایجاد می‌شود که با تیوباریتوئریک اسید در pH اسیدی و دمای بالا واکنش می‌دهد. ماکریم جذب کمپلکس صورتی رنگ حاصل در ۵۳۲ نانومتر است (۱۶).

داده‌های مختلف این تحقیق با استفاده از آزمون \ddagger زوج مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها:

میانگین سنی در افراد مورد مطالعه $16/27 \pm 0/98$ سال بود. یافته‌ها نشان داد که در افراد تحت مطالعه بعد از مصرف انار میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تمام سرم و گروه‌های تام تیول سرم افزایش و پراکسیداسیون لیپیدی کاهش می‌یابد (جدول شماره ۱).

در این مطالعه از مواد ۵ دی‌تیوبیس نیتروبنزوئیک اسید (Dithionitro Benzoic Acid: DTNB) بازتریس (خریداری شده از شرکت سیگما آمریکا)، ۲-تیوباریتوئریک اسید (TBA) و ان بوتانول (خریداری شده از شرکت مرک آلمان) $2,4,6$ تری‌پیریدیل-اس-تریازین (2,4,6-tripyridyl-s-triazine: TPTZ) از شرکت فلوکا (ایتالیا)، ۱، ۳ ترااتوکسی پروپان (خریداری شده از شرکت آیلرش) استفاده شد. در این بررسی همچنین از دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل UV-visible Jasco ساخت شرکت شیمادزو ژاپن) جهت اندازه‌گیری جذب طول موج‌ها استفاده گردید.

برای ارزیابی گروه‌های تیول پلاسمای (روش کالریمتری HU)، از DTNB $2, 2$ دی‌تیوبیس نیتروبنزوئیک اسید مصرف (Ellman) استفاده شد. با DTNB این گروه‌ها کمپلکس زرد رنگ ایجاد می‌کند که در طول موج 412 نانومتر دارای ماکریم جذب است (۱۴).

برای اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌های تام سرم از (Ferric Reducing Ability of plasma) FRAP روش استفاده گردید. این روش بر اساس توانایی پلاسمای در احیای یون‌های Fe^{+3} (فریک) به Fe^{+2} (فرو)

جدول شماره ۱: مقایسه استرس اکسیداتیو افراد مود مطالعه قبل و بعد از مصرف آب انار

P<value	بعد	قبل	پارامترهای استرس اکسیداتیو
P<0/05	$2/26 \pm 0/54$	$1/95 \pm 0/36$	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم
P<0/05	$0/43 \pm 0/27$	$0/3 \pm 0/19$	گروه‌های تام تیول سرم
P<0/001	$7/4 \pm 2/3$	$11/3 \pm 5/93$	پراکسیداسیون لیپیدی سرم

بحث:

۵۰ درصد فعالیت آنتی اکسیدانی آب انار است (۷). مطالعه حاضر با مطالعات فوق همخوانی دارد. از آنجایی که آب انار دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است، مصرف آن باعث افزایش معنی دار ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم شده است و در نتیجه با جاروب کردن رادیکال های آزاد میزان گروه های تیول سرم نیز افزایش یافته است.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر پراکسیداسیون لیپیدی این افراد بعد از مصرف آب انار کاهش معنی داری یافته است.

مکمل های رژیم غذایی حاوی آنتی اکسیدان های پلی فنولیک در حیوانات باعث مهار اکسیداسیون LDL می شود (۲۲). Rosenblat و همکاران گزارش کردند مصرف آب انار باعث کاهش ۴۲ درصدی پراکسیداسیون لیپیدی موش ها شده و سطوح گلوتاتیون کاهش یافته را ۵۳ درصد افزایش می دهد (۲۳). همچنین گزارشات مختلف نشان داده که مصرف آب انار ظرفیت اکسیداتیو خون را کاهش می دهد (۲۴، ۶، ۲۵). از طرف دیگر گزارش شده که عصاره آب انار سلول های HacaT را در برابر شعه فرابنفش نوع B (UVA) کننده استرس اکسیداتیو و مارکرهای پیری ایجاد شده به وسیله نور جلوگیری کرده و بعنوان مکمل مفید در محصولات درمانی پوست عمل می کند (۲۶). نتایج این مطالعه با مطالعات فوق همخوانی دارد. آب انار دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است مصرف آن باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی خون شده است و تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی با کاهش و خنثی سازی رادیکال های آزاد از عملکرد آنها بر لیپیدها جلوگیری کرده و پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش می دهد. با توجه به یافته ها پیشنهاد می گردد مطالعاتی با گروه شاهد و مقایسه با ویتامین E به صورت قبل و بعد و با توجه به جنسیت انجام گیرد.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم و گروه های تیول سرم افراد تحت مطالعه بعد از مصرف آب انار افزایش معنی داری یافته است.

مطالعات مختلف گزارش کرده اند که انار از جمله گیاهانی است که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می باشد (۹) و همچنین گزارش شده که میوه آن دارای فعالیت آنتی اکسیدانی است (۱۷). Azadzoi و همکاران گزارش کردند که آب انار دارای خاصیت جاروب کنندگی آنیون سوپر اکسید، رادیکال هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن می باشد، همچنین از آسیب های DNA جلوگیری می کند (۱۸). Guo و همکاران گزارش کردند که انار دارای بالاترین قدرت پاک کنندگی رادیکال آزاد می باشد (۱۹). مشخص شده که مکمل های رژیم غذایی حاوی آنتی اکسیدان مانند آب انار که حاوی منبع غنی پلی فنل و آنتی اکسیدان های دیگر می باشند در پیشگیری از بیماری های قلبی وعروقی نقش اساسی دارند (۲۰). همچنین گزارش شده که آب انار دارای فعالیت ضد سرطانی است و این فعالیت را از طریق تداخل با تکثیر سلول های سرطانی، سیکل سلولی و رگ زایی انجام می دهد و به همین علت در درمان و پیشگیری از سرطان و دیگر بیماری های التهابی مزمن استفاده می شود (۲۱). Mertens – Talcott و همکاران گزارش کردند که آب انار به علت غنی بودن از پلی فنل ها دارای اثرات پیشگیری از بیماری های مختلف می باشد (۱۰). پتانسیل آنتی اکسیدانی و آنتی آترواسکلروتیک انار به علت وجود میزان زیاد پلی فنل ها که شامل اسید الازیک در اشکال آزاد و باند شده (الازیتانسین و گلیکوزید الازیک اسید)، گالوتانین و آنتوسیانین (سیانیدین، دلفینیدین و گلیکوزید پلار گونادین) و دیگر فلاونوئیدها (کورستئین، کامفرون و گلیکوزید لوئولین است) می باشد. عمدۀ ترین این پلی فنل ها پونیکا لازین است که یک الازیتانین پیچیده است و مسئول بیش از

اکسیداتیو هستند تأکید می نماید.

نتیجه گیری:

با توجه به افزایش میزان آنتی اکسیدان های تام سرم و کاهش استرس اکسیداتیو این افراد بعد از مصرف آب انار، ارزشمند بودن این میوه را در رژیم غذایی افراد طبیعی و آنهایی که به نحوی دارای استرس

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از تمام کسانی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند قدردانی می گردد.

منابع:

1. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? Br J Pharmacol. 2004 May; 142(2): 231-55.
2. Wu BJ, Kathir K, Witting PK, Beck K, Choy K, Li C, et al. Antioxidants protect from atherosclerosis by a heme oxygenase -1 pathway that is independent of free radical scavenging. J Exp Med. 2006 Apr; 203(4): 1117-27.
3. Rodrigues B, Poucheret D. Streptozotocin induced diabetes induction mechanism and dose dependency. In: Mc Neills JH. Experimental models of diabetes Boca Raton: CRC Press; 1999. p: 3-14.
4. Mc Craty R, Atkinson M, Conforti K. Heart rate variability, hemoglobin Alc and psychological health in type 1 and 2 diabetes following an emotional self – management program. Proceeding of the society of behavioral medicine. 20th ed. California: Annual Scientific Sessions; 1999.
5. Juraneck I, Bezdek S. controversy of free radicals hypothesis : reactive oxygen species – cause or consequence of tissue injury ? Gen Physiol Biophys. 2005 Sep; 24(3): 263-78.
6. de Nigris F, Williams-Ignarro S, Sica V, Lerman LO, D'Armiento FP, Byrns RE, et al. Effects of a pomegranate fruit extract rich in punicalagin on oxidation-sensitive genes and eNOS activity at sites of perturbed shear stress and atherogenesis. Cardiovasc Res. 2007 Jan; 73(2): 414-23.
7. Pantuck AJ, Leppert JT, Zomorodian N, Aronson W, Hong J, Barnard RJ, et al. Phase II study of pomegranate juice for men with rising prostate-specific antigen following surgery or radiation for prostate cancer. Clin Cancer Res. 2006 Jul; 12(13): 4018-26.
8. Aviram M, Dornfeld L, Rosenblat M, Volkova N, Kaplan M, Coleman R, et al. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modification to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. Am J Clin Nutr. 2000 May; 71(5): 1062.
9. Blomhoff R. Antioxidants and oxidative stress. Tidsskr Nor Laegeforen. 2004 Jun; 124(12): 1643-5.
10. Mertens – Talcott SU, Jilma – Stohlawetz P, Rios J, Hingorani L, Derendorf H. Absorption, metabolism, and antioxidant effects of pomegranate (*Punica granatum L.*) polyphenols after ingestion of a standardized extract in healthy human volunteers. J Agric Food Chem. 2006 Nov; 54(23): 8956-61.
11. Khan N, Afaq F, Mukhtar H. Cancer chemoprevention through dietary antioxidants: progress and promise. Antioxid Redox Signal. 2008 Mar; 10(3): 475-510.
12. Kotdawala P, Salvi V, Krishna usha R. Adolescent girl and update. New Delhi: Jape Brothers; 2004. p: 1-7.

13. Maleki Rad AA, Rahzani K, Ranjbar A, Shariat Zadeh SMA, Badkoobeh Hezaveh P. The determination of saliva antioxidant capacity in 15-17 year old students of Arak high schools. Shahrekord Univ Med Sci J. 2006; 2(8): 67-71.
14. Hu ML, Dillard CJ. Plasma SH and GSH measurement. Methods Enzymol. 1994; 233: 385-7.
15. Benzie IF, Strain JJ. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods Enzymol. 1999; 299: 15-27.
16. Esterbeur H, cheeseman K. Determination of aldehydes lipid peroxidation products: malondialdehyde and 4-hydroxy nonenal. Methods Enzymol. 1990; 186: 407-21.
17. Kaur G, Jabbar Z, Athar M, Alam MS. Punica Granatum (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. Food Chem Toxicol. 2006 Jul; 44(7): 984-93.
18. Azadzoi KM, Schulman RN, Aviram M, Siroky MB. Oxidative stress in arteriogenic erectile dysfunction: prophylactic role of antioxidants. J Urol. 2006 Mar; 175 (3 pt 1): 1175-6.
19. Guo S, Deng Q, Xiao J, Xie B, Sun Z. Evaluation of antioxidant activity and preventing DNA damage effect of pomegranate extracts by chemiluminescence method. J Agric Food Chem. 2007 Apr; 55(8): 334.
20. Aviram M, Dornfeld L. Pomegranate Juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure. Atherosclerosis. 2001 Sep; 158(1): 195-8.
21. Lansky EP, Newman RA. Punica granatum (Pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. J Ethnopharmacol. 2007 Jan; 109(2): 177-206.
22. Aviram M, Rosenblat M, Gaitini D, Nitecki S, Hoffman A, Dornfeld L, et al. Pomegranate Juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima – media thickness , blood pressure and LDL oxidation. Clin Nutr. 2004 Jun; 23(3): 423-33.
23. Rosenblat M, Hayek T, Aviram M. Anti – oxidative effects of pomegranate juice (PY) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages. Atherosclerosis. 2006 Aug; 187(2): 363-71.
24. Szuchman A, Aviram M, Musa R, khatib S, Vaya J. Characterization of oxidative stress in blood from diabetic VS. Hypercholesterolemia patients, using a novel synthesized marker. Biomarkers. 2008 Feb; 13(1): 119-31.
25. Kaplan M, Hayek T, Raz A, Coleman R, Dornfeld L, Vaya J, Aviram M. Pomegranate juice supplementation to atherosclerotic mice reduces macrophage lipid peroxidation, cellular cholesterol accumulation and development of atherosclerosis. J Nutr. 2001 Aug; 131(8): 2082-9.
26. Zaid MA, Afaq F, Syed DN, Dreher M, Mukhtar H. Inhibition of UVB – mediated oxidative stress and markers of photo aging in immortalized Ha cat keratinocytes by pomegranate polyphenol extract Pomx. Photochem Photobiol. 2007 Jul–Aug; 83(4): 882-8.