

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

نویسندگان:

سعید ویس کریمی^{۱*}، محمد حسن فتحی نسری^۱، حسن احمد وند^{۲،۳}، لادن رشیدی^۴، فروزان هادی پور مردای^۲

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 قابل بهبود 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 200 mg/kg PPHE200 عصاره هیدرو الکلی، گروه 250 mg/kg PPHE250 عصاره هیدرو الکلی و گروه 5 mg/kg Vit E ویتامین E تقسیم شدند. پس از هشت هفته انجام تمرین منظم استرس ورزشی درمانده ساز، فعالیت آنزیم‌های گلوکاتاتیون پراکسیداز، کاتالاز، میزان گلوکاتاتیون احیاء و پراکسیداسیون لیپیدی نمونه سرم تعیین شد.

یافته‌ها: فعالیت آنزیم‌های گلوکاتاتیون پراکسیداز و کاتالاز و همچنین میزان گلوکاتاتیون احیاء هر سه گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری داشت ($p < 0.05$)، ولی مقدار مالون دی‌آلدئید 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 انجام شده است. به نظر می‌رسد عصاره‌های تمام قسمت‌های میوه انار دارای خواص درمانی باشد (۱). در برخی از گزارش‌ها بیان شده است که پوست، ریشه و برگ درخت انار هم به‌خوبی دارای خاصیت مفید درمانی است (۲). مطالعات نشان می‌دهد که گیاهان غنی از آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها و پلی فنل‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد مؤثر هستند (۳،۴). همچنین از میان ترکیبات

پلی فنلی، فلاونوئیدها آنتی‌اکسیدان‌های قوی برعلیه اکسیداسیون LDL هستند. این ترکیبات جمع‌کننده 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 شلخته شدن عناصر فلزی و تحریک فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی

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

پست الکترونیک: sveiskarami@gmail.com

تلفن تماس: ۰۹۱۶۶۶۷۱۵۱۱

پذیرش: ۹۵/۱۱/۲۴

اصلاح: ۱۳۹۵/۱۱/۲۳

دریافت: ۱۳۹۵/۶/۱۰

PPHE250 (دریافت‌کننده ۲۵۰ mg/kg عصاره هیدرو الکلی پوست انار) و گروه Vit E (دریافت‌کننده ۵ mg/kg 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 داده شده و درجه حرارت آب در محدوده 22 ± 2 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 به منظور 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 الکلی (هیدرو الکلی شامل ۵۰ درصد آب مقطر و ۵۰ درصد اتانول ۷۰ درجه) اضافه شد. سوسپانسیون تهیه شده 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 تهیه شده برای جداسازی سرم به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس در دور ۵۰۰g به

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 دی‌آلدئید 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 دی‌آلدئید 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)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPX)، گلوکاتایون ردوکتاز (GR) و کاتالاز (CAT) هستند. خصوصیت مهم این آنزیم‌ها قابل‌القاء 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، از این‌رو 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 به احتمال تلفات در حین گاواژ، از ۴۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار بالغ با میانگین وزنی 220 ± 20 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 ۲۰۰ mg/kg عصاره هیدرو الکلی پوست انار)، گروه

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

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی (MDA)

سنجش مالون دی‌آلدهید به روش استر باور و همکار انجام گرفت. برای این کار به لوله آزمایش 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 طول موج ۵۳۵ نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر در مقابل بلانک تعیین شد. مقدار جذب‌ها با استفاده از ضریب مولی به‌عنوان مالون دی‌آلدهید تشکیل شده برحسب میکرو مول در میلی‌گرم پروتئین مشخص شدند (۱۴).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های آزمایش

نتایج به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار استاندارد ارائه شده‌اند. 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 $p < 0.05$ 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 PPHE250، PPHE200 و Vit E کاهش معناداری نشان داد ($p < 0.05$). همچنین فعالیت این آنزیم بین گروه Vit E و گروه PPHE200 اختلاف معناداری نشان داد ($p < 0.05$)، ولی بین دو گروه Vit E و PPHE250 این اختلاف معنادار نبود (نمودار ۱).

نمودار ۲ یافته‌های مربوط به فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز بین گروه‌های مختلف آزمایشی را نشان می‌دهد. فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز سرم بین گروه کنترل در قیاس با گروه‌های PPHE250، PPHE200 و Vit E کاهش معناداری نشان داد ($p < 0.05$). از طرفی فعالیت این آنزیم بین گروه Vit E و گروه PPHE200 معنادار بود ($p < 0.05$)، ولی بین دو گروه Vit E و PPHE250 این اختلاف معنادار نبود (نمودار ۲).

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

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

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی (MDA)

سنجش مالون دی‌آلدهید به روش استر باور و همکار انجام گرفت. برای این کار به لوله آزمایش 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 طول موج ۵۳۵ نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر در مقابل بلانک تعیین شد. مقدار جذب‌ها با استفاده از ضریب مولی به‌عنوان مالون دی‌آلدهید تشکیل شده برحسب میکرو مول در میلی‌گرم پروتئین مشخص شدند (۱۴).

اندازه‌گیری غلظت گلوکاتایون احیا (GSH)

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

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

سنجش کاتالاز به روش ای و همکاران انجام شد. برای این کار درون لوله آزمایش 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 طول موج 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 گلوکاتایون پراکسیداز (GPX)

سنجش گلوکاتایون پراکسیداز به روش راتروک و همکاران انجام شد. برای این کار درون لوله آزمایش، ۲۰۰ میکرو لیتر بافر Tris-

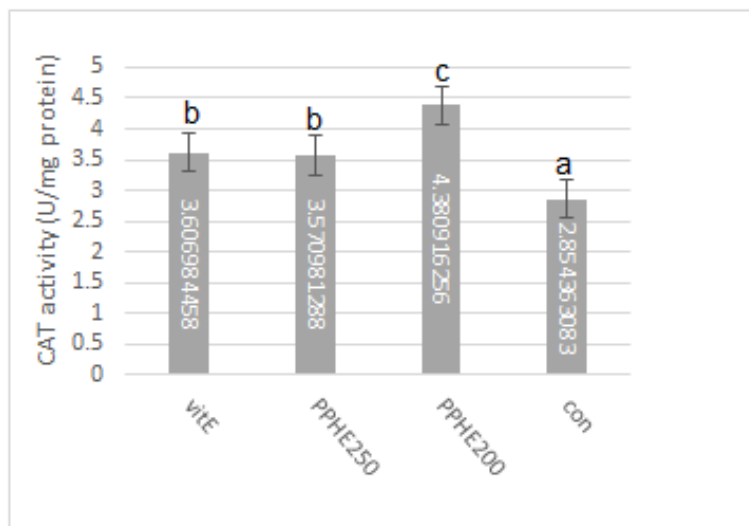
نمودار ۴ یافته‌های مربوط به میزان مالون دی آلدئید بین گروه‌های مختلف آزمایشی را نشان می‌دهد. میزان مالون دی آلدئید سرم گروه کنترل در قیاس با گروه‌های PPHE200، PPHE250 و Vit E افزایش معناداری نشان داد ($p < 0.05$). در آزمون مقایسه میانگین‌ها بین گروه‌های Vit E، PPHE200 و PPHE250 اختلاف معنادار نبود (نمودار ۴).

و Vit E کاهش معناداری نشان داد ($p < 0.05$). در آزمون مقایسه میانگین‌ها میزان گلوتاتیون احیاء بین گروه‌های Vit E، PPHE200 و PPHE250 هم اختلاف معناداری نشان داد ($p < 0.05$) ولی بین دو گروه PPHE250 و PPHE200 این اختلاف معنادار نبود (نمودار ۳).

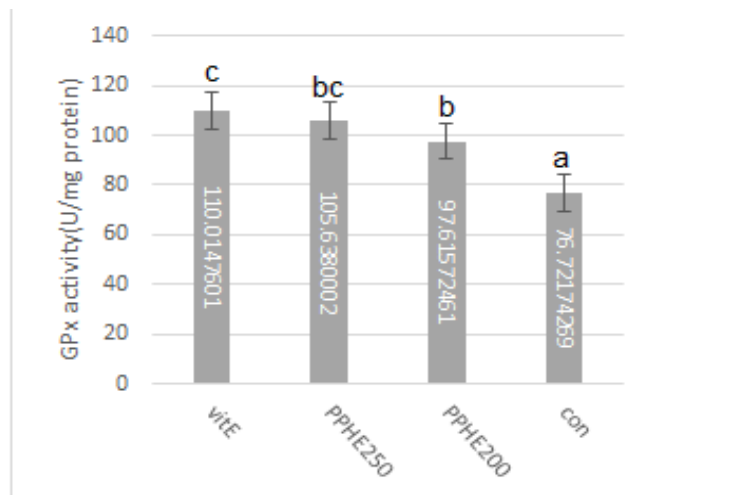
جدول ۱: فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و مقادیر گلوتاتیون احیاء و مالون دی آلدئید

P-Value	خطای معیار	تیمار آزمایشی				فرا سنج
		چهار ۴	سه ۳	دو ۲	یک ۱	
۰/۰۰۰	۰/۲۸	۳,۶±۰,۵۹ ^b	۳,۵۷±۰,۲۴ ^b	۴,۳۸±۰,۴۵ ^c	۲,۵۸±۰,۳۸ ^a	کاتالاز (واحد/ میلی‌گرم پروتئین)
۰/۰۰۰	۴/۷۶	۱۱۰,۰۱±۸,۳۶ ^c	۱۰۵,۶۳±۲,۸۸ ^c	۹۷,۶۱±۵,۹۱ ^b	۷۶,۷۲±۴,۴۹ ^a	گلوتاتیون پراکسیداز (واحد/ میلی‌گرم پروتئین)
۰/۰۰۰	۲/۸۴	۱۰۷,۸۶±۴,۷۶ ^c	۹۳,۵۴±۳,۷۳ ^b	۸۹,۳۹±۶,۹۸ ^b	۷۵,۲۶±۱,۳۵ ^a	گلوتاتیون (میکرو مول/ میلی‌گرم پروتئین)
۰/۰۰۰	۰/۲۵	۳,۲۶±۰,۲۵ ^a	۳,۳۵±۰,۵۱ ^a	۳,۶۲±۰,۱۵ ^a	۵,۸۸±۰,۵۶ ^b	مالون دی آلدئید (میکرو مول/ میلی‌گرم پروتئین)

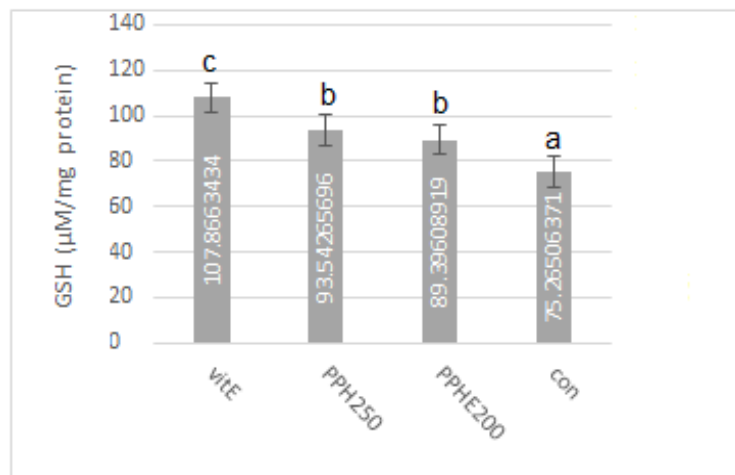
۱. رت های دریافت کننده سرم فیزیولوژی (گروه کنترل) ۲. رت های دریافت کننده ۲۰۰ mg/kg عصاره هیدرو اتانولی پوست انار ۳. رت های دریافت کننده mg/kg ۲۵۰ عصاره هیدرو اتانولی پوست انار ۴. رت های دریافت کننده ۵ mg/kg ویتامین E.



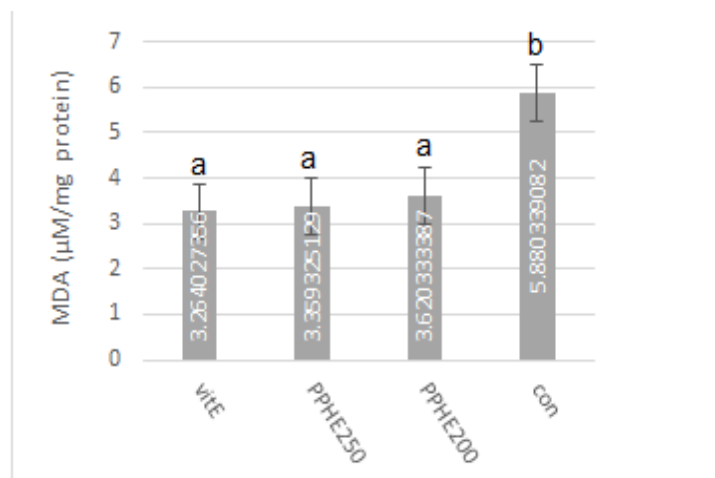
نمودار ۱: فعالیت آنزیم کاتالاز بین گروه‌های آزمایشی
a-c در هر ستون دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).



نمودار ۲: فعالیت آنزیم گلوکاتاتیون پراکسیداز بین گروه‌های آزمایشی
a-c در هر ستون دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).



نمودار ۳: میزان گلوکاتاتیون احیاء بین گروه‌های آزمایشی
a-c در هر ستون دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).



نمودار ۴: میزان مالون دی‌الدهید بین گروه‌های آزمایشی
a-c در هر ستون دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

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). از این رو 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 رت‌هایی که دارای کمبود ویتامین E بودند و تحت استرس ورزش شدید قرار داشتند به شدت افزایش یافته است (۲۱). از آنجا که همه واکنش‌های شیمیایی در سلول‌های بدن تحت کنترل دقیق آنزیم‌ها است از این رو، 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. با این حال تولید رادیکال‌های سوپر اکسید $O_2^{\cdot-}$ و هیدروکسیل (OH) در اثر فعالیت فیزیکی بدن اجتناب‌ناپذیر است که نتیجه آن تولید مالون دی‌آلدهید و حمله به لیپیدهای غشا سلول خواهد بود (۲۲). بنابراین 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 مورد مطالعه قرار گرفته است. یافته‌ها نشان داد که مصرف عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامین E به صورت 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 200 mg/kg و 250 mg/kg عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامین E در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل موجب 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 (۲۳،۲۴) و مطالعات زیادی افزایش غلظت مالون دی‌آلدهید را به‌عنوان یکی از شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی در افراد به دنبال یک جلسه ورزش درمانده ساز گزارش کرده‌اند (۲۵،۲۶). جی و همکاران گزارش کرده‌اند که به دنبال یک جلسه فعالیت بدنی

حاد غلظت مالون دی‌آلدهید 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 دی‌آلدهید در سرم شده است (۲۸) به‌طور مشابه، مصرف عصاره گیاه جینسنگ نیز در موش‌های صحرایی تحت استرس ورزش درمانده ساز موجب کاهش مقدار مالون دی‌آلدهید 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 200 mg/kg و 250 mg/kg عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامین E در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل موجب افزایش مقدار گلوکوتایون احیاء در سرم می‌شود. همچنین مطالعات قبلی نشان داده‌اند که ورزش طاقت‌فرسا باعث ایجاد آسیب‌های اکسایشی و اکسیداسیون گلوکوتایون می‌شود (۳۲،۳۳،۳۴). در یک مطالعه روی ۱۸ دوندۀ ماراتن غلظت گلوکوتایون اکسیدشده پلاسما بلافاصله بعد از ماراتن افزایش پیدا کرد (۳۲). با وجودی که نتایج یک مطالعه حاکی از آن است که مصرف عصاره متانولی پوست انار باعث افزایش غلظت سرمی گلوکوتایون احیاء می‌شود (۲۸)، در مطالعه دیگری مصرف آب انار به همراه ورزش منظم باعث تغییری در غلظت سرمی گلوکوتایون احیاء در مقایسه با گروه کنترل نشده است (۳۵). نتایج مطالعه‌ای نشان داد که مصرف عصاره گیاه سنگ قرمز موجب افزایش غلظت سرمی گلوکوتایون 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 گلوکوتایون می‌شود (۳۶).

همچنین یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که مصرف 200 mg/kg و 250 mg/kg عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامین E در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل موجب افزایش فعالیت آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز در سرم شد. در خصوص فعالیت آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز نتایج مطالعات قبلی نشان داده است که فعالیت این آنزیم تحت استرس ورزش درمانده ساز در بافت عضلانی و سرم روندی کاهشی (۳۲،۳۷) یا بدون تغییر (۳۸) بوده است، درحالی‌که در مطالعه‌ای دیگر غلظت سرمی این آنزیم

اکسیژن باعث کمک به سیستم دفاع آنزیمی شده که نتیجه آن افزایش فعالیت آنزیم‌های گلوکوتاتیون 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 بیان نشده است.

روندی افزایشی داشته است (۳۹). مصرف عصاره متانولی دارچین باعث افزایش غیر معناداری در فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز در بافت عضلانی رت‌های بیمار شده با این عصاره و تحت استرس ورزش درمانده ساز در مقایسه با گروه کنترل شده است (۴۰). از طرفی وسوس و همکاران گزارش کردند که مصرف عصاره گیاه جینسنگ باعث بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی کبد توسط فعالیت گلوکوتاتیون 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 ۲۰۰ mg/kg و ۲۵۰ mg/kg عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامین E 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

References:

- 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.
- Jurenka JS. Therapeutic applications of pomegranate (Punica granatum L.): A review. *Altern Med Rev* 2008; 13(2): 128-144.
- 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.
- 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.
- 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.
- Yu J, et al. Antioxidant activity of citrus limonoids, flavonoids, and coumarins. *J Agric Food Chem* 2005; 53(6): 2009-14.
- Zhang L, Li L, Li Y, et al. In vitro antioxidant activities of fruits and leaves of pomegranate. *Acta Horti* 2008; 765, 31-34.
- Wang R.F, et al. Bioactive compounds from the seeds of Punica Granatum (pomegranate). *J Nat Prod* 2004; 67(12): 2096-8.
- 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
- Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991; 11(1): 81-128.
- 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
- Ji LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med Sci Sports Exerc* 1993; 25(2):225-231.
- 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.
- Esterbauer H, Zollner H. Methods for determination of aldehydic lipid peroxidation products. *Free Radic Biol Med* 1989; 7(2): 197-203.
- 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.
- 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 radicals and 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 produced by exercise. *J Biophys Res Commun* 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, Sophie V, 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 cinnamon bark extract following and exhaustive exercise in male rats. *J Babol Univ Med Sci* 2011; 13(5): 21-28.
40. Dehghan Gh, Shaghghi 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.

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 Nasri¹, Hassan Ahmadvand^{2,3}
Ladan Rashidi⁴, Forozan Hadipur Moradi²

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 group 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