تأثیر عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامین E بر میزان نیتریک اکسید و فعالیت آنزیم های پاراکسوناز و میلوپراکسیداز در رت‌های تحت تنش اکسیداتیو ورزش درمانده ساز

سعید ویس کرمی*[1]، محمد حسن فتحی نسری[2]، حسن احمدوند[3]، لادن رشیدی[4]، رضا محمد رضایی خرم آبادی[5]

۱- دانشجوی دکتری تغذیه، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

۳- استاد، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

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

۵- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

یافته / دوره هجدهم / شماره ۴ / زمستان ۹۵ / مسلسل ۷۰

چکیده

دریافت مقاله: ۹۵/۱۰/۱ پذیرش مقاله: ۹۵/۱۱/۲۷

مقدمه: مطالعات نشان داده‌اند که تولید رادیکال‌های آزاد در اثر تمرینات سنگین ورزشی بخصوص گونه اکسیژن (ROS) باعث آسیب به بافت‌ها شده که می‌توان با مصرف به‌موقع مواد آنتی اکسیدانی از این امر جلوگیری کرد. هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی پوست انار بر کاهش اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از یک جلسه ورزش درمانده ساز بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی به چهار گروه هشت‌تایی تقسیم شدند: ۱) **con** (گروه کنترل). ۲) **PPHE200** (۲۰۰ **mg/kg** عصاره هیدروالکلی پوست انار)، ۳) **PPHE250** (۲۵۰ **mg/kg** عصاره هیدروالکلی پوست انار) و ۴) **vit.E** (۵ **mg/kg** ویتامین E). حیوانات به مدت ۸ هفته به‌طور منظم روزانه یک ساعت ورزش داده شدند و در آخرین جلسه تمرین تحت استرس ورزش درمانده ساز قرار گرفتند. بلافاصله پس از آخرین جلسه تمرین نمونه خون از ورید باب جهت تعیین فعالیت آنزیم‌های پاراکسوناز-۱، میلوپراکسیداز و سطح نیتریک اکسید در نمونه سرم تهیه شد.

یافته‌ها: فعالیت آنزیم پاراکسوناز-۱ سرم گروه‌های **PPHE200** (۲۳/۰۲±۱/۴۷)، **PPHE250** (۲۳/۵۹±۱/۹۸) و **vitE** (۲۵/۳۸±۲/۶۵) در مقایسه با گروه کنترل (۱۸/۵۷±۱/۳۸) افزایش معنی داری داشت (P<۰/۰۵). فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز سرم گروه‌های **PPHE200** (۳۲/۷۶±۹/۹۷)، **PPHE250** (۳۱/۴۵±۶/۰۵) و **vitE** (۲۴/۹۴±۴/۵۶) در مقایسه با گروه کنترل (۴۰/۷۰±۶/۱۴) کاهش معنی داری داشت (P<۰/۰۵). سطح نیتریک اکسید سرم گروه‌های **PPHE200** (۴۶/۵۹±۲/۴۸)، **PPHE250** (۴۰/۲۷±۲/۶۲) و **vit E** (۳۶/۲۵±۳/۸۲) در مقایسه با گروه کنترل (۴۷/۱۸±۵/۳۶) کاهش معنی داری داشت (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق نشان داد مصرف عصاره پوست انار موجب بهبود وضعیت سیستم آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و کاهش اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از فعالیت شدید بدنی می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: ورزش درمانده ساز، پاراکسوناز، میلوپراکسیداز، انار.

*آدرس مکاتبه : بیرجند، دانشگاه بیرجند، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی.

پست الکترونیک: sveiskarami@gmail.com

مقدمه

در شرایط عادی بین تولید و حذف رادیکال‌های آزاد در بدن تعادلی وجود داشته و عدم تعادل بین این دو باعث تنش اکسیداتیو و تغییرات پاتوبیولوژیک متعددی در سطح ماکرومولکول‌های سلولی خواهد شد (۱). تحقیقات نشان داده که فعالیت فیزیکی بدن مانند یک شمشیر دو لبه عمل کرده به‌گونه‌ای که ورزش منظم و ملایم باعث افزایش بیان ژن‌های دخیل در تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدانی شده و به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل می‌نماید در صورتی که فعالیت شدید فیزیکی و خارج از توان سیستم آنتی اکسیدانی بدن، باعث استرس اکسیداتیو و آسیب به سلول های بدن می‌شود که در چنین مواقعی ممکن است مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها مفید واقع شود. همچنین یافته‌ها نشان می دهد که انطباق با ورزش منظم محدود بوده و ممکن است انجام فعالیت شدید و خارج از توان سیستم آنتی اکسیدانی بدن حتی بعد از تطابق منجر به استرس اکسیداتیو شود (۲).

مطالعات نشان می‌دهد که گیاهان غنی از آنتوسیانین ها، فلاونوئیدها و پلی فنل‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد مؤثر می‌باشند (۳،۴). آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی که اکثراً در گیاهان دارویی، میوه‌ها و سبزیجات یافت می‌شوند در بین عامه مردم محبوبیت خاصی داشته و به نظر می‌رسد نقش مهمی در جلوگیری از بیماری‌ها داشته باشند (۵). Punica granatum L. عموماً به‌عنوان انار (Pomegranate) از خانواده punicacea شناخته شده است که یک میوه مهم خوراکی بوده و از دیرباز در کشورهای مدیترانه‌ای، ایران، هند، افغانستان، چین، ژاپن، روسیه و ایالات متحده کشت شده است (۶). ترکیباتی در پوست انار وجود دارند که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد التهاب و ضد سرطانی می‌باشند. برخی از این ترکیبات شامل هیدروکسی بنزوئیک اسیدها (اسید گالیک، اسید الاژیک) و هیدروکسی سینامیک اسیدها (اسید کافئیک، اسید کلروژنیک، پی-کوماریک اسید)، سیسلیتول کربوکسیلیک اسیدها (اسید کوانیک)، فلاونوئیدها و دیگر گلیکوزیدها، آنتوسیانین‌ها و الاژیتانین‌ها هستند (۷). اولین گزارش در مورد خاصیت آنتی اکسیدانی پوست انار مربوط به عصاره استخراج شده از آن توسط متانول و به روش آزمایشگاهی توسط سینگ و همکاران (۲) بود. در این تحقیق عصاره استخراج شده با متانول توسط روش بتاکاروتن لینولئات ۸۳ درصد و روش خنثی نمودن ترکیب ۱و۱ دی فنیل پیکریل هیدرولاز ۸۱ درصد فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داد. همچنین از میان ترکیبات پلی فنلی، فلاونوئیدها آنتی‌اکسیدان‌های قوی بر علیه اکسیداسیون LDL می‌باشند. این ترکیبات باعث جمع آوری و از بین بردن رادیکال‌های هیدروکسیل، پراکسید و آنیون سوپراکسید می‌شوند (۸،۹). ترکیبات ذکر شده در پوست انار موجود بوده و اثرات متنوع و وسیعی بر سلامتی شامل تأثیرات مثبت بر بیماری‌های قلبی و عروقی و در کل بیماری‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد دارند. هم چنین این ترکیبات باعث جلوگیری از پراکسیداسیون چربی‌های غشایی و سبب چیلات شدن عناصر فلزی و تحریک فعالیت آنتی اکسیدان‌های آنزیمی می‌شوند. پوست انار به خاطر داشتن ترکیبات پلی فنلی خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به سایر قسمت‌های انار دارد (۱۰). با توجه به بررسی‌های به عمل آمده پژوهشی در خصوص تأثیر عصاره هیدروالکلی پوست انار بر روی تنش اکسیداتیو ناشی از فعالیت شدید بدنی یافت نشد. لذا با توجه به تأثیر مواد آنتی اکسیدان طبیعی در خنثی سازی رادیکال‌های آزاد و کم بودن اثرات منفی آن‌ها در مقایسه با مواد آنتی اکسیدانی مصنوعی، مطالعه حاضر جهت بررسی اثر عصاره هیدرو الکلی پوست انار و ویتامین E بر میزان نیتریک اکسید و فعالیت آنزیم‌های پاراکسوناز و میلوپراکسیداز در رت‌های تحت تنش اکسیداتیو ورزش درمانده ساز صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره هیدروالکلی 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 به پودر تهیه شد از آن، هیدرو الکل (حاوی ۵۰ درصد آب و ۵۰ درصد اتانول) اضافه شد. سوسپانسیون تهیه شده به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد. سپس عصاره حاصل، پس از صاف شدن توسط کاغذ صافی با استفاده از دستگاه دوار تقطیر در خلأ تغلیظ و حلال آن جدا گردید.

حیوانات و پروتکل ورزشی

در این مطالعه از ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ با میانگین وزنی ۲۰±۲۲۰ گرم استفاده شد. موش‌ها پس از یک هفته عادت پذیری به‌طور تصادفی به چهار گروه به شرح زیر تقسیم شدند: ۱) گروه شاهد، ۲) سطح اول عصاره (دریافت کننده mg/kg ۲۰۰ عصاره هیدروالکلی پوست انار)، ۳) سطح دوم عصاره (دریافت کننده mg/kg ۲۵۰ عصاره هیدروالکلی پوست انار) و ۴) گروه ویتامین E (دریافت کننده mg/kg ۵ ویتامین E).

تمامی گروه‌ها دوز مربوطه را به مدت هشت هفته و به میزان ۲ میلی لیتر از طریق گاواژ دریافت نموده و گروه کنترل هم به میزان مشابه سرم فیزیولوژی دریافت نمود. در تمام طول مدت آزمایش حیوانات توسط یک فرد جابجا و تیمار شدند. در طی این مدت حیوانات محدودیتی در دسترسی به آب و غذا نداشتند و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. حیوانات جهت ورزش در حوضچه‌ای به شکل استوانه با قطر ۱۰۰ سانتی متر و عمق ۵۰ سانتی متر قرار داده شده و درجه حرارت آب در محدوده ۲±۳۲ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد.

در روز اول آزمایش حیوانات به مدت ۱۰ دقیقه در حوضچه به شنا پرداخته و این مدت در طی ۶ روز به ۶۰ دقیقه رسید (۱۱) و این روند به مدت ۸ 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 که یک بار انجام شد عدم حرکت حیوان در اثر خستگی مفرط در سطح آب بود که ادامه این روند ممکن بود منجر به غرق شدن شود (۱۲). مرحله خستگی کامل بین ۱۰ تا ۱۵ دقیقه بسته به توان حیوانات تحت آزمایش متفاوت بود که در این مرحله مراقبت کامل جهت جلوگیری از خفگی حیوانات در آب به عمل آمد.

روش تهیه نمونه سرم

بلافاصله پس از انجام ورزش مفرط حیوانات با ترکیب بالایی از کتامین (۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش و خونگیری از سیاهرگ باب و تا حداکثر مقدار ممکن (۵-۴ میلی لیتر) انجام شد. خون تهیه شده جهت جداسازی سرم به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری، سپس در دور g۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ و سرم جدا شده جهت انجام آزمایشات در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

اندازه‌گیری غلظت نیتریک اکسید

میزان نیتریک اکسید نمونه‌های سرم مطابق مطالعات قبل مؤلفین استفاده گردید. بدین منظور ۲۰ میکرولیتر نمونه به معرف گریس حاوی بافر سولفات مس ۰/۱ مول بر لیتر اضافه و پس از ۱۵ دقیقه جذب در دامنه ۶۰۰-۵۰۰ نانومتر توسط الایزا ریدر قرائت شد و غلظت نیتریک اکسید توسط منحنی استاندارد تعیین گردید (۱۳).

اندازه‌گیری فعالیت پاراکسوناز-۱

میزان فعالیت پاراکسوناز-۱ مطابق مطالعات قبل مؤلفین استفاده گردید که با اضافه کردن ۴۰ میکرولیتر نمونه به ۴۶۰ میکرولیتر بافر تریس اسیدکلریدریک (۱۰۰ میلی مولار و pH=۸) حاوی کلرید کلسیم ۲ میلی مولار و استوک پاراکسون ۴ میلی مولار اندازه گیری شد. تولید فنل در دامنه ۴۱۲ نانومتر روش اسپکتروفتومتر مداوم سنجیده شد (۱۴).

اندازه‌گیری فعالیت میلوپراکسیداز

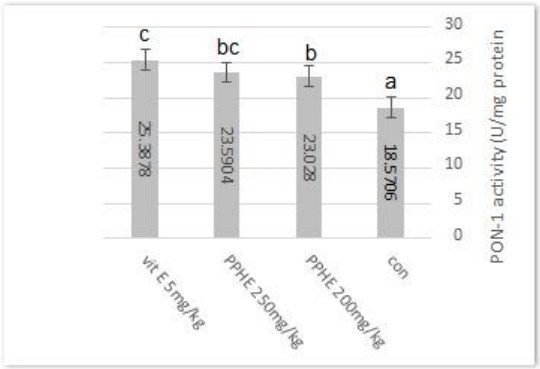
فعالیت این آنزیم مطابق مطالعات قبل مؤلفین سنجیده شد. این روش بر اساس میزان اکسیداسیون تترا متیل بنزیدین (TMB) توسط مخلوط پراکسید هیدروژن و میلوپراکسیداز می‌باشد. ۵ میکرولیتر نمونه را با ۰/۹۵ میلی لیتر معرف پراکسید هیدروژن مخلوط، بعد از ۳۰ دقیقه جذب در محدوده ۶۵۰ نانومتر قرائت شد. نتایج به‌صورت واحد در میلی گرم پروتئین بیان شد (۱۵).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های آزمایش

نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار استاندارد ارائه شده‌اند. تفاوت بین میانگین میزان نیتریک اکسید و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در بین گروه‌های مختلف با کمک آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن آزمون چند دامنه‌ای دانکن برآورد شد. مقادیر ($P<۰/۰۵$) به‌عنوان حداقل سطح معنی دار بودن تفاوت میانگین‌ها مورد استفاده قرار گرفته است.

یافته‌ها

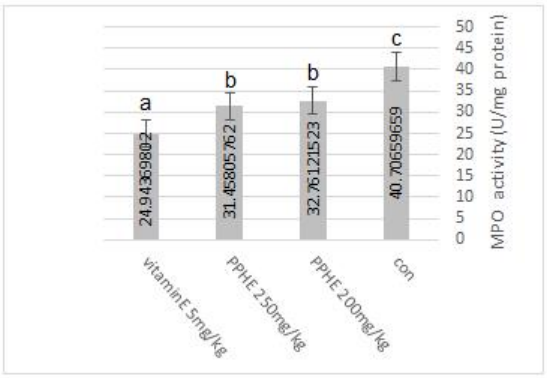
فعالیت آنزیم پاراکسوناز-۱ بین گروه vitE (۲۵/۳۸±۲/۶۵) و گروه PPHE250 (۲۳/۵۹±۱/۹۸) در مقایسه با گروه کنترل (۱۸/۵۷±۱/۳۸) افزایش معنی داری نشان داد ($P<۰/۰۵$). فعالیت این آنزیم بین گروه vitE (۲۵/۳۸±۲/۶۵) و PPHE250 (۲۳/۵۹±۱/۹۸) و همچنین بین دو گروه PPHE250 (۲۳/۵۹±۱/۹۸) وPPHE200 (۲۳/۰۲±۱/۴۷) معنی دار نبود اما بین گروه vitE (۲۵/۳۸±۲/۶۵) و گروه PPHE200 (۲۳/۰۲±۱/۴۷) اختلاف معنی دار بود ($P<۰/۰۵$) (تصویر ۱).



تصویر ۱. فعالیت سرمی آنزیم پاراکسوناز-۱ گروه‌های آزمایشی.

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

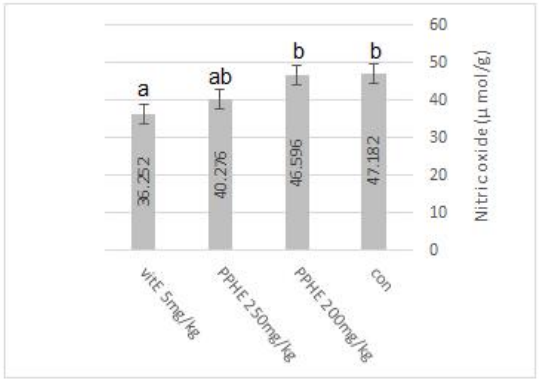
فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز سرم گروه‌های PPHE200 (۳۲/۷۶±۹/۹۷)، PPHE250 (۳۱/۴۵±۶/۰۵) و vit E (۲۴/۹۴±۴/۵۶) در مقایسه با گروه کنترل (۴۰/۷۰±۶/۱۴) کاهش معنی داری داشت ($P<۰/۰۵$). این کاهش بین PPHE200 (۳۲/۷۶±۹/۹۷) و PPHE250 (۳۱/۴۵±۶/۰۵) به لحاظ آماری معنی دار نشد ولی با تیمار vit E (۲۴/۹۴±۴/۵۶) این تفاوت معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$) (تصویر ۲).



تصویر ۲. فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز سرم گروه‌های آزمایشی.

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

سطح نیتریک اکسید گروه vit E (۳۶/۲۵±۳/۸۲) در مقایسه با گروه کنترل (۴۷/۱۸±۵/۳۶) کاهش معنی داری داشت ($P<۰/۰۵$). ولی در آزمون مقایسه میانگین‌ها بین گروه های PPHE200 (۴۶/۵۹±۲/۴۸) و PPHE250 (۴۰/۲۷±۲/۶۲) این اختلاف معنی دار نبود. همچنین بین گروه PPHE200 (۴۶/۵۹±۲/۴۸) با گروه کنترل (۴۷/۱۸±۵/۳۶) اختلاف معنی داری مشاهده نشد (تصویر ۳).



تصویر ۳. سطح نیتریک اکسید سرم گروه‌های آزمایشی.

[a-d] در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($P<۰/۰۵$).

بحث و نتیجه گیری

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی الکترون دهنده بوده که موجب خنثی سازی رادیکال‌های آزاد تولید شده در بدن موجودات زنده می‌شوند. این ترکیبات به دو دسته آنزیمی و غیر آنزیمی تقسیم می‌شوند که در شرایط طبیعی بین تولید و خنثی سازی رادیکال‌های آزاد در بدن تعادل وجود دارد. از دسته غیر آنزیمی آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توان به ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گیاهان اشاره نمود. فلاونوئیدها می‌توانند از فعالیت پاراکسوناز سرم (PON1) محافظت کرده که نتیجه این امر کاهش اکسیداسیون چربی‌ها می‌باشد. در بررسی حاضر تأثیر احتمالی هم‌افزایی مصرف آنتی‌اکسیدان‌های با منشاء خارجی به همراه ورزش منظم شنا و به دنبال آن استرس ناشی از یک جلسه ورزش درمانده ساز مورد مطالعه قرار گرفت. یافته‌ها نشان داد که مصرف عصاره هیدروالکلی پوست انار و ویتامین E به‌صورت خوراکی به‌عنوان منبع آنتی اکسیدان به همراه فعالیت ورزشی منظم و در پی آن فعالیت شدید بدنی می‌تواند باعث کاهش اثرات استرس اکسایشی ناشی از فعالیت شدید بدنی و بالا بردن ظرفیت دفاع آنتی اکسیدانی گردد. انجام یک جلسه ورزش درمانده ساز می تواند اثرات مضری بر سلامتی افراد داشته باشد (۱۶). تولید گونه‌های فعال اکسیژن در حین انجام فعالیت بدنی شدید و نامنظم به دنبال افزایش مصرف اکسیژن در ماهیچه‌های فعال در حدی است که معمولاً دستگاه‌های دفاع آنتی اکسیدانی درون زا به‌تنهایی نمی‌توانند با آن مقابله نمایند؛ بنابراین فعالیت‌های ورزشی شدید با افزایش ROS و تضعیف دستگاه آنتی اکسیدانی درون زا منجر به استرس اکسایشی می‌شوند (۱۷). مشاهده شده که ترکیبات پلی فنلیک گیاهان مانند اسید گالیگ، کاتچین‌ها، کلروژنیک، کافئیک و اسیدهای فرولیک فعالیتی شبیه به مواد آنتی اکسیدانی داشته و تأثیر آنتی موتاژنیک و ضد سرطانی دارند (۱۸). گزارش شده که پوست انار حاوی الاژیک اسید، الاژیتانین‌ها و گالیک اسید می‌باشد (۱۹).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف عصاره هیدروالکلی پوست انار و ویتامین E موجب کاهش سطح نیتریک اکسید در سرم رت‌های تحت آزمایش شده است. حضور ترکیبات پلی فنلیک در پوست انار ممکن است مسئول اثرات آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی عصاره تهیه شده از آن‌ها باشد (۲۰). از این رو می‌توان پیشنهاد نمود که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی مشاهده شده در پوست انار به دلیل حضور این ترکیبات باشد. همچنین ویتامین E جهت فعالیت طبیعی سلول‌های بدن در حین فعالیت ورزشی ضروری می‌باشد (۲۱). نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه احمد و همکاران که در آن مصرف عصاره متانولی پوست انار موجب کاهش سطح نیتریک اکسید در سرم رت شده بود مطابقت داشت (۲۲). به نظر می‌رسد توانایی ویتامین E و عصاره هیدرو الکلی پوست انار برای کاهش مولکول‌های اکسیدان در مهار کردن رادیکال‌های اکسیژن فعال باشد.

نتایج ما نشان داد که مصرف عصاره هیدروالکلی پوست انار و ویتامین E موجب افزایش فعالیت آنزیم پاراکسوناز -۱ سرم در رت‌های مورد مطالعه شد. تغییر در آنزیم‌های آنتی اکسیدانی بافت‌های مختلف حیوانی و انسانی پس از انجام ورزش سخت نتایج ضد و نقیضی را به دنبال داشته است (۲۳). در مطالعه‌ای تجویز آب انار به موش صحرایی با نقص apo E موجب افزایش ۴۳٪ فعالیت آنزیم پاراکسوناز گردید (۲۴). از سوی دیگر نتایج مطالعه دیگری حاکی از آن است که مصرف انار توسط مردان سالم موجب افزایش فعالیت سرمی آنزیم پاراکسوناز تا ۲۰٪ شده است (۲۵). همچنین طی تحقیقی تأثیر مثبت چای سبز بر روی میزان فعالیت سرمی آنزیم پاراکسوناز گزارش شد و پیشنهاد شده که آنتی اکسیدان های چای سبز می‌توانند میزان فعالیت سرمی آنزیم پاراکسوناز را به‌طور قابل توجهی افزایش دهند (۲۶). اثر آنتی اکسیدانی چای سبز بیانگر این موضوع می‌باشد که چای سبز که غنی از فلاونوئیدها می‌باشد، موجب حفظ فعالیت

پاراکسوناز می‌شود (۲۷). به‌طور مشابه در تحقیقات دیگر فلاونوئیدهای مرکبات نیز میزان فعالیت سرمی آنزیم پاراکسوناز را به‌عنوان یک آنزیم آنتی اکسیدانی افزایش دادند (۲۸) که با نتایج حاصل از مطالعه اخیر مطابقت داشت. تحقیقات قبلی نشان داده که ترکیبات فلاونوئیدی مسئول افزایش آنزیم پاراکسوناز بوده که این امر مرتبط با تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل موجود بر روی این ترکیبات می‌باشد (۲۹) و از طرفی عصاره هیدرو الکلی پوست انار غنی از این ترکیبات است. با این حال مکانیسمی که طی آن میزان فعالیت سرمی آنزیم پاراکسوناز (PON-1) توسط این ترکیبات افزایش می‌یابد، هنوز ناشناخته است.

نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز در گروهای مصرف کننده عصاره هیدرو الکلی و ویتامین E در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری داشت. در مطالعه ای تأثیر محافظتی ویتامین E و کافئیک اسید را بر روی آسیب ناشی از ایسکمی پرفیوژن مجدد کلیه در رت مورد بررسی قرار گرفت که در آن میزان فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز در تیمارهای ویتامین E کاهش معنی داری نشان داد (۳۰) که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد، در حالی که در تحقیقی دیگر مصرف داروی ایندومتاسین در رت‌های با جراحت معده موجب افزایش فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز شده است که با نتایج حاصل از آزمایش حاضر مشابهت نداشت (۳۱) به نظر می‌رسد سطح این آنزیم که یک فاکتور ضد التهابی است در اثر مصرف مواد آنتی اکسیدان کاهش می‌یابد.

با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که مکمل سازی دراز مدت با عصاره هیدروالکلی پوست انار و ویتامین E به‌عنوان یک منبع خارجی آنتی اکسیدانی، با افزایش فعالیت آنزیم پاراکسوناز و کاهش فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز و سطح نیتریک اکسید استرس اکسایشی ناشی از یک جلسه ورزش درمانده ساز در موش‌های صحرایی نر را کاهش می‌دهد.

تشکر و قدردانی

از مدیریت و پرسنل مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان که امکانات لازم جهت اجرای این طرح را تقبل نمودند تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Yumiko Y, Ryuichi N, Akira O, Yumiko Y, Ryuichi N, Akira O, et al. ROS Scavenging Activity and Muscle Damage Prevention in Eccentric Exercise in Rats. J Physiol Sci. 2007; 57(4): 211-216.
2. Singh RP, Chidambara Murthy K, Jayaprakasha GK. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (Punica granatum) peel and seed extracts using in vitro models. J Agric Food Chem. 2002; 50: 81-89.
3. Kiran B, Lalitha V, Raveesha KA. Psoralea corylifolia L. a potent medicinal plant with broad spectrum of medicinal properties. Int J Fundamental Applied Sci. 2013; 2(1): 20-22.
4. Prasad MP, Shekhar S, Amit B. Phytochemical analysis and antioxidant potential of Piper species and its molecular characterization by RAPD markers. Int J Fundamental Applied Sci. 2012; 1(1): 7-10.
5. Bonilla J, Atarés L, Chiralt A, Vargas M. Recent patents on the use of antioxidant agents in food. Food Nutr Agric. 2011; 3: 123-132.
6. Shabtay A, Eitam H, Tadmor Y, Orlov A, Meir A, Weinberg P, et al. Nutritive and Antioxidative Potential of Fresh and Stored International Symposium on Plants as Food and Medicine. 2006; 765-776.
7. Prakash CVS, Prakash I. Bioactive chemical constituents from pomegranate (Punicagranatum) juice, seed and peel- A Review. Int J Res Chem Environ. 2011; 1: 11-18.
8. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids Free. Radic Biol Med. 1996; 20: 933-940.
9. Yu J, Wang L, Walzem RL, Miller EG, Pike LM, Patil BS. Antioxidant activity of citrus limonoids, flavonoids, and coumarins. J Agric Food Chem. 2005; 53(6): 2009-2014.
10. Zhang L, Li L, Li Y, Zhang Y. In vitro antioxidant activities of fruits and leaves of pomegranate, Acta Hortic, (Proceedings of the Pomegranate Industrial Byproduct as a Novel Beef Cattle Feed. J Agric Food Chem. 2008; 56: 10063-10070.
11. Ji LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. Med Sci Sports Exerc. 1993; 25: 225-231.
12. Gündüz F, Sentürk UK, Kuru O, Aktekin B, Aktekin MR. The effect of one year's swimming exercise on oxidant stress and antioxidant capacity in aged rats. Physiol Res. 2004; 53: 171-176.
13. Ranjbar K, Nazem F, Nazari A, Gholami M, Nezami AR, Ardakanizade M, et al. Synergistic effects of nitric oxide and exercise on revascularisation in the infarcted ventricle in a murine model of myocardial infarction. EXCLI Journal. 2015; 14: 1104-1115.
14. Ahmadvand H, Ghasemi Dehnoo M, Dehghani A, Bagheri S, Cheraghi RA. Serum paraoxonase 1 status and its association with atherogenic indexes in gentamicin-induced nephrotoxicity in rats

treated with coenzyme Q10. Ren Fail. 2014; 36(3): 413-418.
15. Khalatbary AR, Ahmadvand H. Effect of Oleuropein on Tissue Myeloperoxidase Activity in Experimental Spinal Cord Trauma. Iranian Biomed J. 2011; 15(4): 164-167.
16. Kim HT. Effect of the joint administration of selenium and vitamin E in combination with regular aerobic exercise on markres of lipid peroxidation and glutathione peroxidase rats. Int J sport Nurt Exerc Metab. 2005; 15(3): 260-268.
17. Helgerud J, Hoydal K, Wang E. Aerobic high-intensity intensity interval improve Vo2max more than moderate training. Med Sci sport Exerc. 2007; 39(4): 665-671.
18. Ayrton AD, Lewis DF, Walker R, Ioannides C. Antimutagenicity of ellagic acid towards the food mutagen IQ: investigation into possible mechanisms of action. Food Chem Toxicol. 1992; 30: 289-295.
19. Ben NC, Ayed N, Metche M. Quantitative determination of the polyphenolic content of pomegranate peel. Lebensm Unters Forsch. 1996; 203: 374-378.
20. Gil MI, Tomas-Barberan FA, Hess-Pierce B, Holcroft DM, Kader AA. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. J Agric Food Chem. 2000; 48: 4581-4589.
21. Daveis KJA, Quintaniha TA, Brooks GA, Packer L. Free radical and tissue damage producted by exercise. Biophys Res common. 1982; 107: 1198-1205.
22. Ahmed E, Abdel M. Antioxidant activities of Punica granatum (pomegranate) peel extract on brain of rats. J Med Plant Res. 2012; 6(2): 195-199.
23. Metin G, Gumustas MK, Uslu E, Belce A, Kayserilioglu A. Effects of regular training on plasma thiols, malondialdehyde and carnitine concentrations in young soccer players. Chin J Physiol. 2003; 46(1): 123-129.
24. Aviram M, Dornfeld L, Rosenblat M, Volkova N, Kaplan M, Coleman R. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. Am J Clin Nutr. 2000; 71(5): 1062-1076.
25. Boesch-Saadatmandi C, Niering J, Minihane AM, Wiswedel I, Gardeman A, Wolffram S. Impact of apolipoprotein E genotype and dietary quercetin on paraoxonase1 status in apoE3 and apoE4 transgenic mice. Atherosclerosis. 2010; 211(1): 110-119.
26. Rosenblat M, Volkova N, Coleman R, Almagor Y, Aviram M. Antiatherogenicity of extra virgin olive oil and its enrichment with green tea polyphenols in the atherosclerotic apolipoprotein-E deficient mice: enhanced macrophage cholesterol efflux. J Nutr Biochem. 2008; 19(8): 514-523.
27. Tas S, Celikler S, Ziyanok-Ayvalik S, Sarandol E, Dirican M. Ulva rigida improves carbohydrate metabolism, hyperlipidemia and oxidative stress in

streptozotocin-induced diabetic rats. Cell Biochem Funct. 2011; 29(2): 108-113.
28. Jung UJ, Lee MK, Park YB, Kang MA, Choi MS. Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice. Int J Biochem Cell Biol. 2006; 38(7): 1134-1145.
29. Hamidia Z, Nayeri H, Naderi GHA, Boshtam M, Shokoohi-Nahrkhalaji A. The effect of some flavonoids on paraoxonase-1 activity. J Shahrekord Univ Med Sci. 2014; 16(4): 71-76.
30. Ahmet G, Ferah A, Semsettin S, Sadik S, Huseyin O, Mukaddes GN, et al. Protective role of a-tocopherol and caffeic acid phenethyl ester on ischemia–reperfusion injury via nitric oxide and myeloperoxidase in rat kidneys. Clinica Chimica Acta. 2004; 33-41.
31. Berna D, Gulnaz Ç, Halis S, Fathi A. Effects of indomethacin, celecoxib and meloxicam on glutathione, malondialdehyde and myeloperoxidase in rat gastric tissue. The Pain Clinic. 2005; 17(4): 383-388.

Effects of Pomegranate peel hydroAlcoholic extract and vitamin E supplementation on Paraoxonase, myeloperoxidase Activities and nitric oxide levels following an exhaustive exercise in rats

***Veiskarami S*[*1], *Fathi MH*[2], *Ahmadvand H*[3,4], *Rashidi L*[5], *Mohammad rezaei khorramabadi R*[6]**

1. PhD Student in Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Birjand University, Birjand, Iran.Sveiskarami@gmail.com.

2. Professor, Department of Animal science, Faculty of Agriculture, Birjand University, Birjand, Iran.

3. Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran.

4. Professor, Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran.

5. Assistant Professor, Standards Institute, Iranian National Standards Organization, Karaj, Iran.

6. Student Research Committee, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran.

Received: *21 Dec 2016* **Accepted:** *15 Feb 2017*

Abstract

Background: free radicals produced as a result of heavy training exercise especially oxygen species (ROS) damage to body tissues Which can be prevent from this by consuming antioxidant substances timely. The aim of this study was to evaluate effect of Pomegranate (*Punica Granatum*) peel hydro alcoholic on reduced of oxidative stress induced by an exhaustive exercise.

Materials and Methods: Thirty two weight-matched male Wistar rats were evenly divided into: 1) control: received saline (0.2 ml saline/ rat) by oral administration via epigastric tube. 2) Received oral administration of 200 mg/kg pomegranate peel hydro alcoholic extract (PPHE200). 3) Received oral administration of 250 mg/kg Pomegranate peel hydro alcoholic extract (PPHE250). 4) Received oral administration of vitamin E (vit E) 5 mg/kg. Animals were submitted to swimming exhaustive exercise stress for an 8-week. At the end of the experiment, blood samples were collected for serum. Serum samples were analyzed for paraoxonase-1(PON-1) and myeloperoxidase (MPO) activities and nitric oxide levels.

Results: Paraoxonase-1 (PON-1) activities serum were significantly increases in PPHE200 (23.03±1.47), PPHE250 (23.59±1.98) and vit E (25.38±2.65) than in the control (18.57±1.380) ($p<0.05$).In PPHE200 (32.76±9.97)، PPHE250 (31.45±6.05) and vit E (24.94±4.65) treated animals was determined in serum where myeloperoxidase activities reduced significantly compared with control (40.70±6.14) ($p<0.05$). Levels of Nitric oxide levels were significantly lower in PPHE 200 (46.59±2.48), PPHE250 (40.27±2.62) and vit E (36.25±3.82) treated than in control (47.18±5.36) ($p<0.05$).

Conclusion: Results indicated that Pomegranate peel hydro alcoholic extract supplementations can strength antioxidant defense system and anti-inflammatory induced by exhaustive exercise.

Keywords: Exhaustive exercise, Paraoxonase, Myeloperoxidase, Pomegranate.

Citation: Veiskarami S,Fathi MH, Ahmadvand H, Rashidi L, Mohammad rezaei khorramabadi R. Effects of Pomegranate peel hydroAlcoholic extract and vitamin E supplementation on Paraoxonase, myeloperoxidase Activities and nitric oxide levels following an exhaustive exercise in rats. Yafte. 2017; 18(4): 21-29.