Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:34 +0330 on Monday December 10th 2018

ORIGINAL ARTICLE

Effect of Short-term Consumption of White Grape on Oxidative Stress by Measuring the Serum Malondialdehyde and Total Antioxidant Capacity Levels in Overweight Women

Farzaneh Amiri[1],
Arash Babaie[2],
Mohammad Satari[3],
Mahmood Ghorbani[4]

[1] Msc in Biology, Faculty of Science, Payame Noor University of Tehran, Tehran, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Malayer University, Malayer, Iran
[3] PhD Student in Biophysics, Faculty of Science, Tarbiat Moadares University, Tehran, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran

(Received, February 1, 2016 ; Accepted April 11, 2016)

Abstract

Background and purpose: Free radicals have important role in many diseases such as cancer. Antioxidants are powerful scavengers of free radicals and help immune system to remove them. Total antioxidant capacity (TAC) indicates total antioxidant activity in plasma and body fluids. Imbalance between producing free radicals and antioxidant defense leads to oxidative stress in the body and results in cell components damage. Lipid oxidative damage caused by free radicals produces active aldehydes such as malondialdehyde (MDA). This study aimed at investigating the effect of consumption of grape - an antioxidant-rich fruit- on serum levels of MDA and also evaluating the indicators of oxidative stress.

Materials and methods: This study was conducted in 43 overweight women in Joorab village, Malayer, Iran, who were selected via simple random sampling in 2015. The relationship between BMI and age were assessed with serum MDA and TAC levels. Considering the significant relationship between MDA and TAC with BMI and age, the study population was divided into three groups: BMI_1 (over weight), BMI_2 (obese), and BMI_3 (sever obesity). MDA and TAC levels were evaluated using HPLC and ELISA in three groups after two consecutive weeks of grape-free diet and consumption of fresh grapes.

Results: Grape consumption significantly reduced serum MDA level in BMI_2 and BMI_3 groups ($P< 0.05$ and $P< 0.001$, respectively) but did not have considerable effect on MDA level among those in BMI_1. Also, consumption of grape had no significant effect on TAC level ($P> 0.05$).

Conclusion: Grape consumption could reduce oxidative stress markers and improve antioxidant defense.

Keywords: grape, free radical, lipid peroxidation, malondialdehyde, total antioxidant capacity

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26(138): 85-95 (Persian).

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:34 +0330 on Monday December 10th 2018

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و ششم شماره ۱۳۸ تیر سال ۱۳۹۵ (۹۵-۸۵)

ارزیابی تأثیر مصرف کوتاه مدت انگور سفید فخری روی استرس اکسیداتیو از طریق اندازه گیری میزان مالون دی آلدهید (MDA) و ظرفیت آنتی اکسیدان تام (TAC) در زنان دارای اضافه وزن در ملایر

فرزانه امیری[۱]
آرش بابایی[۲]
محمد ستاری[۳]
محمود قربانی[۴]

چکیده

سابقه و هدف: رادیکال‌های آزاد عامل بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان سرطان می باشند. آنتی‌اکسیدان‌ها جاروب‌کننده‌های قوی رادیکال های آزاد هستند. ظرفیت آنتی‌اکسیدان تام (TAC) نشان دهنده فعالیت کل آنتی‌اکسیدانی بدن است. عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و دفاع آنتی‌اکسیدانی در بدن منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب به سلول می‌گردد. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی تاثیر مصرف انگور به عنوان میوه‌ای سرشار از آنتی اکسیدان، بر سطح سرمی MDA و TAC (شاخص‌های ارزیابی استرس اکسیداتی) می‌باشد.

مواد و روش‌ها: مطالعه مداخله ای از نوع نمونه گیری آسان است که به صورت تصادفی ساده بر روی ۴۳ نفر از زنان دارای اضافه وزن در روستای جوراب از توابع شهرستان ملایر واقع در استان همدان، در سال ۱۳۹۴ انجام شد. در ابتدا ارتباط بین BMI و سن با سطح مالون دی آلدهید (MDA) و TAC سرم سنجیده شد. با توجه به معنی‌دار بودن سطح MDA و TAC با BMI و سن، جمعیت مورد مطالعه در ۳ گروه با BMI (BMI_1 (افراد دارای اضافه وزن)، BMI_2 (افراد چاق) و BMI_3 (افراد دارای چاقی شدید)) و رده سنی متفاوت دسته‌بندی شدند. سپس سطح MDA و TAC در این ۳ گروه جمعیتی بعد از دو هفته متوالی عدم مصرف و مصرف انگور تازه، با تکنیک HPLC و الایزا ارزیابی شد.

یافته‌ها: مصرف انگور به طور قابل توجهی سطح MDA در گروه‌های BMI_2 و BMI_3 را به ترتیب در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ و $p<۰/۰۰۱$ کاهش داد اما تاثیر قابل توجهی بر سطح MDA در گروه BMI_1 نداشت و همچنین با مصرف انگور تأثیر معنی‌داری بر سطح TAC ($p>۰/۰۵$) مشاهده نشد.

استنتاج: مصرف انگور در رژیم غذایی می‌تواند مارکرهای استرس اکسیداتیو را کاهش داده و موجب بهبود دفاع آنتی‌اکسیدانی شود.

واژه های کلیدی: انگور، رادیکال آزاد، پراکسیداسیون لیپید، مالون دی آلدهید (MDA)، ظرفیت آنتی‌اکسیدان تام (TAC)

مقدمه

رادیکال آزاد، اتم یا مولکولی است که یک الکترون جفت نشده در لایه بیرونی خود دارد(۱). رادیکال‌های آزاد بسیار واکنش پذیر و ناپایدارند(۲) و می‌توانند به سرعت با مولکول‌هایی که در نزدیکی آن‌ها هستند،

مولف مسئول: آرش بابایی: ملایر: دانشگاه ملایر، دانشکده علوم
E-mail: a.babaei@sheffield.ac.uk
۱. کارشناسی ارشد زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور تهران، تهران، ایران
۲. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران
۳. دانشجوی دکترای بیوفیزیک، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۴. استادیار، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۴/۱۱/۱۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۴/۱۲/۱۴ تاریخ تصویب : ۱۳۹۵/۱/۲۳

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:34 +0330 on Monday December 10th 2018

واکنش دهند(۳). بنابراین با داشتن این ویژگی می‌توانند از طریق واکنش با اسید چرب غیر اشباع در غشاهای سلولی، واکنش با پروتئین و DNA موجب آسیب بافتی شوند(۴). رادیکال‌های آزاد با تخریب ساختار مولکول‌های زیستی باعث ایجاد استرس‌اکسیداتیو می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌ها عوامل کاهنده‌ای هستند که آسیب اکسیداتیو به ساختارهای بیولوژیکی را از طریق جاروب کردن رادیکال‌های آزاد و یا بی‌اثر کردن آسیب رادیکال‌های آزاد، کاهش می‌دهند(۵).

رادیکال‌های آزاد و یا گونه‌های فعال غیر رادیکالی با حمله به پیوندهای دوگانه کربن- کربن در اسیدهای چرب غیراشباع باعث پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند. این فرآیند می‌تواند با توجه به میزان شدت و شرایط متابولیسمی سلول با اثرگذاری بر لیپیدهای غشایی بقای سلول را تهدید کرده و یا مرگ سلولی را القا کند(۶). MDA یکی از چندین محصول نهایی با وزن مولکولی کم می‌باشد که از طریق تجزیه محصولات اولیه و ثانویه، پراکسیداسیون لیپیدی تشکیل می‌شود(۷). تعیین سطح MDA به علت واکنش آسان آن با تیوباربیتوریک اسید (TBA) به‌طور گسترده‌ای به عنوان رایج‌ترین روش برای ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدی در علوم زیستی و پزشکی کاربرد دارد(۶). MDA هم‌چنین در علوم مواد غذایی به عنوان شاخص اکسیداسیون لیپیدی، ترشیدگی غذاها و محصولات غذایی استفاده می‌شود(۷). MDA به علت سمیت و واکنش‌پذیری بالای آن، یکی از قابل اعتمادترین مارکرهایی است که وضعیت‌های بالینی استرس‌اکسیداتیو را تعیین می‌کند(۶).

پراکسیداسیون لیپیدی در چندین بیماری انسانی مانند آترواسکلروز، سرطان، دیابت، آسیب حاد ریوی و آلزایمر دخالت دارد(۸). در بیماری‌های مختلف مثلاً در قرنیه افراد مبتلا به کراتوکونوس و کراتوپاتی تاولی(۹)، در مقاطع بافتی مفاصل بیماران مبتلا به استئوآرتریت(۱۰)، بیماری پارکینسون(۱۱) و هپاتیت مزمن c (CHC) سطح MDA افزایش می‌یابد(۱۲).

مطالعات متعددی در رابطه با تأثیر انگور و محصولات مرتبط با آن بر سطح MDA انجام شده است. به عنوان مثال مصرف عصاره پوآنتوسیانیدین دانه انگور GSPE در بیماران مبتلا به دیابت نروپاتی پریفرال (DPN) باعث افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) می‌شود و در نتیجه سطح MDA را کاهش می‌دهد(۱۳). مصرف آب انگور بنفش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم را افزایش داده و از اکسیداسیون LDL محافظت می‌کند(۱۴). هم‌چنین پروآنتوسیانیدین دانه انگور GSP، از طریق مهار رادیکال آزاد اکسیژن، مهار پراکسیداسیون لیپیدی و در نتیجه کاهش میزان MDA تشکیل سایتوکین‌های التهابی را در موش مهار می‌کند(۱۵).

یک آنتی‌اکسیدان، مولکولی است که با اکسید کردن خود، اکسیداسیون مولکول‌های دیگر را مهار می‌کند. بنابراین آنتی‌اکسیدان‌ها مانند تیول‌ها، آسکوربیک‌اسید یا پلی فنول‌ها عوامل کاهنده‌ای هستند(۱۶) که به عنوان متوقف‌کننده اثرات مخرب اکسیژن منفرد و سه گانه، جاذب رادیکال‌های آزاد، تجزیه‌کننده پراکسید و مهارکننده آنزیمی عمل می‌کنند(۱۷).

آنتی‌اکسیدان‌ها ممکن است در بدن سنتز شوند و یا از رژیم غذایی مناسب به دست آیند(۱۸). به عبارت دیگر مولکول‌های آنتی‌اکسیدان پلاسما از دو منشأ درون‌زا (مانند اسیداوریک، آلبومین و تیول‌ها) و برون‌زا (مانند ویتامین E و C) تأمین می‌شوند. TAC مجموع فعالیت هر دو گروه آنتی‌اکسیدانی موجود در پلاسما و مایعات بدن را نشان می‌دهد(۱۹). TAC نشانگر وضعیت انرژی موجود در بافت‌های بدن است(۲۰) که می‌تواند یک نشانگر قابل اعتماد در پیش‌بینی و تشخیص بیماری‌ها باشد. TAC هم‌چنین در ارزیابی مداخلات تغذیه‌ای، خطر ابتلا به بیماری و پیشگیری از آن و استراتژی ضد پیری مورد استفاده قرار می‌گیرد(۲۱). در مطالعات بالینی انجام شده در زمینه بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره هسته انگور GSE بر افراد با مصرف

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:34 +0330 on Monday December 10th 2018

بالای سیگار، افزایش در سطح سرمی TAC بدون تغییر در ویتامین C و E و کاهش پراکسیداسیون لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) مشاهده شد(۲۲). سایر مطالعات نشان می‌دهند که مصرف آب انگور ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم را افزایش می‌دهد(۲۳).

دانه و پوست میوه انگور منبع خوبی از ترکیبات شیمیایی گیاهی و مواد اولیه مناسب برای تولید مکمل‌های غذایی آنتی اکسیدانی است(۲۴). انگور نیز بسیار غنی از ترکیبات پلی فنولی با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالا می‌باشد و اثرات سودمندی بر سلامتی دارد(۲۵). برجسته‌ترین فعالیت پلی فنول‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در برابر استرس اکسیداتیو می‌باشد(۲۶). هسته انگور سرشار از فلاونوئید (۹۵ درصد) است(۲۲). فلاونوئیدها ممکن است توانایی محافظت در برابر رادیکال‌های آزاد را در هر دو محیط آبی و چرب داشته باشند، بنابراین فلاونوئیدها دفاع آنتی‌اکسیدانی مؤثری در سیستم‌های بیولوژیکی ارائه می‌دهند(۲۷). GSE با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی درون زا اثرات آنتی‌اکسیدانی مؤثری نه تنها در شرایط آزمایشگاهی، بلکه در داخل بدن دارد(۲۲). در هر گرم پوست انگور تازه، ۵۰ تا ۱۰۰ میکروگرم، رسوراترول وجود دارد(۲۸) که پراکسیداسیون لیپیدی را مهار می‌کند(۲۹).

تاکنون مطالعاتی در رابطه با تأثیرمحصولات انگور روی شاخص‌های استرس اکسیداتیو انجام شده است، اما در این زمینه مطالعه‌ای مبنی بر بررسی تأثیر مستقیم میوه انگور سفید صورت نگرفته است. بنابراین در مطالعه حاضر، ما تأثیر مصرف انگور سفید (به صورت کامل، همراه با پوست و دانه) را روی شاخص‌های ارزیابی استرس اکسیداتیو بررسی کردیم.

مواد و روش ها

مطالعه مداخله‌ای از نوع نمونه‌گیری آسان است که به‌صورت تصادفی ساده در روستای جوراب ازتوابع شهرستان ملایر واقع در استان همدان، در سال ۱۳۹۴ انجام شد.

به علت اهمیت شرایط فیزیولوژیکی، شیوه زندگی و بسیاری از مسائل تأثیرگذار بر فاکتورهای مورد بررسی، هم‌چنین تقسیم‌بندی افراد از نظر سن و BMI، انتخاب جامعه آماری به گونه‌ای که تعداد هر دو گروه یکسان و داده‌های آماری قابل اعتماد باشد، جامعه آماری پژوهش مورد نظر را ۴۳ نفر از افراد واجد شرایط (دارای اضافه وزن، سالم و میزان فعالیت یکسان) تشکیل دادند. افراد دارای محدوده سنی ۴۸-۲۵ سال (متوسط ۳۸/۰۷ سال) و نمایه توده بدنی (BMI) kg/m2 ۴۲-۲۶ (متوسط ۳۱/۸۴) بودند. زنان باردار و شیرده و زنانی که در ۴ ماهه اخیر هر گونه مکمل ویتامین و یا مواد معدنی مصرف کرده بودند و هم‌چنین زنانی که سابقه استعمال دخانیات و یا ابتلا به بیماری‌های مزمن داشتند، از مطالعه حذف شدند. پس از انتخاب نمونه‌ها، از هر یک از افراد مصاحبه‌ای حضوری با استفاده از پرسشنامه به عمل آمد و مشخصات فیزیولوژیکی و اطلاعات مربوط به سابقه بیماری، باروری و شیوه زندگی افراد گردآوری شد. با توجه به نتایج مصاحبه و پاسخ‌های مندرج در پرسشنامه، افرادی مورد مطالعه قرار گرفتند که هیچ گونه بیماری التهابی و عفونی نداشتند و داروهای ضد التهابی تأثیرگذار بر متغیرهای مورد بررسی (به عنوان مثال: ناپروکسن، ایبوپروفن، کتوپروفن، فنوپروفن، آسپرین، مفنامیک اسید، متیل سالیسیلات، دیکلوفناک، تولمتین، سلکوکسیب، فنیل بوتازون، اکساپروزین، فلورسیروفن، ایندومتاسین، پیروکسیکام، ملوکسیکام، انواع خواب‌آورها، آرام بخش‌ها، روان پریشی، ضدافسردگی، انواع مسکن‌ها و آنتی بیوتیک‌ها) را مصرف نمی‌کردند. هم‌چنین، برنامه ورزشی سنگین و رژیم غذایی خاصی نداشتند. وزن (در انتهای هر هفته مطابق با طراحی مطالعه که در ادامه با آن پرداخته می‌شود) و قد افراد، با استفاده از ترازوی حاوی قد سنج BS100، با حداقل پوشش و بدون کفش، به ترتیب با دقت ۱۰۰ gr و ۱ cm اندازه‌گیری شد و شاخص توده بدن (BMI) از تقسیم وزن (برحسب کیلوگرم) بر مجذور قد (بر حسب متر) محاسبه گردید.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:34 +0330 on Monday December 10th 2018

فشار خون افراد در هر مرحله نمونه‌گیری، قبل از گرفتن نمونه خون با استفاده از فشار سنج عقربه‌ای ALPK2 سنجیده شد. افراد مورد مطالعه با توجه به میزان BMI به ۳ گروه: دارای اضافه وزن (BMI_1=۲۶-۳۰kg/m 2)، چاق (BMI_2=۳۱-۳۵ kg/m2) و چاقی شدید (BMI_3 = ۳۶-۴۲ kg/m2) تقسیم شدند و در هر گروه BMI افراد در رده سنی یکسان مورد مطالعه قرار گرفت. از همه افراد شرکت‌کننده در مطالعه، رضایت‌نامه کتبی گرفته شد.

برای به حداقل رساندن میزان اختلال در نتایج آزمایش، به علت مصرف غذاها و نوشیدنی هایی که حاوی مقدار زیادی فلاونوئید هستند، همه افراد در طول مطالعه یک رژیم غذایی با محتوی کم فلاونوئید دریافت کردند. دستورالعمل رژیم غذایی توسط متخصص تغذیه در اختیار افراد قرار گرفت. هم چنین، به منظور استاندارد نمودن محتوی فلاونوئید رژیم غذایی، افراد دستورالعملی مبنی بر عدم مصرف انواع مواد غذایی و نوشیدنی‌هایی شامل الکل، محصولات انگور، چای، آب میوه، مرکبات، انواع توت ها، سیب، پیاز و کلم بروکلی دریافت کردند. این غذاهای خاص، از نظر میزان فلاونوئیدها در دو گروه متوسط (۰/۰۴-۰/۰۹۹ mg/g) و زیاد (۰/۱ mg/g) قرار دارند و معمولاً در مقادیری که مصرف می‌شوند، ممکن است باعث ایجاد نوساناتی در غلظت فلاونوئید پلاسما شوند. افراد در طول مطالعه یک رژیم غذایی مناسب و متوسط را حفظ کردند و برای ادامه دادن به رژیم غذایی عادی خود، به جز محدودیت‌هایی که ذکر شد، نیز آموزش دیدند. برای نظارت بر انطباق با محدودیت‌های غذایی، یک پرسش نامه رژیم غذایی شامل غذاهایی که معمولاً خورده شده‌اند با محتوای موارد بالا، طراحی شد. محتوی فلاونوئید رژیم غذایی هر فرد با توجه به پرسش‌نامه‌های پر شده توسط افراد، با استفاده از مقادیر محتوی فنولی کل غذاها و نوشیدنی‌های به دست آمده از منابع، محاسبه و مقایسه شد.

برای استاندارد نمودن رژیم غذایی، افراد دو هفته قبل از شروع مطالعه، استفاده از رژیم غذایی با میزان کم فلاونوئید را آغاز کردند. در طول انجام تحقیق، علاوه بر کنترل رژیم غذایی، عوامل مختلف تأثیرگذار مانند، انواع داروها، فعالیت فیزیکی و غیره بر متغیرهای مورد بررسی تحت کنترل قرار گرفتند. بعد از گذشت دو هفته و استفاده از رژیم غذایی با محتوی کم فلاونوئید، افراد به مدت یک هفته از میوه انگور (به صورت کامل، همراه با پوست، دانه و بدون آبگیری)، در هر سه وعده غذایی خود استفاده کردند، و در کل روزانه معادل cc ۵۰۰ آب انگور مصرف نمودند. بعد از گذشت یک هفته، نمونه خون افراد گرفته شد. سپس در هفته دوم، از افراد خواسته شد به هیچ وجه از میوه انگور استفاده نکنند و بعد از گذشت یک هفته عدم مصرف انگور، نمونه خون آن ها نیز مطابق با مرحله قبل گرفته شد. در طول این دو هفته نیز، افراد از رژیم غذایی با محتوای کم فلاونوئید استفاده کردند.

بعد از هر دوره مداخله یک هفته‌ای، ml ۵ خون از ورید دست، در حالتی که افراد به مدت ۱۰ دقیقه به پشت دراز کشیدند و استراحت کردند، گرفته و در لوله‌های شیشه‌ای بدون ماده ضد انعقاد ریخته شد. افراد به مدت ۳۶ ساعت قبل از نمونه‌گیری، هیچ‌گونه فعالیت سنگین فیزیکی انجام ندادند(۳۰). در هر مرحله نمونه‌گیری، نمونه‌های خون در بازه زمانی کم‌تر از ۴۰ دقیقه با استفاده از کیف حمل نمونه به آزمایشگاه بیولوژی دانشگاه ملایر منتقل شدند. لوله‌های آزمایش به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگه داشته شدند تا لخته خون تشکیل شود. بعد از گذشت ۵ دقیقه، نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰g سانتریفیوژ شدند و بدین ترتیب سرم، از گویچه‌های سرخ خون به منظور اندازه‌گیری غلظت MDA و TAC جدا شد. نمونه‌های سرم، تا زمان انجام آزمایش، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و دور از نور نگهداری شدند.

MDA موجود در پلاسما، توسط روش HPLC

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:34 +0330 on Monday December 10th 2018

جداسازی شد. آماده‌سازی استانداردهای MDA: ۱۰ µl از ماده تترا اتوکسی پروپان 1,1,3,3-tetraethoxypropan (TEP) به دقت با ۱۰ ml از ۰/۱M اسید کلریدریک (HCl) در یک لوله آزمایش درپوش دار رقیق شد و به مدت ۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد و سپس به سرعت با آب سرد شد (محلول X). محلول ذخیره MDA توسط پیپتینگ ۱۰ ml استال هیدرولیز شده (محلول X) در یک بالن مدرج ۱۰۰ ml آماده شد و با آب رقیق شد. محلول ذخیره 4.05×10^{-5} M acetal یا MDA ۲/۹۲ µg ml^{-1} بود. محلول ذخیره رقیق شد و برای منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار گرفت.

آماده‌سازی نمونه و روش سنجش: برای آماده سازی نمونه‌ها، به ۵۰ µl از سرم انسان، ۲۵۰ µl اسید پرکلریک ۰/۱ مولار (0.1 M HCLO4) و ۷۰۰ µl آب مقطر اضافه شد. اضافه کردن اسید برای رسوب کردن پروتئین و آزادسازی MDA متصل شده به گروه‌های آمینو پروتئین‌ها و دیگر ترکیبات آمینه ضروری است. سپس نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در ۴۵۰۰g سانتریفوژ شدند و برای تجزیه و تحلیل HPLC استفاده شدند. فاز متحرک شامل KH_2PO^{4-}methanol بود و میزان جریان فاز متحرک ۵ ml : ۱ در دقیقه بود. حجم تزریق نمونه‌های سرم ۲۰µl بود و کروماتوگرام در ۲۵۴ nm رسم شد و مدت زمان لازم جهت رسم منحنی استاندارد MDA ۱/۶۰-۱/۵۵ دقیقه بود(۳۱).

میزان TAC موجود در سرم با استفاده از کیت سنجش TAC ساخت شرکت الدی‌ان آلمان (LDN Germany Company) با حساسیت ۰/۰۸ mmol/L به روش الایزا اندازه‌گیری شد.

پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو- ویلک (Shapiro-Wilk)، جهت بررسی ارتباط بین BMI و سن با شاخص‌های مورد نظر (MDA، TAC) از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شد. برای بررسی تأثیر انگور بر MDA و TAC در مراحل دوگانه هفته مصرف و هفته عدم مصرف انگور، از آزمون t-test جفت شده استفاده شد. تمامی عملیات و محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS22 در سطح معنی‌داری $p\leq$ ۰/۰۵ انجام گرفت.

یافته ها

افراد شرکت‌کننده در پژوهش حاضر، دارای شیوه زندگی و سطح فعالیت کاملاً مشابه بودند. هیچ‌کدام از افراد سابقه بیماری به ویژه بیماری‌های عفونی و التهابی نداشتند و هم‌چنین دارای تعداد بارداری‌های تقریباً برابر و بدون هیچ نوع مشکل در بارداری بودند. افراد شرکت کننده، بدون هیچ گونه عارضه و یا مشکلی توانستند با موفقیت در این پژوهش شرکت‌کنند. وزن افراد در طول مطالعه ثابت بود و هیچ‌گونه تغییری در وزن بدن مشاهده نشد (افراد دارای BMI با میانگین ۴/۱۶۰kg/m^2 ±۳۱/۷۱۹، وزن ۹/۵۴۴ kg ±۷۸/۱۶۳، قد ۵/۵۲۶ cm ±۱۵۷/۵۳۵، سن ۶/۵۲۰ ±۳۸/۰۹۳ سال، فشارخون سیستولیک ۱/۴۳۲ mmhg ±۱۰/۴۰۷ و فشار خون دیاستولیک ۱/۰۹۶ mmhg ±۷/۵۸۱ بودند).

بررسی ارتباط بین BMI با MDA و TAC نشان داد که ارتباط معنی‌داری ($p\leq$ ۰/۰۵) بین میزان BMI و MDA وجود دارد و با افزایش BMI، سطح MDA به میزان معنی‌داری افزایش می‌یابد. هم‌چنین مشاهده شد که بین BMI و TAC ارتباط منفی وجود دارد (نمودار شماره ۱).

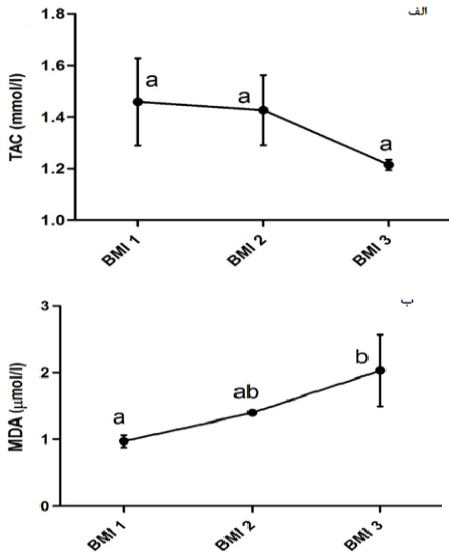
بررسی ارتباط بین سن با MDA و TAC نشان داد که ارتباط معنی‌داری ($p<$ ۰/۰۵) بین سن با MDA و TAC وجود دارد و با افزایش سن، سطح MDA و TAC به ترتیب افزایش و کاهش می‌یابد می‌یابد (نمودار شماره ۲).

با توجه به موثر بودن میزان BMI و سن بر متغیرها، ارزیابی تأثیر انگور بر سطح متغیرهای مورد بررسی در افراد با BMI مشخص صورت گرفت و برای هر گروه BMI، افراد با میانگین سنی یکسان انتخاب شدند. مشاهده شد که با مصرف انگور، سطح MDA کاهش می‌یابد. اما میزان کاهش MDA در سه گروه BMI

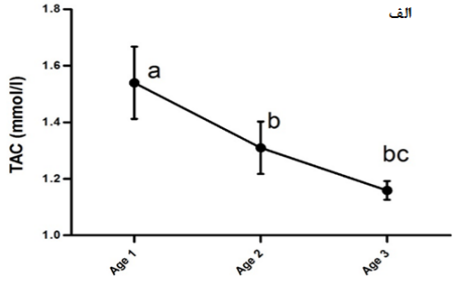
Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:34 +0330 on Monday December 10th 2018

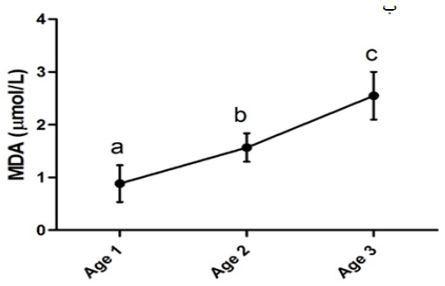
یکسان نبود: در گروه BMI_1، سطح سرمی MDA، به میزان ۰/۳۸۶۲ درصد کاهش یافت و مصرف انگور در این گروه، تأثیر قابل توجهی بر MDA نداشت. در گروه BMI_2 با مصرف انگور، سطح MDA به میزان ۰/۸۵۷۳ درصد و در گروه BMI_3، به میزان ۱/۳۳۰ درصد کاهش یافت. در نتیجه در گروه‌های BMI_2 و BMI_3 با مصرف انگور، کاهش معنی‌داری در سطح MDA به ترتیب در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ و $p<۰/۰۰۱$ مشاهده شد (نمودار شماره ۳- الف).

با توجه به این که وزن افراد در طول مطالعه ثابت بود و هیچ‌گونه تغییری در وزن بدن مشاهده نشد، بعد از مصرف انگور، سطح MDA کاهش یافت. مصرف انگور تأثیر معنی‌داری بر سطح TAC ($p>۰/۰۵$) نداشت. بعد از مصرف انگور، میزان TAC در گروه‌های BMI_1، BMI_2 و BMI_3 به ترتیب ۰/۰۹۷، ۰/۱۶۱ و ۰/۰۵۷ درصد، در هفته دوم افزایش یافت (نمودار شماره ۳- ب).

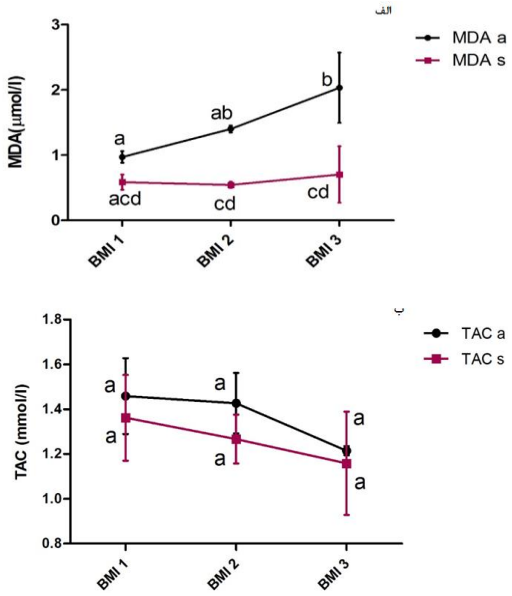


نمودار شماره ۱: الف) تاثیر BMI بر میزان TAC ب) تاثیر BMI بر میزان MDA





نمودار شماره ۲: الف) تاثیر سن بر میزان TAC ب) تاثیر سن بر میزان MDA



نمودار شماره ۳: الف) تأثیر انگور برسطح MDA درگروه‌های مختلف BMI، ب) تأثیر انگور بر سطح TAC در گروه های مختلفBMI

بحث

در پژوهش حاضر اثر انگور سفید فخری بر بیومارکرهای استرس اکسیداتیو (TAC,MDA)، به منظور نشان دادن ویژگی آنتی‌اکسیدانی ترکیبات پلی‌فنولیک در انگور سفید، مورد مطالعه قرار گرفت. مطابق با مطالعات پیشین، میزان پراکسیداسیون لیپید و در نتیجه MDA با مصرف محصولات انگور تحت تأثیر قرار می‌گیرند. به عنوان مثال طی بررسی‌هایی، مشخص شد که آب انگور بنفش قادر به کاهش سطح پراکسیداسیون لیپید در کبد و پلاسما است(۳۲). هم‌چنین مصرف پلی‌فنول دانه انگور (GSP)، میزان مواد واکنشی تیوباربیتوریک

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:34 +0330 on Monday December 10th 2018

اسید (TBARs) را که به منظور تعیین میزان پراکسیداسیون لیپید مورد استفاده قرار می‌گیرد، کاهش می‌دهد(۳۴،۳۳). مصرف مکمل انگور به صورت خشک و فریز شده در موش‌ها، می‌تواند غلظت MDA در قلب را کاهش دهد. هم‌چنین تأثیر GSPE بر آسیب‌های کلیوی ایسکمی-پرفیوژن مجدد کلیوی، مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که GSPE فعالیت سوپراکسید دیسموتاز کلیه و سطح گلوتاتیون پر اکسیداز را افزایش و سطح مالون دی‌آلدهید را کاهش می‌دهد، در نتیجه GSPE می‌تواند آسیب‌های کلیوی را کاهش دهد(۳۵).

در مطالعه حاضر نیز بعد از یک هفته مصرف انگور سفید، کاهش قابل توجهی در سطح MDA مشاهده شد. نتایج مطالعه حاضر مطابق با نتایج مطالعات صورت گرفته توسط Valtueña و همکاران می‌باشد. در مطالعات آن ها با توجه به دوره کوتاه طول درمان، در نتیجه مصرف رژیم غذایی با محتوای کم آنتی‌اکسیدان (که شامل انگور سفید نیز بود)، تغییری در مارکرهای استرس اکسیداتیو به جز مالون دی‌آلدهید (MDA) مشاهده نشد و سطح مالون دی‌آلدهید به‌طور غیر منتظره‌ای کاهش یافت(۳۶) که هم‌چنین مطابق با مطالعات قبلی در رابطه با اثرات آنتی‌اکسیدانی GSE در مدل‌های آزمایشگاهی(۲۲) و بالینی(۳۷) و تأثیر GSPE (۳۸) و GSP(۳۹) در نمونه‌های آزمایشگاهی است.

بر خلاف انتظار، سطح TAC پلاسما در هفته دوم نسبت به هفته اوّل افزایش یافت. بنابراین انگور می‌تواند سطح TAC سرم را تحت تأثیر قرار دهد. اما عدم فاصله در بین دو هفته متوالی(۴۰) باعث شد که ما شاهد افزایش سطح TAC در هفته دوم باشیم. هم‌چنین با توجه به این که انگور سفید جزء میوه‌هایی است که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن کم می‌باشد(۳۶) و TAC نیز شامل مجموع کل آنتی‌اکسیدان‌های سرم است، بنابراین جهت مشاهده تغییر قابل توجه در سطح TAC، طول درمان باید طولانی‌تر از یک هفته باشد. به عنوان مثال در مطالعات پیشین مشاهده شد که با مصرف ۸ هفته GSE در موش، TAC پلاسما افزایش یافت(۲۲). نتیجه مطالعه حاضر مطابق با مطالعه انجام شده توسط Young و همکاران (۲۰۰۰) می‌باشد. آن‌ها مشاهده کردند که با مصرف ۷ روز GSE، فعالیت همه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد و به این نتیجه رسیدند که مدت زمان یک هفته جهت تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های گلبول‌های قرمز خون کافی نیست(۴۰). در مطالعات پیشین نیز مشاهده شد که با مصرف ۲ هفته رژیم غذایی با محتوای TAC کم که شامل انگور سفید نیز بود، سطح TAC پلاسما عملاً تغییر نکرد(۳۶).

در پژوهش حاضر دریافتیم که بین MDA و BMI ارتباط معنی‌داری وجود دارد. این یافته مشابه با نتایج مطالعات پیشین در رابطه با بررسی وضعیت پراکسیداسیون لیپید و BMI در افراد مبتلا به بیماری عروق کرونر(۴۱) و هم‌چنین ارزیابی چاقی به عنوان یک عامل خطر برای پراکسیداسیون لیپید پلاسما است که مشاهده شد غلظت MDA در افراد با BMI نرمال نسبت به افراد با BMI بیش‌تر از ۴۰ kg/m2، کم‌تر است.

هم‌چنین دریافتیم که با افزایش سن، سطح MDA و TAC به ترتیب افزایش و کاهش می‌یابد. این یافته نیز مطابق با مطالعه پیشین در زمینه ارزیابی سطح MDA و قدرت آنتی‌اکسیدان در افراد سالمند و جوان است(۴۲).

با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی انگور می‌توان از انگور و فرآورده‌های آن در صنعت غذا و دارو به ویژه در ارتباط با بیماری‌هایی که در آن‌ها سطح استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد، استفاده کرد. خصوصاً با توجه به این که سطح MDA در روغن‌های حرارت دیده افزایش می‌یابد، می‌توان از انگور و محصولات آن در روغن‌های خوراکی استفاده کرد. در زمینه بررسی تأثیر انگور به ویژه انگور سفید با سطح آنتی‌اکسیدانی کم در ارزیابی فاکتورهای مولکولی که اندازه‌گیری مجموع آن‌ها مورد توجه است، مانند TAC باید دوره درمان طولانی باشد و فاصله‌ای در دو بازه زمانی مصرف و عدم مصرف انگور اعمال شود.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:34 +0330 on Monday December 10th 2018

سپاسگزاری

تحقیق حاضر با حمایت پژوهشکده کشمش و انگور دانشگاه ملایر انجام شده است. نویسندگان از آن پژوهشکده و مسؤولان محترم دانشگاه ملایر قدردانی می‌نمایند. هم‌چنین از زحمات جناب‌آقای مهندس مصطفی میرشاولد و سرکار خانم سمیرا خرسندی تشکر می گردد.

References

1. Erbas M, Sekerci H. Importance of free radicals and occurring during food processing. Journal GIDA-Journal of Food 2011; 36(6): 349-356.
2. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. Lab Invest 1982; 42(5): 412-426.
3. Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. Int J Obes 2006; 30(3): 400-418.
4. Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. FASEB J 1987; 1(6): 441-445.
5. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. Nutr Rev 2012; 70(5): 257-265.
6. Ayala A, Muñoz M, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2014; 2014(6): 360438.
7. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. Free Radic Biol Med 1990; 9(6): 515-540.
8. Yin H, Xu L, Porter NA. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. Chem Rev 2011; 111(10): 5944-5972.
9. Buddi R, Lin B, Atilano SR, Zorapapel NC, Kenney MC, Brown DJ. Evidence of oxidative stress in human corneal diseases. J Histochem Cytochem 2002; 50(3) : 341-351.
10. Tiku ML, Narla H, Jain M, Yalamanchili P. Glucosamine prevents in vitro collagen degradation in chondrocytes by inhibiting advanced lipoxidation reactions and protein oxidation. Arthritis Res Ther 2007; 9(4): R76.
11. Dexter DT, Carter CJWells FR, Javoy-Agid F, Agid Y, Lees A . Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in Parkinson's disease. J Neurochem 1989; 52(2): 381-399.
12. Romero FJ, Bosch-Morell F, Romero MJ, Jareno EJ, Romero B, Marin B. Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease. Environ Heallth Prespect 1988; 106(Suppl 5): 1229-1234.
13. Cui XP, Li BY, Gao HQ, Wei N, Wang WL, Lu M. Effects of grape seed proanthocyanidin extracts on peripheral nerves in streptozocin-induced diabetic rats. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) 2008; 54(4): 321-328.
14. Anselm E. Grape juice causes endothelium-dependent relaxation via a redox-sensitive Src-and Akt-dependent activation of eNOS. Cardiovasc Res 2007; 73(2): 404-413.
15. Li WG, Zhang XY, Wu YJ, Tian X. Anti-inflammatory effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds. Acta Pharmacol Sin 2001; 22(12): 1117-1120.
16. Bloom RZ. Antioxidant and anti-proliferative properties of selected grape seed extracts . Maryland: University of Maryland (Master of Science); 2009.
17. Bloom RZ. Antioxidant and anti-proliferative properties of selected grape seed extracts.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:34 +0330 on Monday December 10th 2018

Maryland: University of Maryland (Master of Science); 2009.

18. Vertuani S, Angusti A, Manfredini S. The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. Curr Pharm Des 2004; 10(14): 1677-1694.
19. Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? Redox Rep 2004; 9(3): 145-152.
20. Mancino R, Di Pierro D, Varesi C, Cerulli A, Feraco A, Cedrone C. Lipid peroxidation and total antioxidant capacity in vitreous, aqueous humor, and blood samples from patients with diabetic retinopathy. Mol Vis 2011; 17: 1298-1304.
21. Kusano C, Ferrari B. Total antioxidant capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. J Cell Mol Biol 2008; 7(1): 1-15.
22. Pérez Y, Molina V, Más R, Gonzalez R, Jiménez S. A comparison of in vivo effects of D-003, a mixture of high molecular weight sugarcane wax acids, and grape seed extract on lipid peroxidation markers in rats. Latin American Of Pharmacy 2008; 27(4): 498-504.
23. Day AP, Kemp HJ, Bolton C, Hartong M, Stansbie D. Effect of concentrated red grape juice consumption on serum antioxidant capacity and low-density lipoprotein oxidation. Ann Nutr Metab 1997; 41(6): 353-357.
24. Yilmaz Y, Toledo RT. Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. J Agric Food Chem 2004; 52(2): 255-260.
25. Alía M, Horcajo C, Bravo L, Goya L. Effect of grape antioxidant dietary fiber on the total antioxidant capacity and the activity of liver antioxidant enzymes in rats. Nutr Res 2003; 23(issue 9): 1251-1267.
26. Celep G, Rastmanesh R. Polyphenol Consumption and Metabolic Diseases. J Nutr Disord Ther 2013; e106.
27. O'Byrne DJ, Devaraj S, Grundy SM, Jialal I. Comparison of the antioxidant effects of Concord grape juice flavonoids α-tocopherol on markers of oxidative stress in healthy adults. Am J Clin Nutr 2002; 76(6): 1367-1374.
28. Li X, Wu B, Wang L, Li S. Extractable amounts of trans-resveratrol in seed and berry skin in Vitis evaluated at the germplasm level. J Agric food Chem 2006; 54(23): 8804-8811.
29. Tadolini B, Juliano C, Piu L, Franconi F, Cabrini L. Resveratrol inhibition of lipid peroxidation. Free Radic Res 33(1): 105-114.
30. Young JF, Dragsted LO, Daneshvar B, Lauridsen ST, Hansen M, Sandström B. The effect of grape-skin extract on oxidative status. 2000; Br J Nutr 84(4): 505-513.
31. Karatas F, Karatepe M, Baysar A. Determination of free malondialdehyde in human serum by high-performance liquid chromatography. Anal Biochem 2002; 311(1): 76-79.
32. Dani C, Oliboni LS, Pasquali MA, Oliveira MR, Umezu FM, Salvador M. Intake of purple grape juice as a hepatoprotective agent in Wistar rats. J Med Food 2008; 11(1): 127-132.
33. Nakamura Y, Tonogai Y. Effects of Grape Seed Polyphenols on Serum and Hepatic Lipid Contents and Fecal Steroid Excretion in Normal and Hypercholesterolemic Rats. J Health Sci 2002 ; 48(6): 570-578.
34. Fuhrman B, Lavy A, Aviram M. Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. Am J Clin Nutr 1995; 61(3): 549-554.
35. Wei R, Ding R, Wang Y, Tang L. Grape seed proanthocyanidin extract reduces renal

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:34 +0330 on Monday December 10th 2018

ischemia/reperfusion injuries in rats. Am J Med Sci 2012; 343(6): 452-457.

36. Valtueña S, Pellegrini N, Franzini L, Bianchi MA, Ardigò D, Del Rio D. Food selection based on total antioxidant capacity can modify antioxidant intake, systemic inflammation, and liver function without altering markers of oxidative stress. Am J Clin Nutr 2008; 87(5): 1290-1297.
37. Vigna G, Costantini F, Aldini G, Carini M, Catapano A, Schena F. Effect of a standardized grape seed extract on low-density lipoprotein susceptibility to oxidation in heavy smokers. Metabolism 2003; 52(10): 1250-1257.
38. Yousef MI, Saad AA, El-Shennawy LK. Protective effect of grape seed proanthocyanidin extract against oxidative stress induced by cisplatin in rats. Food Chem Toxicol 2009; 47(6): 1176-1183.
39. Mansouri E, Khorsandi L, Abedi H. Antioxidant effects of proanthocyanidin from grape seed on hepatic tissue injury in diabetic rats. Iran J Basic Med Sci 2014; 17(6): 460-464.
40. Young JF, Dragsted LO, Daneshvar B, Lauridsen ST, Hansen M, Sandström B. The effect of grape-skin extract on oxidative status. Br J Nutr 2000; 84(4): 505-513.
41. Mahapatra S, Padhiary K, Mishra TK, Nayak N, Satpathy M. Study on body mass index, lipid profile and lipid peroxidation status in coronary artery disease. J Indian Med Assoc 1998; 96(2): 39-40.
42. Olusi SO. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotectic enzymes in humans. Int J Obes Relat Metab Disord 2002; 26(9): 1159-1164.