

اثر ضد اکسایشی عصاره پوسته دارچین به دنبال یک جلسه ورزش درمانده ساز در موش های صحرایی نر

غلامرضا دهقان^{۱*}، سهیلا ابراهیمی وسطی کلایی^۲، مهنوش شقاقی^۳ (MSc)، افشار جعفری^۴ (PhD)، مصطفی محمدی^۵ (PhD)،

رضا بدل زاده^۵ (MSc)، سعید فلاح^۱ (BSc)

۱- گروه زیست شناسی دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز

۲- گروه علوم جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور بابل

۳- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور تهران

۴- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه تبریز

۵- مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۹/۸/۲ اصلاح: ۸۹/۹/۱۷ پذیرش: ۸۹/۱۱/۲۰

خلاصه

سابقه و هدف: اثرات مفید ورزش های منظم در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماریهای مزمن شناخته شده است. با توجه به اینکه این اثرات مفید با خستگی و درماندگی از بین می رود، این مطالعه به منظور بررسی تاثیر ضد اکسایشی عصاره متانولی دارچین در حالت های استرس اکسایشی تولید شده در جریان یک وهله فعالیت هوازی درمانده- ساز در موشهای صحرایی نر انجام شد.

مواد و روشها: این مطالعه تجربی بر روی ۱۸ سر موش صحرایی نر در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۰۰ گرم که به صورت تصادفی در سه گروه شش تایی، گروه ورزش درمانده ساز (اجرای یک جلسه ورزش درمانده ساز)، گروه کنترل (بدون دریافت مکمل و بدون اجرای ورزش درمانده ساز)، گروه مکمل (دریافت عصاره متانولی پوسته دارچین در هر روز به مدت ۱۰ هفته با غلظت ۲۰۰ mg/kg + یک جلسه ورزش درمانده ساز) قرار گرفتند، انجام شد. در پایان دوره تیمار بلافاصله بعد از خستگی مفرط حیوانات در جریان یک جلسه دویدن بر روی نوارگردان، خونگیری از حیوانات انجام شد و پس از تهیه نمونه های خونی، فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) موجود در گلبول قرمز با کیت های آزمایشگاهی طبق روش Paglia و غلظت سرمی مالون دی آلدئید (MDA) به روش TBARS، ظرفیت آنتی اکسیدان تام (TAC) به روش FRAP و تیول تام سرم به روش رنگ سنجی Hu اندازه گیری و مورد مقایسه قرار گرفت.

یافته ها: ورزش درمانده ساز منجر به افزایش معنی دار در فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز ($91/95 \pm 18/58$) نسبت به حالت پایه ($62/01 \pm 12/7$) شد ($p < 0/05$). کاهش غلظت سرمی مالون دی آلدئید در گروه های مکمل ($1/20 \pm 0/24$) و کنترل ($1/25 \pm 0/17$) نسبت به گروه ورزش درمانده ساز ($2/09 \pm 0/26$) معنی دار بود ($p < 0/01$). غلظت سرمی گروه های تیول در گروه ورزش درمانده ساز ($0/54 \pm 0/02$) نسبت به گروه کنترل ($0/14 \pm 0/03$) و مکمل ($0/18 \pm 0/04$) ($p < 0/01$) به طور معنی داری افزایش یافت. ظرفیت آنتی اکسیدان تام در گروه مکمل ($0/55 \pm 0/08$) نسبت به گروه ورزش درمانده ساز ($0/31 \pm 0/05$) به طور معنی داری زیاده تر بود ($p < 0/01$).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که مکمل سازی عصاره دارچین قبل از یک جلسه ورزش درمانده ساز می تواند موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش ظرفیت ضد اکسایشی در موش های صحرایی می شود.

واژه های کلیدی: پوسته دارچین، مکمل آنتی اکسیدانی، گلوکاتایون پراکسیداز، ورزش درمانده ساز، مالون دی آلدئید.

مقدمه

مدت زمان طولانی است که شناخته شده است (۱، ۲). با این وجود، تحقیقات نشان می دهد که این اثرات مفید ورزش با خستگی و درماندگی از بین می رود و

اثرات مفید ورزش های منظم در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماریهای مزمن از قبیل سرطان، فشار خون بالا، بیماریهای قلبی، دیابت، افسردگی و چاقی،

این مقاله حاصل پایان نامه مهنوش شقاقی دانشجوی رشته کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری دانشگاه پیام نور مرکز تهران می باشد.
* مسئول مقاله:

پوسته دارچین بر وضعیت آنتی اکسیدانی تام سرمی (TAC)، شاخص های استرس اکسایشی از قبیل غلظت سرمی MDA و تیول تام سرمی و فعالیت آنزیم GPX گلبولهای قرمز در موش های صحرایی نر به دنبال یک جلسه ورزش درمانده ساز انجام شد.

مواد و روشها

این مطالعه تجربی بر روی ۱۸ سر موش صحرایی نر دو ماهه نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰-۳۰۰ گرم انجام شد. موش ها از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه و بصورت تصادفی در سه گروه شش تایی گروه ورزش درمانده ساز (بدون دریافت مکمل و با اجرای یک جلسه ورزش درمانده ساز در آخر دوره)، گروه مکمل (مکمل سازی با عصاره متانولی پوسته دارچین و اجرای یک جلسه ورزش درمانده ساز در آخر دوره)، گروه کنترل (بدون اجرای ورزش درمانده ساز و بدون دریافت عصاره) تقسیم شدند. دمای اتاق نگهداری حیوانات بین ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی گراد و چرخه روشنایی- تاریکی به صورت معکوس ۱۲:۱۲ ساعت کنترل شد. در طول برنامه آزمودنیها از غذای استاندارد (Pellet) و آب استفاده کردند. در مطالعه حاضر، فعالیت هوازی با شدت ۲۲ متر در دقیقه با مدت زمان نامحدود به عنوان ورزش درمانده ساز انتخاب شد. قبل از تقسیم آزمودنیها به گروه های سه گانه برنامه آشناسازی موشها با نوارگردان (Treadmill) به مدت دو هفته با یک برنامه منظم اجرا شد (۱۹). در جریان آشناسازی، موشهایی که قادر به دویدن بر روی نوارگردان نبودند حذف شدند. دوره مکمل سازی گروه مکمل بعد از دوره آشناسازی حیوانات با نوارگردان شروع شد و به مدت ۱۰ هفته عصاره متانولی دارچین را با دوز ۲۰۰ mg/kg/day به صورت گاواژ دریافت کردند (۲۰). در آخر دوره آزمودنیها یک جلسه با شدت ۲۲ متر در دقیقه تا زمان خستگی کامل با هم به رقابت پرداختند. شیب نوارگردان در طول ورزش صفر درجه بود. در این تحقیق کلیه نکات اخلاقی کار با حیوان بر اساس اصول مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی تبریز رعایت شد.

روش تهیه نمونه های خونی: بلافاصله بعد از خستگی، حیوانات بوسیله تزریق داخل صفاقی کتامین (۶۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بیهوش شدند و بعد از جراحی، خونگیری از سیاهرگ باب حیوان و تا حداکثر مقدار ممکن (۵-۴ میلی لیتر) انجام شد. قسمتی از نمونه های خونی جهت سنجش آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز موجود در گلبولهای قرمز به لوله های هپارینه منتقل شده و در فریزر ۲۰°C- تا موقع آنالیز ذخیره شدند. جهت سنجش شاخصهای موجود در سرم از قبیل میزان تیول تام، مالون دی آلدئید و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، مقدار باقی مانده خون برای تهیه سرم، در دمای ۴ درجه سانتی گراد با دور ۳۰۰۰ g به مدت ده دقیقه سانتریفوژ شدند.

تهیه عصاره دارچین: عصاره متانولی پوسته دارچین در آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده علوم دانشگاه تبریز تهیه شد. دارچین گیاه بومی ایران نبوده و بومی هند و سری لانکا است. بنابراین پوسته خشک درخت دارچین از عطاری تهیه شد به صورت پودر درآورده و ۳۵۰ گرم از پودر تهیه شده را درون یک بشر ۱۰۰۰ میلی لیتری ریخته و روی آن ۶۰۰ میلی لیتر متانول خالص (تا حدودی که روی تمامی پودر را بپوشاند) اضافه شد. نمونه تهیه شده را چندین بار به هم زده و بعد

انجام یک جلسه ورزش درمانده ساز (Exhaustive exercise) می تواند اثرات مضر بر سلامتی افراد داشته باشد (۱). تولید گونه های فعال اکسیژنی (ROS= Reactive oxygen species) در حین انجام فعالیت بدنی شدید و نامنظم به دنبال افزایش مصرف اکسیژن در ماهیچه های فعال، در حدی است که معمولاً دستگاه های دفاع آنتی اکسیدانی درون زاد به تنهایی نمی توانند با آن مقابله نمایند. بنابراین فعالیتهای ورزشی شدید با افزایش تولید ROS و تضعیف دستگاه آنتی اکسیدانی درون زاد منجر به استرس اکسایشی می شوند (۳) که بوسیله افزایش در میزان GSSG نسبت به GSH، افزایش در اکسیداسیون پروتئینها و اسیدهای نوکلئیک، پراکسیداسیون لیپید قابل تشخیص می باشد. زمانیکه پروتئین و لیپید بوسیله ROS اکسید می شوند، تولید نیروی عضلانی کاهش می یابد و خستگی ممکن است اتفاق بیافتد. ارتباطی مستقیم بین نسبت اکسید شدن گلوکاتایون احیاء شده و اکسید شدن لاکتات به پیرووات وجود دارد (۴). مطالعات زیادی افزایش غلظت مالون دی آلدئید (MDA) را به عنوان یکی از شاخص های پراکسیداسیون لیپیدی در افراد به دنبال یک جلسه ورزش درمانده ساز گزارش کرده اند (۵و۶). کاهش در سطح گلوکاتایون احیا (GSH) در کبد و ماهیچه های اسکلتی و پلاسما در آزمودنی ها با اجرای ورزش درمانده ساز در مقایسه با گروه های کنترل گزارش شده است (۷و۸). Ti و همکارانش گزارش کرده اند که به دنبال یک جلسه فعالیت بدنی حاد غلظت MDA در موشهای صحرایی افزایش می یابد (۹). در بافت های پستانداران آسیب های اکسایشی ناشی از رادیکال های آزاد به وسیله سیستم آنتی اکسیدانی گسترده ای مهار می شود. این سیستم شامل آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) و ماکرومولکول هایی مانند آلبومین، سرولولوپلاسمین و مجموعه ای از مولکول های کوچک شامل آسکوربیک اسید، آلفا-توکوفرول، کاروتنوئید، پلی فنول ها، گلوکاتایون احیا (GSH)، اسیداوریک و بیلی روبین می باشد (۱۰).

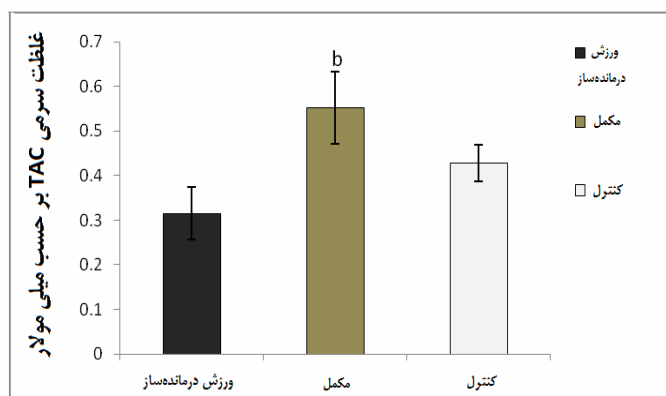
نتایج حاصل از مطالعات گذشته نشان داده اند که یکی از شیوه های مقابله با اثرات نامطلوب استرس اکسایشی ناشی از فعالیت های شدید و درمانده ساز استفاده از مکمل سازی های کوتاه و بلندمدت مواد آنتی اکسیدانی طبیعی و خوراکی است. افزایش مصرف مکمل های آنتی اکسیدانی مانند گلوکاتایون، n- استیل سیستئین و ویتامین های مختلف (A, B, C, E) ممکن است از طریق مهار رادیکال های آزاد، استرس اکسایشی ناشی از ورزش های درمانده ساز را کاهش دهند (۱۰). از آنجایی که گیاهان منابع غنی از ترکیبات آنتی اکسیدانی می باشند همواره مصرف سبزیجات و میوه ها برای کاهش آثار مخرب رادیکال های آزاد توصیه شده است (۱۱و۱۲). دارچین با نام علمی Cinnamomum zeylancium از خانواده Lauraceae به عنوان یکی از شناخته شده ترین فرآورده های گیاهی است در جوامع مختلف مورد استفاده قرار می گیرد و در جریان بررسی توان آنتی اکسیدانی دارچین در محیط آزمایشگاهی، فعالیت آنتی اکسیدانی برای عصاره برگ، عصاره پوسته، عصاره میوه و روغن فرار دارچین گزارش شده است (۱۶-۱۲). این اثرات آنتی اکسیدانی دارچین در جریان برخی مطالعات انسانی و حیوانی نیز گزارش شده است (۱۷و۱۸). با توجه به اینکه تاکنون هیچ مطالعه ای در رابطه با اثر محافظتی دارچین بر استرس اکسایشی ناشی از ورزش های حاد و درمانده ساز انجام نشده است و با توجه به اینکه از پوسته دارچین به عنوان چاشنی غذایی و یا در تهیه چای بطور گسترده استفاده می شود، این مطالعه به منظور بررسی تاثیر عصاره

FRAP +۴۰ میکرولیتر از هر کدام از نمونه های سرم بودند. واکنش انجام شده و کمپلکس TPTZ- فرو تشکیل و در نتیجه رنگ بنفشی حاصل شد، سپس شدت رنگ حاصله در طول موج ۵۹۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اتوالایزر در مقابل بلانک (معرف FRAP) خوانده شد و مقادیر FRAP پس از مقایسه با تغییرات جذب نوری نمونه استاندارد، محاسبه شد.

نتایج با استفاده از آزمون های آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و Tukey تجزیه و تحلیل و $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

غلظت سرمی MDA در گروه های مکمل (1.20 ± 0.24) و کنترل (1.25 ± 0.17) نسبت به گروه ورزش درمانده ساز (2.09 ± 0.26) به صورت معنی داری کاهش پیدا کرد ($p < 0.05$). ورزش درمانده ساز (0.54 ± 0.02) میزان تیول تام سرم را نسبت به گروه کنترل (0.14 ± 0.03) به صورت معنی داری کاهش داد ($p < 0.05$). غلظت سرمی گروه های تیول در گروه مکمل (0.18 ± 0.04) نسبت به گروه ورزش درمانده ساز (0.54 ± 0.02) به صورت معنی داری افزایش پیدا کرد ($p < 0.01$). ولی افزایش متغیر مذکور در گروه مکمل (0.18 ± 0.04) نسبت به گروه کنترل (0.14 ± 0.03) معنی دار نبود. روند تغییرات TAC سرمی در گروه مکمل (0.552 ± 0.081) نسبت به گروه کنترل (0.427 ± 0.041) و ورزش درمانده ساز (0.315 ± 0.059) افزایشی است و این روند افزایشی تنها در گروه مکمل (0.552 ± 0.081) نسبت به گروه ورزش درمانده ساز (0.315 ± 0.059) معنی دار بود ($p < 0.01$) (نمودار ۱). فعالیت آنزیم GPX موجود در گلبول قرمز در گروه ورزش درمانده ساز ($9.195 \pm 1.8/58$) نسبت به گروه کنترل ($62/0.1 \pm 12/7$) به طور معنی داری زیاده تر بود ($p < 0.05$). در گروه مکمل ($79/15 \pm 9/2$) فعالیت آنزیم GPX نسبت به حالت پایه ($62/0.1 \pm 12/7$) افزایش غیر معنی داری داشت و نیز روند کاهشی غیر معنی داری در مورد فعالیت این آنزیم در گروه مکمل ($79/15 \pm 9/2$) نسبت به گروه ورزش درمانده ساز ($9.195 \pm 1.8/58$) مشاهده شد (نمودار ۲).



شکل ۱. تغییرات وضعیت آنتی اکسیدانی تام سرم در بین موشهای با و بدون ورزش درمانده ساز (بر حسب mmol/L).

اختلاف معنی دار گروه مکمل نسبت به گروه ورزش درمانده ساز ($p < 0.05$) با علامت b نشان داده شده است.

به مدت ۲۴ ساعت به همین حالت باقی ماند. بعد از ۲۴ ساعت فاز بالایی را برداشته و روی باقی مانده دوباره متانول ریخته و به هم زده شد. این کار به مدت ۵ روز تکرار شد تا عصاره گیاه به طور کامل استخراج شود. سپس کل فازهای بالایی صاف شده و با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء دوار، حلال آن جداسازی و ۵۰ گرم عصاره غلیظ و خشک حاصل شد (۲۱). عصاره تهیه شده جهت مصرف موشهای صحرایی به صورت گاوآژ، در کربوکسی متیل سلولز (CMC) ۰.۵٪ حل شد.

سنجش غلظت MDA سرمی: غلظت MDA سرمی با استفاده از سنجش تیوباربتوریک اسید (TBA)، تعیین شد. برای یک میلی لیتر سرم چهار میلی لیتر از محلول حاوی تری کلرو استیک اسید (TCA) ۲۰٪ و TBA ۵٪ اضافه شد. محلول مورد نظر در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد و سریعاً روی یخ سرد شد. سپس در دور ۲۵۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. و جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (Simadzu، مدل UV-16، ساخت ژاپن) اندازه گیری گردید. غلظت TBARS (Thiobarbitoric acid reactive substances) در سرم با استفاده از معادله بیر-لامبرت $A = \epsilon c l$ محاسبه شد. نتایج در سرم، براساس غلظت TBARS (بر حسب میکرومولار در لیتر خون) بیان شد (۲۲).

سنجش آنزیم GPX: فعالیت آنزیم GPX در گلبولهای قرمز لیز شده با استفاده از کیت RANSEL (ساخته شرکت راندوکس انگلیس) با متد شرح داده شده بوسیله valentine و Paglia در طول موج ۳۴۰ نانومتر توسط دستگاه اتوالایزر (ساخت شرکت ابوت آمریکا) اندازه گیری شد (۲۳). فعالیت آنزیم براساس واحد در گرم هموگلوبین محاسبه شد.

سنجش تیول تام سرمی (TSH): برای تعیین میزان گروه های تیول (-SH) از روش رنگ سنجی Hu استفاده شد (۲۴)، که در آن، دی تیو نیتروبنزوئیک اسید (DTNB) با گروه های تیول کمپلکس زرد رنگی به نام ۵-تیو ۲-نیترو بنزوئیک-اسید ایجاد می کند که در طول موج ۴۱۲ نانومتر بیشینه جذب را دارد. در یک لوله آزمایش، یک میلی لیتر از بافر تریس را به ۵۰ میکرولیتر پلاسما اضافه نموده و جذب نوری آن در طول موج ۴۱۲nm در مقابل بلانک (یک میلی لیتر بافر تریس) خوانده شد (A_1). سپس به لوله ها ۲۰ میکرولیتر معرف DTNB اضافه نموده و پس از ۱۵ دقیقه که در دمای اتاق نگهداری شد، جذب نوری آن خوانده شد (A_2). لوله شاهد نیز حاوی بافر تریس و DTNB است (فاقد نمونه) که در ۴۱۲nm جذب نوری آن خوانده شد (B). در ارزیابی گروه های تیول از ضریب جذب مولی $13600 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ استفاده گردید و مقادیر بر حسب میلی مول بر لیتر ذکر شد. A_1 و A_2 و B بدست آمده را در فرمول زیر قرار داده و برای محاسبه گروه های تیول استفاده شد.

$$(A_2 - A_1 - B) \times \left(\frac{1.07}{0.05} \right) = (A_2 - A_1 - B) \times 1.57 \text{ mM}$$

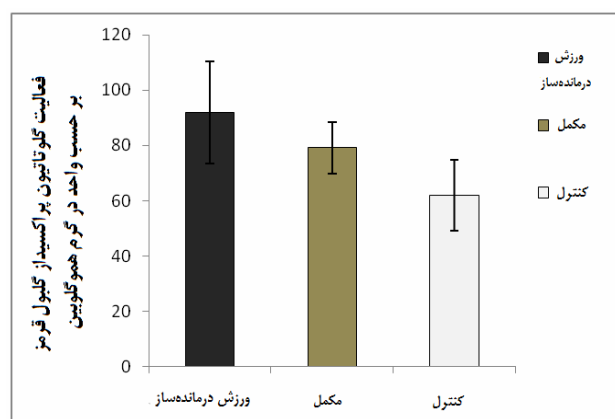
سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرمی (TAC): ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرمی (TAC) به روش FRAP (Ferric Reducin Ability of Plasma) اندازه گیری شد (۲۵). معرف FRAP با مخلوط ۲۵ میلی لیتر بافر استات و ۲/۵ میلی لیتر کلرید آهن و ۲/۵ میلی لیتر محلول TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) تهیه شد. برای هر نمونه دو سری لوله آماده شد که سری اول حاوی ۲ میلی لیتر معرف FRAP + ۲۰۰ میکرولیتر سولفات آهن به عنوان استاندارد در غلظتهای مختلف و سری دوم حاوی دو میلی لیتر معرف

ورزش‌های شدید استقامتی باعث القای استرس اکسایشی در بدن می‌شوند که ممکن است با کاهش pH، عملکرد سلول‌های خونی را تغییر دهند. اسید لاکتیک تولید شده در ماهیچه‌های اسکلتی در جریان ورزش‌های حاد باعث کاهش pH درون سلولی می‌شود (۲۶). این نوع ورزش‌ها بصورت مستقیم به وسیله مهار سیستم دفاعی آنزیمی گلوبول‌های قرمز منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در پلاسما می‌شوند (۷ و ۹). تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در جریان ورزش در بافت‌های مختلف حیوانی و انسانی نتایج بسیار ضد و نقیضی را نشان می‌دهند (۳۱). برخی از مطالعات انسانی عدم تغییر در فعالیت آنزیم GPX را در جریان ورزش گزارش کرده‌اند (۳۲).

در تحقیقی توسط Hessel و همکارانش کاهش در فعالیت آنزیم GPX بعد از دو ماراتون در افراد مشاهده شد (۳۳). در مطالعه‌ای دیگر توسط Acikgoz و همکارانش بر روی موش‌های صحرایی، یک جلسه ورزش درمانده‌ساز تغییری در میزان پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم GPX در بافت هیپوکامپ و قشر پیشین ایجاد نکرد (۳۴). فعالیت GPX در مطالعه حاضر بعد از یک جلسه ورزش درمانده‌ساز بر روی نوارگردان نسبت به حالت پایه (گروه کنترل) افزایش یافت، که این نتیجه مشابه نتایج مشاهده شده در مطالعات مذکور نمی‌باشد. افزایش فعالیت کاتالیتیکی آنزیم GPX گلوبول قرمز به دنبال یک جلسه ورزش درمانده‌ساز می‌تواند به دلیل تغییر مولکولهای آنزیمی از طریق ساز و کار کوالانسی و یا آلوستریک باشد. مشاهده نتایج متفاوت در مورد شاخصهای استرس اکسایشی و پاسخهای دفاعی در جریان ورزشهای درمانده‌ساز در مطالعات گذشته را میتوان به تفاوت در شدت و مدت زمان ورزش، نوع بافت مورد مطالعه، سن آزمودنیها، وضعیت‌های آنتی اکسیدانی آنها و زمان سنجش متغیرها نسبت داد. مکمل مورد استفاده در مطالعه حاضر، عصاره پوسته دارچین بود که با توجه به نتایج تحقیق حاضر، مکمل‌سازی دراز مدت آن در موشهای صحرایی موجب ارتقای پتانسیل تام آنتی‌اکسیدانی و کاهش شاخص‌های استرس اکسایشی ناشی از یک جلسه ورزش وامانده‌ساز شد. همانگونه که Ranjbar در یک مطالعه انسانی، اثرات مفید چای دارچین در سلامتی را، بوسیله مهار لیپید پراکسیداسیون و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرمی گزارش کرده‌است (۱۷).

مطالعه‌ای دیگر افزایش قدرت آنتی اکسیدانی را در موشهای صحرایی با رژیم غذایی غنی از کلسترول به دنبال مکمل‌سازی با دارچین گزارش کرده است (۱۸). در مطالعه Moselhy و همکارانش گزارش شده‌است که عصاره دارچین لیپید پراکسیداسیون القاشده توسط تتراکلرید کربن را کاهش داده و فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد (۲۰). در مطالعه‌ای دیگر عصاره دارچین اثرات محافظتی علیه لیپیدپراکسیداسیون القا شده در لیپوزوم در محیط آزمایشگاهی را نشان داد (۳۵). بررسیهای آزمایشگاهی میزان بالای ترکیبات فنولی و توان بالای مهارکنندگی رادیکالهای آزاد را در عصاره پوسته، برگ، میوه و روغن فرار دارچین گزارش کرده‌اند و این فعالیت مهارکنندگی رادیکالهای آزاد را به حلقه‌های فنولی واقع در اوژنول موجود در دارچین نسبت می‌دهند (۱۵-۱۱). در یک مطالعه اوژنول ۹۵٪ از رادیکالهای آزاد آغازگر را مهار کرد (۳۶).

نتایج مطالعه حاضر مشابه با نتایج برخی از مطالعاتی می‌باشد که در آن از انواع مختلف گیاهان غنی از ترکیبات فنولی به عنوان مکمل آنتی‌اکسیدانی علیه آسیبهای استرس اکسایش ناشی از ورزش استفاده کرده‌اند. به طوریکه در مطالعه Panza و همکارانش مکمل‌سازی افراد با چای سبز در جریان ورزش شدید،



شکل ۲. مقایسه تغییرات فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز بین موشهای با و بدون ورزش درمانده ساز (برحسب U/g HB)

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه با توجه به افزایش غلظت مالون دی‌آلدهید پلاسما و کاهش تیول تام در گروه ورزش درمانده‌ساز نسبت به حالت پایه نشان داد که ورزش درمانده ساز باعث افزایش استرس اکسایشی در بدن می‌شود. از نتایج تحقیق حاضر چنین برمی‌آید که کاهش GSH با آسیبهای اکسایشی ناشی از ورزش مانند پراکسیداسیون لیپیدی در خون و بافتهای دیگر در ارتباط می‌باشد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تنها ورزش‌های طاقت فرسا باعث ایجاد آسیبهای اکسایشی و اکسیداسیون گلوکاتایون می‌شود (۲۷ و ۲۶). بنابراین کاهش میزان گروههای تیول سرم خون در گروه ورزش درمانده‌ساز در مطالعه حاضر بیان کننده این مسئله است که دودین موش‌ها با سرعت ۲۲ متر در دقیقه بر روی نوارگردان با زمان طولانی به شکل ورزش درمانده ساز عمل نموده‌است. در یک مطالعه بر روی ۱۸ دوندۀ ماراتون غلظت MDA و گلوکاتایون اکسید شده پلاسما بلافاصله بعد از ماراتون افزایش پیدا کرد و فعالیت آنزیم GPX کاهش یافت (۷). در مطالعه‌ای دیگر Alessio و همکارانش افزایش پراکسیداسیون لیپیدی را در جریان ورزش‌های درمانده‌ساز گزارش کردند (۲۸). Aguilu و همکاران افزایش تبدیل GSH به GSSG را بعد از یک جلسه دوچرخه سواری طاقت فرسا در افراد گزارش کرده‌اند (۲۹). نتایج تحقیقات Koz و همکارانش نشان داد که با افزایش مدت زمان شنای موشها، غلظت TBARS نیز افزایش می‌یابد (۳۰) و همین نتیجه در مطالعه گائینی و همکارانش بر روی آزمودنیهای انسانی نیز مشاهده شد که با افزایش مدت زمان فعالیت در هفته‌های پایانی، میزان پراکسیداسیون چربی افزایش پیدا می‌کند (۵). نتایج مشاهده شده در مطالعات ذکر شده با یافته‌های این تحقیق در رابطه با افزایش شاخصهای استرس اکسایشی بعد از یک وهله ورزش درمانده‌ساز مطابقت می‌کند. تحقیقات نشان داده‌اند که ورزش‌های درمانده‌ساز با حداکثر سرعت و در مدت زمان طولانی به عنوان یک عامل ایجاد کننده استرس اکسایشی باعث شکستن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها بخصوص سلول‌های خونی در جهت سم‌زدایی ROS می‌شوند. به نظر می‌رسد گلوبولهای قرمز در مقابل استرس اکسایشی ناشی از ورزشهای شدید آسیب پذیرتر هستند، زیرا در معرض مداوم جریان اکسیژن، آهن گروه هم (Hem) و غلظتهای بالای اسیدهای چرب غیراشباع قرار دارند (۲).

رادیکالهای پراکسید هیدروژن و هیدروکسیل توسط دارچین احتمالا مانع از افزایش فعالیت GPX شده است. بنابراین بطور کلی می‌توان بر اساس یافته‌های این مطالعه ادعا کرد که مکمل‌سازی دراز مدت عصاره پوسته دارچین با افزایش توان آنتی اکسیدانی بدن استرس اکسایشی ناشی از یک جلسه ورزش درمانده‌ساز در موشهای صحرایی نر را کاهش می‌دهد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از همکاری دانشگاه تبریز و مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز که در اجرای این تحقیق همکاری صمیمانه‌ای داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

TAC و تیول تام سرمی را نسبت به گروه کنترل افزایش داد (۳۷) و در تحقیق Dunlap و همکارانش استفاده از زغال اخته به عنوان مکمل آنتی اکسیدانی در سگهای سورتمه ران، TAC را در گروه مکمل نسبت به گروه کنترل افزایش داد (۳۸). در مطالعه Morrillas-Ruiz و همکارانش استفاده از ترکیبات پلی فنولیک تا حدودی لیپید پراکسیداسیون ناشی از ورزش شدید را نسبت به گروه کنترل افزایش داد ولی تاثیری بر TAC نداشت (۳۹). افزایش ظرفیت آنتی-اکسیدانی در یافته‌های این تحقیق در راستای افزایش تیول تام سرمی می‌باشد. تغییرات در محتوای تیولی (-SH) تعیین کننده اصلی تغییرات TAC است و به عنوان شاخصی برای اکسیداسیون پروتئینی نیز در نظر گرفته می‌شود. البته عصاره دارچین به تنهایی تاثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم GPX در تحقیق حاضر نداشت. بر اساس یافته‌های آزمایشگاهی می‌توان گفت قدرت بالای مهارکنندگی

Antioxidant Effect of Cinnamon Bark Extract following an Exhaustive Exercise in Male Rats

Gh. Dehghan (PhD)^{*1}, S. Ebrahimi (PhD)², M. Shaghaghi (MSc)³, A. Jafari (PhD)⁴,
 M. Mohammadi (PhD)⁵, R. Badalzadeh (MSc)⁵, S. Fallah (BSc)¹

1. Department of Biology, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Babol Payamenoor University, Babol, Iran.
3. Department of Biology, Faculty of Basic Science, Tehran Payamenoor University, Tehran, Iran.
4. Department of Sports Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
5. Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

J Babol Univ Med Sci; 13(5); Sept 2011

Received: Oct 24th 2010, Revised: Dec 8th 2010, Accepted: Feb 9th 2011.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: The beneficial effects of regular exercise in preventing and treating many chronic diseases are known. Considering that the beneficial effects are lost with exhaustion, the purpose of this study was to determine the antioxidative effects of cinnamon bark extract (CBE) supplementation in attenuating markers of oxidative stress induced by an exhaustive exercise in male rats.

METHODS: Eighteen male rats (200-300gr) were randomly assigned to: (control group) without treatment; (exhaustive exercise group) the rats run on a treadmill to exhaustion in the last session; and (supplemented group) the rats supplemented with 200 mg/kg/day of CBE for 10 weeks and run on a treadmill to exhaustion in the last session. After exhaustion of rats, blood samples were collected, then total antioxidant capacity (TAC) was measured by FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) method, plasma thiol concentration and level of malondialdehyde (MDA) were measured in the serum samples by a colorimetric method (Hu) and by TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) method respectively. GPX activity was determined using washed red cell based on Paglia and Valentine method by GPX kit.

FINDINGS: Compared to control group (62.01 ± 12.7) activity of GPX in exhaustive group (91.95 ± 18.58) was increased ($p < 0.05$). Compared to exhaustive exercise (2.09 ± 0.26), significant decrease in serum level of MDA in supplemented group (1.20 ± 0.24) and control group (1.25 ± 0.17) was observed ($p < 0.01$). The decrease of plasma thiol concentration in exhaustive group (0.054 ± 0.002) ratio of supplemented group (0.18 ± 0.04), ($p < 0.01$) and control group (0.14 ± 0.03), ($p < 0.05$) was significant. Compared to control group (0.31 ± 0.05), the significant elevation of serum TAC in supplemented group (0.55 ± 0.08) was observed ($p < 0.01$).

CONCLUSION: According to results of current study, CBE supplementation before an exhaustive exercise decreased lipid peroxidation and improved anti-oxidative potential in rats

KEY WORDS: *Cinnamon bark, Antioxidant supplementation, Glutathione peroxidase, Malon dialdehyde.*

^{*}Corresponding Author;

Address: Department of Biology, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Tel: +98 411 3392739

E-mail: gdehghan@tabrizu.ac.ir

References

1. Kim HT. Effect of the joint administration of selenium and vitamin E in combination with regular aerobic exercise on markers of lipid peroxidation and glutathione peroxidase in diabetic rats. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2005;15(3):266-78.
2. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Vina J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med* 2008;44(2):126-31.
3. Helgerud J, Hoydal K, Wang E, et al. Aerobic high- intensity intervals improve VO₂max more than moderate training. *Med Sci Sports Exerc* 2007;39(4):665-71.
4. George BO, Osharechiren OI. Oxidative stress and antioxidant status in sportsman two hours after strenuous exercise and in sedentary control subjects. *Afr J Biotechnol* 2009;8(3):480-3.
5. 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.
6. 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.
7. Scandalios JG. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Braz J Med Biol Res* 2005;38(7):995-1014.
8. Change CK, Huang HY, Tseng H, Hsuuw H, Tso T. Interaction of vitamin E and exercise training on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in rat skeletal muscles. *J Nutr Biochem* 2007;18(1):39-45.
9. Ji LL, Fu, R. Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide. *J Appl Physiol* 1992; 72(2): 549-554.
10. Pinho RA, Andrades ME, Oliveira MR, et al. Imbalance in SOD/CAT activities in skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. *Cell Biol Int* 2006;30(10):848-53.
11. Gholizade N, Khanbabapoor Z, Habibnejad F, Lakzaei M, Pouramir M. Effects of pyrus boisseiriana buhse leaves extract on antihyperglycemic, antioxidant and antilipidproxidative in rats. *J Babol Univ Med Sci* 2009;11(4):7-12. [in Persian]
12. Jayaprakasha GK, Negi PS, Jena BS, Jagan Mohan Roa L. Antioxidant and anti mutagenic activities of cinnamomum zeylancium fruit extracts. *J Food Compost Anal* 2006;20(3-4):330-6.
13. Su L, Yin JJ, Charles Z, Zhou K, Moore J, Yu L. Total phenolic, contents chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. *Food Chem* 2007;100(3): 990-7.
14. Schmidt E, Jirovetz L, Buchbauer G, et al. Composition and antioxidant activities of the essential oil of cinnamon (Cinnamomum zeylanicum Blume) leaves from Sri Lanka. *J Essential Oil-Bearing Plants* 2006;9(2):170-82.
15. Nagendra N, Yang B, Dong X, Jiang G, Zhang H, Xie H and Jiang Y. Flavonoid contents and antioxidant activities from cinnamomum species. *Innovat Food Sci Emerg Tech* 2009;10(4):627-32.
16. Gurdip S, Maurya S, Delampasona MP, Catalon C. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food Chem Toxicol* 2007;45(9):1650-61.
17. Ranjbar A, Ghaseminezhad S, Zamani H, et al. Antioxidative stress potential of cinnamomum zeylancium in human: a comparative cross-sectional clinical study. *Therapy* 2006;3(1):113-17.
18. Lee JS, Jeon SM, Park EM, et al. Cinnamate supplementation enhances hepatic lipid metabolism and antioxidant defense systems in high cholesterol-fed rats. *J Med Food* 2003;6(3):183-91.
19. Jafari A, Hosseinpourfeizi MA, Houshmand M, Ravasi AA. Effect of aerobic exercise training on mtDNA deletion in soleus muscle of trained and untrained Wistar rats. *Br J Sports Med* 2005;39(8):517-20.

20. Moselhy SS, Junbi HH. Antioxidant properties of ethanolic and aqueous Cinnamon extracts against liver injury in rats. *Int J Adv Pharm Sci* 2010;1(2):151-5.
21. Dehghan G, Shafiee A, Ghahremani M, Ardestani S, Abollahi M. Antioxidant potential of various extract from *ferula szovitsiana* in relation to their phenolic content. *Pharm Biol* 2007;45(9):691-9.
22. Pinho RA, Andrades ME, Oliveira MR, et al. Imbalance in SOD/CAT activities in skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. *Cell Biol Int* 2006;30(10):848-53.
23. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70(1):158-69.
24. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61:882-8.
25. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as measure of antioxidant power. *Anal Biochem* 1996;239(1):70-6.
26. Petibois C, Deleris G. Evidence that erythrocytes are highly susceptible to exercise oxidative stress: FT-IR spectrometric studies at the molecular level. *Cell Biol Int* 2005;29(8):709-16.
27. Sastre J, Asensi M, Gasco E, Pallardo FV, Ferrero JA, Furukawa T, Vina J. Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration. *Am J Physiol* 1992;263(5 pt 2):992-5.
28. Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose R, Robyn E, Wiley R. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32(9):1576-81.
29. Aguilo A, Tauler P, Pilar Guix M, et al. Effect of exercise intensity and training on antioxidants and cholesterol profile in cyclists. *J Nutr Biochem* 2003;14(6):319-25.
30. Koz M, Erbas D, Bilgihan A, Aricioglu A. Effects of acute swimming exercise on muscle and erythrocyte malondialdehyde, serum myoglobin, and plasma ascorbic acid concentrations. *Can J Physiol Pharmacol* 1992;70(10):1392-5.
31. Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health. *Am J Clin Nutr* 2000;72(2):637-46.
32. Sen CK, Packer L. Thiol homeostasis and supplement physical exercise. *Am J Clin Nutr* 2000;72(2):653S-69S.
33. Hessel E, Haberland A, Muller M, Lerche D, Schimke I. Oxygen radical generation of neutrophils: a reason for oxidative stress during marathon running? *Clin Chim Acta* 2000;298(1-2):145-56.
34. Acikgoz O, Aksu I, Topcu A, Kayatekin BM. Acute exhaustive exercise does not alter lipid peroxidation levels and antioxidant enzyme activities in rat hippocampus, prefrontal cortex and striatum. *Neurosci Lett* 2006;406(1-2):148-51.
35. Murcia M A, Egea I, Romojaro F, Parras P, Jimenez AM, Martinez Tome M. Antioxidant evaluation in dessert spices compared with common food additives. Influence of irradiation procedure. *J Agric Food Chem* 2004;52(7): 1872-81.
36. Yopez B, Espinosa M, Lopez S, Bolanos G. Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction. *Fluid Phase Equilibria* 2002;194-197: 879-84.
37. Panza VS, Wazlawik E, Ricardo Schutz G, Comin L, Hecht KC, da Silva EL. Consumption of green tea favorably affects oxidative stress markers in weight- trained men. *Nutrition* 2008;24(5):433- 42.
38. Dunlap KL, Reynolds AJ, Duffy LK. 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):429-34.
39. Morrillas Ruiz JM, Villegas Garcia JA, Lopez FJ, Vidal-Guevava ML, Zafrilla P. Effects of polyphenolic antioxidants on exercise-induced oxidative stress. *Clin Nutr* 2006;25(3):444-53.