بررسی اثر عصاره هسته انار بر استرس اکسیداتیو ناشی از ایسکمی/هیپوپرفیوژن در بافت هیپوکامپ موش

خدیجه قاسم زاده دهکردی[۱]، مریم رفیعی راد[۲*]

۱) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۲) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد ایذه، دانشگاه آزاد اسلامی، ایذه، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۸ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۶

چکیده

مقدمه: رادیکال های آزاد در ایجاد و تشدید بیماری های عصبی نقش دارند و آنتی اکسیدان ها نقش محافظتی دارند. در این مطالعه اثر تجویز خوراکی عصاره هسته انار(PGSE) بر میزان پراکسیداسیون لیپیدی و اندازه گیری میزان گروه های تیول(SH-) در مدل حیوانی ایسکمی هیپوپرفیوژن مزمن مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: موش ها به صورت تصادفی به سه گروه کنترل، گروه ایسکمی وگروه ایسکمی دریافت کننده عصاره هسته انار تقسیم شدند. برای ایجاد ایسکمی در موش صحرایی، شریان های کاروتید عمومی به وسیله بخیه پوستی با دو گره محکم در رگ(بالا و پایین) مسدود و سپس شریان ها به طور کامل از وسط قطع گردیدند. سپس مغز موش ها جهت ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپیدی و اندازه گیری میزان گروه های تیول(SH-) استخراج شدند.

یافته های پژوهش: نتایج ما نشان داد که میزان مالون دی آلدئید و تیول در گروه ایسکمی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری($P<0.001$) داشته است و میزان مالون دی آلدئید و تیول در گروه ایسکمی دریافت کننده عصاره هسته انار نسبت به گروه ایسکمی کاهش معنی داری($P<0.001$) و ($P<0.001$) به ترتیب داشت.

بحث و نتیجه گیری: عصاره هسته انار احتمالاً با خاصیت آنتی اکسیدانی قوی توانسته اثرات ایسکمی از جمله تولید رادیکال های آزاد را بهبود ببخشد.

واژه های کلیدی: ایسکمی مغزی، استرس اکسیداتیو، عصاره هسته انار، مالون دی آلدئید، تیول

* نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد ایذه، دانشگاه آزاد اسلامی، ایذه، ایران

Email: Rafieirad.m@gmail.com, Rafieirad.m@Izehiau.ac.ir

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-05-19]

مقدمه

در حالت عادی بین تولید رادیکال های آزاد و سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی توازن برقرار است، اما اگر به هر دلیلی این توازن به هم خورد، حالتی پیش می آید که به آن استرس اکسیداتیو گفته می شود که می تواند در پاتوژنز بیش از یکصد نوع بیماری مختلف از طریق مکانیسم های متعدد از جمله تخریب عملکرد متابولیک و اختلال در هموستاز کلسیم داخل سلولی دخالت کند(۳-۱).

هیپوپرفیوژن/ایسکمی مغزی، یک بیماری عصبی است که در آن اختلالات ناشی از وقایع پاتوفیزیولوژی پی در پی به وجود می آیند(۴). در فرآیند ایسکمی، رادیکال های آزاد اکسیژن واکنش دهنده (Reaction Oxygen Species) از قبیل پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل تولید می شوند و به بافت هدف آسیب می رسانند(۵). آسیب عصبی ناشی از رادیکال های آزاد در بیماری های عصبی نقش داشته و آنتی اکسیدان ها در مقابل آن ها فعالیت محافظتی دارند(۶).

یکی از مهم ترین محصولات نهایی واکنش های رادیکال های آزاد، مالون دی آلدئید است که یکی از محصولات اکسیداسیون لیپیدها است(۷). پراکسیداسیون لیپید یک پدیده طبیعی است که به طور مداوم در مقادیر کم در بدن تولید می شود که این واکنش های پراکسیداسیونی برای سلول ها و غشای آن ها سمی هستند با این حال به طور طبیعی توسط مکانیسم های بیولوژیک خنثی می شوند. گیاهان متعددی دارای ترکیبات با خواص آنتی اکسیدانی هستند از جمله آن ها انار است(۸). این میوه به دلیل داشتن خواص ضد باکتریایی و ضد التهاب و هم چنین دارا بودن عوامل آرام بخش در طب سنتی استفاده می شود و عصاره های حاصل از بخش های مختلف میوه انار، غنی از ترکیبات فنولیکی بوده و افشره پوست و روغن بذر آن، دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بسیار قوی ای است که از آن می توان در غیر فعال کردن رادیکالهای آزاد استفاده کرد(۹). بیشترین ویژگی آنتی اکسیدانی آب میوه و روغن دانه انار به وجود این ترکیبات فنلی از قبیل: پونیکالاژین ها، پونیکالین، گالیک اسید و به ویژه الاژیک اسید وابسته است(۸،۱۰). به علاوه اخیراً گزارش شده که فعالیت آنتی اکسیدانی روغن هسته و آب میوه انار ۳ برابر از انگور و چای سبز قوی تر است و نیز عصاره میوه انار غنی از آنتی اکسیدانت های پلی فنولیک است که بیان ژن های مهم اکسیداسیون را کاهش می دهد(۱۱). نتایج مطالعه سرکاکی و همکاران در ۲۰۱۳ نشان داد که عصاره هسته انار برای حافظه کوتاه مدت، ظرفیت درمانی دارد که ناشی از خواص آنتی اکسیدانی و در نتیجه جاروب کنندگی رادیکال های آزاد آن می باشد(۴). شیواکومار و همکاران در سال ۱۹۹۵ وضعیت گلوتاتیون و هموستاز پروتئین تیول را در مناطق مغز موش بعد از ایسکمی در طول پرفیوژن مجدد متوسط و شدید مغزی مورد بررسی قرار دادند که سطوح گلوتاتیون در مناطق مغز در هنگام برقراری مجدد جریان خون به مدت یک ساعت بعد از ایسکمی متوسط یا شدید برای نیم ساعت کاهش یافت و از دست رفتن حداکثر گلوتاتیون(۶۶-۵۰ درصد) در استریاتوم و هیپوکامپ مشاهده شد و کاهش گلوتاتیون مناطق مغز اساساً به عنوان پروتئین دی سولفید گلوتاتیون با از دست دادن هم زمان گروه های تیول پروتئین بازیافت می شود(۱۲). یافته های فرجی و همکاران وی نیز نشان می دهد که در سکته مغزی ظرفیت آنتی اکسیدانی تام پلاسما و هم چنین میزان گروه های تیول پلاسما کاهش یافته ولی میزان پراکسیداسیون لیپیدی افزایش یافته است. در این یافته ها تنها کاهش گروه های تیول پلاسما معنی دار بوده است. با توجه به کاهش گرو ه های تیول پلاسما و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام پلاسما می توان گفت که در سکته مغزی تولید رادیکال های آزاد افزایش یافته است(۱۳). بنا بر این در مطالعه حاضر، اثرات نوروپروتکتیو(حفاظت نورونی) عصاره دانه انار از طریق بررسی اثر آن بر استرس اکسیداتیو ناشی از هیپوپرفیوژن/ایسکمی مغزی در مدل حیوانی مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت.

مواد و روش ها

تمامی آزمایش ها در تحقیق حاضر، با استفاده از موش های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار تولیدی مرکز تکثیر و نگهداری خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-05-19]

جندی شاپور اهواز با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام گرفت. حیوانات در شرایط استاندارد ۲±۲۰ درجه سانتی گراد و سیکل روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته (روشنایی از ۷ صبح آغاز می شود) و دسترسی کافی به غذای فشرده شرکت های دام پارس تهران و چاودانه شهرضای اصفهان و آب لوله کشی تصفیه شهر ایذه و در مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه در درون قفس های استاندارد نگهداری شدند. برای آسان شدن کار و سازش با شرایط محیط و آزمایش کننده، حیوانات از قبل روزانه به مدت چند دقیقه دست آموز می شدند. حیوانات به طور تصادفی به گروه های زیر تقسیم شدند:

۱-گروه شاهد سالم(کنترل)(Control)، ۲-گروه ایسکمی که هیچ ماده ای را به عنوان دارو دریافت نکردند(Ischemia)، ۳- گروه ایسکمی که به مدت ۱۴ روز، روزانه مقدار ۴۰۰ mg/kg عصاره هسته انار را پس از یک هفته از زمان جراحی به روش تجویز داخل معدی یا گاواژ دریافت کردند(Ischemia+PGSE)(۴،۱۴).

روش جراحی برای ایجاد ایسکمی: پس از یک روز محرومیت غذایی به حیوانات، بیهوشی با کتامین/زیلازین(۱۰۰ میلی گرم/ ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) القاء گردید. شکافی در وسط بخش شکمی پوست گردن ایجاد شد و بافت چربی زیر پوستی برداشته شده و از تیروئید دور می شود. عضله ناحیه گردن به وسیله شکاف میانی کنار زده شد و شریان کاروتید پس از مشاهده و آشکار شدن از بافت های اطراف جدا شده و به وسیله ابزارهای بخیه پوستی با دو گره محکم در حول رگ(بالا و پایین) مسدود و سپس شریان ها به طور کامل قطع می شوند. حیوانات پس از به هوش آمدن اجازه دارند تا آب و غذا مصرف کنند. بعد از یک هفته جراحی مشابهی در طرف دیگر انجام می شود.

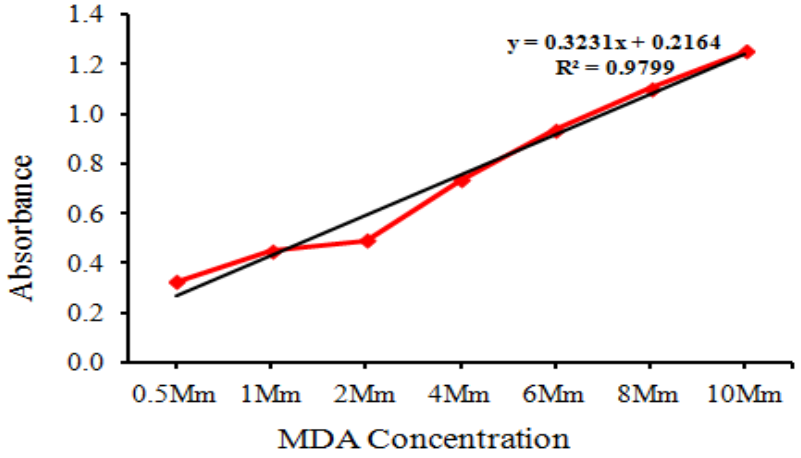
روش تهیه عصاره هسته انار: انارها(محصول باغات شیوند) از جنس و گونه Punica granatum (انار خوراکی) که توسط کارشناس ارشد گیاه شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه شناسایی شد، استفاده گردید هسته های جدا شده در هوای آزاد و در سایه به مدت یک هفته خشک شدند. پس از خشک شدن هسته ها مقدار مورد نظر توزین و توسط آسیاب برقی به پودر بسیار ریز(با قطر کمتر از ۰/۴ mm) تبدیل شدند. پودر دانه انار سپس به مدت ۷۲ ساعت در اتانول ۷۰ درجه و در دمای اتاق خیسانده شد. مخلوط پودر دانه انار و الکل هر روز به اندازه کافی و در چندین نوبت به هم زده شد. در پایان ۷۲ ساعت مخلوط الکل و پودر دانه انار از صافی های ریزی عبور داده شده تا عصاره آن به دست آید. عصاره به دست آمده در خلاء تحت تقطیر قرار گرفت تا الکل آن به طور کامل تبخیر شد. در پایان پس از تبخیر الکل عصاره دانه انار به دست آمد. درصد عصاره ای که از این روش به دست آمد حدود ۱۷ درصد(نسبت به وزن دانه) بود(۱۵).

سنجش مالون دی آلدئید: در این آزمایش از گروه های ۶ تایی موش استفاده شد. بافت هیپوکامپ وزن شده و با ازاء هر ۱ گرم بافت ۱۰ میلی لیتر محلول ۱/۵ درصد کلرید پتاسیم اضافه شد و هموژن گردید. از محلول هموژن شده ۰/۵ میلی لیتر برداشته شده و ۲/۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۳ درصد به آن اضافه شد و مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه نگهداری شد. سپس ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. ۰/۵ میلی لیتر از محلول رویی بعد از سانتریفیوژ برداشته شد و به هر یک ۳ میلی لیتر محلول ۱ درصد اسید فسفریک و ۱ میلی لیتر محلول ۰/۶۷ درصد تری باربیتوریک اسید اضافه شده و ۴۵ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند. لوله ها در ظرف یخ خنک شدند و به هر یک ۴ میلی لیتر بوتانول اضافه شد. بعد از ورتکس کردن، در ۳۵۰۰ دور به طور لحظه ای سانتریفیوژ شده و در نهایت جذب در طول موج ۵۳۲nm خوانده شد و پس از قراردادن اعداد حاصل از اسپکتروفتومتری و جذب در معادله خطی منحنی استاندارد میزان غلظت MDA بر اساس(nmol/g/wet tissue) مورد ارزیابی قرار گرفت(۱۶).

منحنی استاندارد: در ابتدا باید منحنی استاندارد رسم می شد که لازم بود محلول استاندارد MDA تهیه شده و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، جذب ها خوانده شد و با استفاده از رابطه خطی منحنی استاندارد غلظت ها اندازه گیری گردید. ۰/۵ میلی لیتر

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-05-19]

از محلول استاندارد با غلظت های ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ میکرومولار برداشته شد. سپس ۳ میلی لیتر محلول ۱ درصد اسید فسفریک اضافه شد و بقیه مراحل هم چون مراحل قبل انجام شد(شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱. منحنی استاندارد

اندازه گیری میزان گروه های تیول(SH-): برای ارزیابی گروه تیول از DTNB (معرف المن) استفاده گردید. در یک لوله آزمایش ۱ میلی لیتر از بافر تریس(PH=۸/۶) را به ۵۰ میکرولیتر محلول هموژن بافت اضافه نمودیم و جذب نوری آن در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه گیری شد(A1). سپس به لوله ها ۲۰ میکرولیتر معرف DTNB اضافه نموده، ۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس جذب آن در همان طول موج اندازه گیری گردید(A2). میزان جذب شاهد(حاوی بافر تریس و DTNB) نیز در ۴۱۲ نانومتر اندازه گیری گردید(B). مقادیر B, A2, A1 به دست آمده در رابطه زیر قرار داده شده و میزان گروه های تیول بر حسب میلی مول محاسبه می شود.

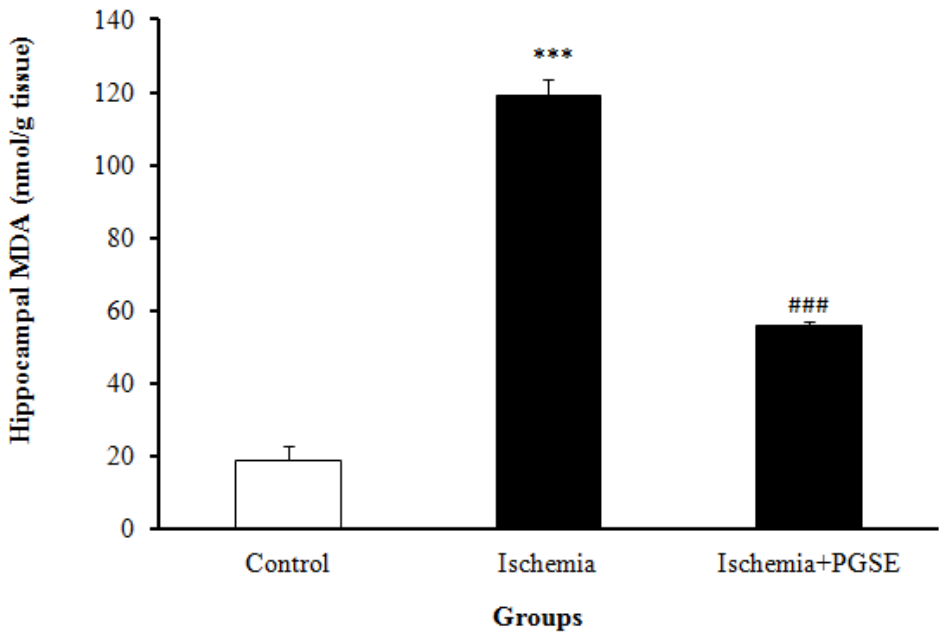
(A2-A1-B)*1.07/0.05*13.6

روش ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده ها: داده های این تحقیق به صورت Mean±SEM ارائه و سپس با روش های مناسب آماری در محیط های نرم افزارهای Excel و SPSS و با استفاده از روش های ANOVA تست پشتیبان LSD آنالیز گردید و تفاوت نتایج بین گروه های مختلف با حداقل P<0.05 معنی دار تلقی شد.

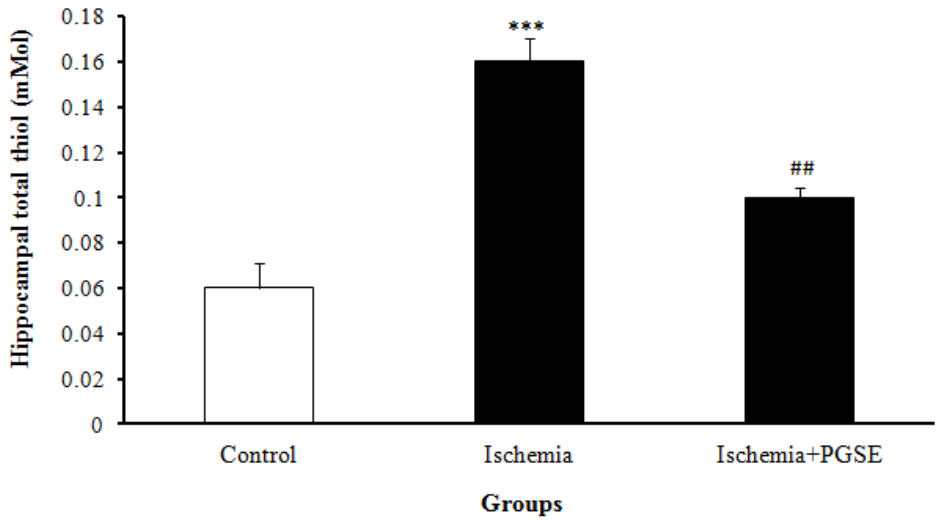
یافته های پژوهش

در مقایسه میانگین مالون دی آلدئید(MDA) بین گروه های کنترل، ایسکمی و ایسکمی دریافت کننده PGSE که مدت ۱۴ روز PGSE را به صورت روزانه دریافت کردند مشاهده گردید که مالون دی آلدئید(P<0.001) در گروه ایسکمی افزایش معنی داری نسبت به گروه کنترل داشته است. در صورتی که گروه ایسکمی دریافت کننده PGSE (P<0.001) نسبت به گروه ایسکمی کاهش معنی داری داشته است(شکل شماره ۲). در مقایسه گروه تیول بین گروه های کنترل، ایسکمی و ایسکمی دریافت کننده PGSE که PGSE را به مدت ۱۴ روز به صورت گاواژ دریافت کردند، مشاهده شد که میزان تیول(P<0.001) در گروه ایسکمی افزایش معنی داری نسبت به گروه کنترل داشته است و میزان گروه تیول(P<0.01) در گروه دریافت کننده PGSE نسبت به گروه ایسکمی کاهش معنی داری داشته است(شکل شماره ۳).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-05-19]



شکل شماره ۲. مقایسه میانگین±انحراف معیار از میانگین مالون‌دی‌آلدئید(MDA) درون هیپوکامپ بین گروه های کنترل، ایسکمی و ایسکمی دریافت کننده PGSE. علامت(*) بیانگر اختلاف معنی دار بین گروه ایسکمی و کنترل و علامت # بیانگر اختلاف معنی دار بین گروه ایسکمی و ایسکمی درمان شده با PGSE است.



شکل شماره ۳. مقایسه میانگین±انحراف معیار از میانگین گروه تیول(-SH) درون هیپوکامپ بین گروه های کنترل، ایسکمی و ایسکمی دریافت کننده PGSE. علامت(*) بیانگر اختلاف معنی دار بین گروه ایسکمی و کنترل و علامت # بیانگر اختلاف معنی دار بین گروه ایسکمی و ایسکمی درمان شده با PGSE است.

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه، اثر PGSE بر وضعیت پراکسیداسیون لیپیدی و تیول در مدل حیوانی مورد بررسی قرار گرفت. در نتایج به دست آمده ما میزان مالون دی آلدئید(MDA) افزایش معنی داری P<0.001 در بافت هیپوکامپ، در گروه ایسکمی نسبت به گروه کنترل نشان داد. نتایج ما نشان داد که میزان مالون دی آلدئید در گروه ایسکمی دریافت کننده عصاره هسته انار نسبت به گروه ایسکمی کاهش معنی داری داشت. هم چنین مطالعه حاضر حکایت از کاهش

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-05-19]

معنی دار تیول در گروه ایسکمی دریافت کننده عصاره هسته انار نسبت به گروه ایسکمی می کند. تحقیقات پیشین بیان می دارد به دنبال سکته مغزی و یا قطع جریان خون به قسمتی از مغز، کاهش غلظت اکسیژن و مواد متابولیک به سرعت و در عرض چند دقیقه به سطوح غیر قابل تشخیص می رسند و این کاهش اکسیژن بافتی در ناحیه ایسکمیک مغز، سبب اختلال در عملکرد میتوکندری ها و تولید رادیکال های آزاد می شود(۱۷) و به دنبال آن میزان برداشت رادیکال های آزاد کاهش می یابد و در نتیجه رادیکال های آزاد و لاکتات ناشی از تنفس بی هوازی افزایش می یابد که موجب اسیدوز و مرگ سلولی می شود(۵).

معمولاً سطوح ROS و دیگر رادیکال های آزاد توسط مولکول های جاروب کننده که به عنوان آنتی اکسیدان شناخته شده اند و معمولاً در داخل سلول وجود دارند، کنترل می شوند(۱۴). رادیکال هیدروکسیل، پروکسی نیتریت و محصولات مشتق شده از پروکسی نیتریت(رادیکال هیدروکسیل، کربنات رادیکال و دی اکسید نیتروژن) همه این پتانسیل را دارند که به چربی ها، پروتئین ها و DNA آسیب برسانند(۱۷). هیپوکامپ جزو اولین مناطقی از مغز است که در بیماری های مغزی مثل آلزایمر، هانتیگتون، صرع، سکته مغزی، ایسکمی و به ویژه ترومای مغزی دچار آسیب می شود(۱۶). مهم ترین پلی فنل های انار را تانن های هیدرولیز شده به نام پونیکالاژین ها(Punicalagins) تشکیل می دهند(۱۸). مطالعات نشان داده اند که پونیکالاژین ها به علت داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی فعالیت رادیکال های آزاد از جمله سوپراکسید را تنظیم می کنند(۱۹). علاوه بر این از پراکسیداسیون لیپیدی، به واسطه حضور گروه های هیدروکسیل در ساختار و پایان دادن به زنجیره پراکسیداسیون(با حذف رادیکال های پراکسید) از آسیب رادیکال های آزاد جلوگیری می کنند(۱۹). بنا بر این احتمال می رود انار به علت داشتن چنین ترکیباتی باعث کاهش عوامل ناشی از استرس اکسیداتیو از جمله مالون دی آلدئید و تیول در گروه های ایسکمی می شود. وست تی و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان داده اند که آب غنی از پلی فنل های انار می تواند مغز نوزادان موش را در برابر آسیب هیپوکسی ایسکمیک محافظت کند و پلی فنول های انار اثرات نوروپروتکتیو دارند(۲۰) و نیز از پلی فنل های فراوان موجود در پوست خارجی میوه، برگ و دانه انار به عنوان مهم ترین ترکیبات آنتی اکسیدانی نام برده اند که تحت شرایط in vivo و in vitro نقش مهمی در پیشگیری و درمان انسداد عروقی، فشارخون و جلوگیری از رسوب رگ های قلبی موش دارند(۲۱).

نتایج مطالعات متعدد نشان می دهد نوع تغییر در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان با توجه به نوع ترکیب، گونه مورد مواجهه، بافت مورد بررسی، دوز و زمان مواجهه متفاوت می باشد.

از آنجایی که عصاره دانه انار حاوی ترکیبات فنلی شامل آلاژیک اسید در اشکال آزاد و باند شده، گلوتانین و آنتوسیانین و دیگر فلاونوییدها می باشد، با روش جاروب کردن مواد اکسیدانی و رادیکال های آزاد ناشی از روند ایسکمی مغز، موجب بهبودی استرس اکسیداتیو متعاقب ایسکمی می شود.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-05-19]

References

1.Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci P. Potential markers of oxidative stress in stroke. Free Radic Biol Med 2005; 1;39:841-52.

2.Palizvzn M, Khademi S, Ghazavi A. [Corellation of two way active avoidance learning with nitric oxide and ferric reduction/antioxidant power in rats] . J Arak Uni Med Sci2006;9:1-8.(Persian)

3.Faraji F, Ranjbar A, Eshrati B, Talaie A, Shafie N. [Comparing the oxidative stress indexes of CVA patients with control gro-up]. J Arak Uni Med Sci2008;11:109-16. (Persian)

4.Sarkaki A, Hajipour S, Mansouri MT, Rafieirad M. Pomegranate seed hydroalc-oholic extract improves memory deficit due to permanent cerebral hypoperfusion /isch-emia in male rats. Health Med2013;7:863-71.

5.Zini I, Tomasi A, Grimaldi R, Vannini V, Agnati LF. Detection of free radicals during brain ischemia and reperfusion by spin trapping and microdialysis. Neurosci Lett 1992 27;138:279-82.

6.Mansouri MT, Farbood Y, Sameri MJ, Sarkaki A, Naghizadeh B, Rafeirad M. Neuroprotective effects of oral gallic acid against oxidative stress induced by 6-hydro-xydopamine in rats. Food Chem 20131; 138:1028-33.

7.Nakai A, Oya A, Kobe H, Asakura H, Yokota A, Koshino T. Changes in maternal lipid peroxidation levels and antioxidant enzymatic activities before and after delivery. J Nippon Med Sch2000;67:434-9.

8.Rafieirad M, Zangeneh Nezhad Z, Al-lahbakhshi A. Neuroprotective effects of oral ellagic acid on locomotor activity and anxiety-induced by ischemia/hypoperfusion in rat. Adv Environ Biol2014;8:83-8.

9.Sarkhosh A, Zamani Z, FatahiMoghadam M, Ghorbani Ghozhadi H. Review of Pho-rmological and Medicinal Properties of Po-megranate. Med Plant2007;6:200-5.

10.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 Nutr2000;71:1062-76.

11.Yu YM, Chang WC, Wu CH, Chiang SY. Reduction of oxidative stress and apoptosis in hyperlipidemic rabbits by ellagic acid. J Nutr Biochem2005;16:675-81.

12.Shivakumar BR, Kolluri SV, Ravindr-anath V. Glutathione and protein thiol ho-meostasis in brain during reperfusion after cerebral ischemia. J Pharmacol Exp Ther 1995; 274:1167-73.

13.Faraji F, Ranjbar A, Eshrati B, Talaie A, Shafie N. Comparing the oxidative stress indexes of CVA patients with control gro-up. Arak Med Uni J 2008;11:109-16.

14.Sarkaki A, Rezaiei M, Gharib Naseri Mk, Rafieirad M. Improving Active and Passive Avoidance Memories Deficits Due to Permanent Cerebral Ischemia by Pom-egranate Seed Extract in Female Rats. Mal-aysian J Med Sci2013;20:25-34.

15.Farbood Y, Sarkaki A. Preventive effect of grape seed hydroalcholic extract on dementia type of alzheimers disease in aged male rats. Int J Pharmacol2009;5:257.

16.Rafiei Rad M, Sarkaki A, Hoseini E, Farbood Y, Mansouri SMT, Motamedi F. [The effect of grape seed extract on lipid peroxidation duo to ischemia/hypoperfusion in male rat striatum]. J Anim Biol2011;3: 37-44. (Persian)

17.Niatsetskaya ZV, Sosunov SA, Matsiu-kevich D, Utkinasosunova IV, Ratner VI, Starkov AA. The oxygen free radicals origi-nating from mitochondrial complex I contr-ibute to oxidative brain injury following hy-poxia ischemia in neonatal mice. J Neur-osci2012 29;32:3235-44.

18.Ender P, Vural G. Organic Acids and Phenolic Compounds in Pomegranates gro-wn in Turkey. J Food Compos Analys 2002;15:567-75.

19.Changjiang G, Jijun Y, Jingyu W, Yun-feng L, Jing X. Antioxidant activities of pe-el, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. Nutri Res 2003;23:1719-26.

20.West T, Atzeva M, Holtzman DM. Pom-egranate polyphenols and resveratrol pro-tect the neonatal brain against hypoxic ischemic injury. Dev Neurosci 2007;29: 363-72.

21.Nigris F, Balestrieri ML, Williamsign-arro S, Darmiento FP, Fiorito C, Ignarro LJ. The influence of pomegranate fruit extract in comparison to regular pomegranate juice and seed oil on nitric oxide and arterial function in obese Zucker rats. Nitric Oxide2007;17:50-4.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-05-19]

Effect of Pomegranate Seed Extract (PGSE) on Oxidative Stress duo to Ischemia/Hypoperfusion in Male Rat Hippocampus

*Ghasemzadehdehkordi K[1], Rafieirad M[*2]*

(Received: August 30, 2014 Accepted: October 28, 2014)

Abstract

Introduction: Free radicals are involved in the development and exacerbation of neurological diseases and antioxidants play a protective role. In this study the effect of oral administration of pomegranate seed extract (PGSE) was investigated on assess the rate of lipid peroxidation and measuring the rate of thiol groups (-SH) in an animal model of chronic ischemic hypoperfusion.

Material & methods: The rats were randomly divided into three groups: control group, ischemia group and ischemia group receiving the pomegranate seed extract. For ischemia in the rat, general carotid arteries blocked by means of skin suture with two tight knot around the vessel (top and bottom) and then arteries were completely intersect. Then the rats' brains were extracted to assess the rate of lipid peroxidation and measuring the rate of thiol groups (-SH).

Findings: Our results showed that malondialdehyde and thiol in ischemia group has significantly increased ($p< 0.001$) than in control group and rate of malondialdehyde and thiol in ischemia group receiving the extract of pomegranate seed has significantly decreased, respectively ($p<0.001$) and ($p<0.001$), than in ischemia group.

Discussion & Conclusion: Pomegranate seed extract possibly with powerful antioxidant properties, can improve the effect of ischemia such as production of free radicals.

Keywords: Brain ischemia, Oxidative stress, Pomegranate seed extract, Malondialdehyde, Thiol

1. Dept of Biology,Science and Research Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran
2. Dept of Biology, Izeh Branch, Islamic Azad University, Izeh, Iran
** Correspondin author Email:Rafieirad.m@gmail.com*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-05-19]