دانشگاه پیام نور

مرکز تهران

دانشکده علوم پایه

گروه علوم جانوری

پایان نامه جهت دریافت کارشناسی ارشد در رشته علوم جانوری

عنوان:

اثر عصاره متانولی پوسته خارجی دارچین و تمرینات هوازی متوسط بر روی شاخصهای استرس اکسایشی به دنبال ورزش درمانده‌ساز در رت

استاد راهنمای اول:

دکتر سهیلا ابراهیمی

استاد راهنمای همکار:

دکتر غلامرضا دهقان

استاد مشاور:

دکتر افشار جعفری

نگارش:

مهرنوش شقاقی سراسکانرود

آذر ۸۹

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

مقدمه..... ۱

فصل اول: بررسی منابع

۱-۱- استرس اکسایشی و آنتی اکسیدانها..... ۴

۱-۲- رادیکال‌های آزاد (Free radicals)..... ۵

۱-۲-۱- انواع رادیکال‌های آزاد..... ۶

۱-۲-۱-۱-۱- رادیکال سوپراکسید ($O_2^{\bullet-}$)..... ۷

۱-۲-۱-۱-۲- رادیکال هیدروکسیل ($OH^{\bullet}$)..... ۷

۱-۲-۱-۱-۳- رادیکال نیتریک اکساید ($NO^{\bullet}$)..... ۸

۱-۲-۲ منشا تولید رادیکال‌های آزاد..... ۹

۱-۲-۳- آسیبهای اکسیداتیو ناشی از ROS بر روی چربیها ۱۱

۱-۲-۳-۱- اکسیداسیون LDL و بروز بیماریهای قلبی عروقی..... ۱۲

۱-۲-۴- آسیبهای اکسیداتیو ناشی از ROS بر روی پروتئین..... ۱۳

۱-۲-۵- آسیبهای اکسیداتیو ناشی از ROS بر روی DNA..... ۱۴

۱-۳- سیستم دفاع آنتی اکسیدانی..... ۱۴

۱-۳-۱- آنزیمهای آنتی اکسیدانی..... ۱۵

۱-۳-۱-۱- سوپراکسید دیسموتاز (SOD)..... ۱۵

۱-۳-۱-۲- کاتالاز(CAT)..... ۱۶

۱-۳-۱-۳- گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)..... ۱۶

۱-۳-۱-۴- گلوتاتیون ردوکتاز (GRD)..... ۱۸

۱-۳-۱-۵- گلوتاتیون –S- ترانسفراز (GST)..... ۱۸

۱-۳-۲- آنتی اکسیدانهای پیشگیری کننده (Preventive antioxidant)..... ۱۸

۱-۳-۳- گلوتاتیون (GSH)..... ۲۰

۱-۳-۴- آنتی اکسیدانهای شکننده زنجیر(Chain breaking)..... ۲۰

۱-۳-۴-۱- توکوفرول (ویتامین E)..... ۲۱

۱-۳-۴-۲- اسید آسکوربیک (ویتامین C)..... ۲۲

۱-۳-۴-۳- بتا کاروتن..... ۲۳

۱-۴- ورزش و استرس اکسایشی..... ۲۳

۱-۴-۱- منابع تولید رادیکالهای آزاد در جریان ورزش..... ۲۵

۱-۴-۲- ورزش و مصرف آنتی اکسیدانها..... ۲۷

۱-۴-۳- نقش ورزش مزمن و منظم بعنوان آنتی اکسیدان..... ۲۸

۱-۴-۳-۱- نقش مسیرهای پیام رسانی در حفظ تعادل اکسیدان - آنتی اکسیدان در پستانداران..... ۲۹

۱-۴-۴- شناساگرهای آسیبهای ماهیچه‌ای در جریان ورزش..... ۳۰

۱-۵- دارچین (Cinnamon)..... ۳۱

۱-۵-۱- ترکیبات شیمیایی دارچین..... ۳۲

۱-۵-۲- خواص دارویی دارچین..... ۳۳

۱-۵-۳- اثر ترکیبات موجود در دارچین در مهار کردن رادیکال هیدروکسیل..... ۳۴

۱-۶- هدف پژوهش..... ۳۵

فصل دوم: مواد و روشهای تحقیق

۲-۱- طرح تحقیق..... ۳۷

۲-۲- حیوانات مورد استفاده برای تحقیق..... ۳۷

۲-۳- متغیرهای تحقیق..... ۳۸

۲-۴- روش جمع آوری داده‌ها..... ۳۹

۲- ۵- تهیه‌ی عصاره دارچین..... ۴۰

۲-۶- مکمل سازی و پروتکل ورزشی..... ۴۱

۲-۷- روش تهیه‌ی نمونه‌های خونی..... ۴۳

۲-۸- روش تهیه‌ی هموژنات بافت ماهیچه سولئوس..... ۴۴

۲-۹- نحوه‌ی سنجش متغیرها..... ۴۴

۲-۹-۱- ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپیدی در سرم وبافت ماهیچه ای به روش TBA (تیوباربیتوریک اسید)..... ۴۴

۲-۹-۲- اندازه گیری پتانسیل تام آنتی اکسیدانی سرم(روش FRAP)..... ۴۶

۲-۹-۳- اندازه‌گیری میزان تیول تام پلاسما (TSH)..... ۴۹

۲-۹-۴- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان..... ۵۰

۲-۹-۴-۱- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز(SOD) در گلبول قرمز و بافت ماهیچه-ای..... ۵۰

۲-۹-۴-۲- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم(GPX) درگلبولهای قرمز و بافت ماهیچه‌ای..... ۵۳

۲-۹-۴-۳- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز(CAT) در گلبولهای قرمز..... ۵۶

۲-۹-۴-۴- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز(CAT) دربافت ماهیچه‌ای.....۵۷

۲-۹-۵- اندازه‌گیری مقدار پروتئین توتال در هموژنات بافت ماهیچه‌ای به روش استخراج.....۵۸

۲-۹-۶- اندازه‌گیری هموگلوبین توتال(Hb).....۵۹

۲-۹-۷- اندازه‌گیری نیمرخ‌های لیپیدی خون.....۶۰

۲-۹-۷-۱- اندازه‌گیری کلسترول با روش آنزیمی.....۶۱

۲-۹-۷-۲- اندازه‌گیری تری گلیسرید با روش آنزیمی.....۶۲

۲-۹-۷-۳- اندازه‌گیری HDL-c باروش آنزیمی..... ۶۲

۲-۹-۷-۴- روش محاسبه LDL-c.....۶۴

۲-۹-۸- روش‌های آماری.....۶۴

فصل سوم: یافته‌های تحقیق

۳-۱- بررسی تغییرات غلظت سرمی MDA به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در بین گروه‌های مورد مطالعه.....۶۵

۳-۲- بررسی تغییرات غلظت MDA موجود در بافت ماهیچه‌ای به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در بین گروههای مورد مطالعه.....۶۶

۳-۳- مقایسه غلظت سرمی تیول تام (TSH) در بین گروه‌های مورد مطالعه.....۶۸

۳-۴- مقایسه ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC) در بین گروه‌های مورد مطالعه.....۶۹

۳-۵- مقایسه تغییرات فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز(SOD) گلبول قرمز در بین گروههای مورد مطالعه.....۷۱

۳-۶- مقایسه تغییرات فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز(SOD) ماهیچه سولئوس دربین گروههای مورد مطالعه.....۷۲

۳-۷- مقایسه تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز(CAT) گلبول قرمز در بین گروههای مورد مطالعه..... ۷۳

۳-۸- مقایسه تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز(CAT) ماهیچه سولئوس دربین گروههای مورد مطالعه..... ۷۴

۳-۹- مقایسه تغییرات فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز(GPX) گلبول قرمز در بین گروههای مورد مطالعه..... ۷۵

۳-۱۰- مقایسه تغییرات فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز(GPX) موجود در ماهیچه سولئوس در بین گروههای مورد مطالعه..... ۷۶

۳-۱۱- تغییرات نیمرخ‌های لیپیدی خون در بین گروههای مورد مطالعه..... ۷۸

۳-۱۱-۱- مقایسه تغییرات غلظت سرمی کلسترول توتال(CHOL) در بین گروههای مورد مطالعه..... ۷۸

۳-۱۱-۲- مقایسه تغییرات غلظت سرمی لیپوپروتئین کم‌چگال(LDL) در بین گروههای مورد مطالعه..... ۷۸

۳-۱۱-۳- مقایسه تغییرات غلظت سرمی لیپوپروتئین پرچگال(HDL) در بین گروههای مورد مطالعه..... ۸۰

۳-۱۱-۴- مقایسه تغییرات غلظت سرمی تری‌گلیسرید(TG) در بین گروههای مورد مطالعه..... ۸۲

فصل پنجم: بحث و نتیجه‌گیری

۴-۱- بحث و نتیجه‌گیری..... ۸۳

۴-۲- پیشنهادات پژوهشی..... ۱۰۰

فهرست اشکال و نمودارها

عنوان **صفحه**

شکل۱-۱- درخت دارچین در طبیعت..... ۳۲

شکل۱-۲- پوسته درخت دارچین..... ۳۳

شکل۲-۱- عصاره متانولی پوسته دارچین..... ۴۱

شکل ۲-۲- دویدن موشهای صحرایی بر روی تردمیل..... ۴۳

شکل۲-۳- منحنی نیمه لگاریتمی استانداردSOD.....۵۳

شکل ۳-۱ مقایسه تغییرات غلظت سرمی MDA در بین گروههای مورد مطالعه از موش صحرایی نر نژاد ویستار ۶۶

شکل ۳-۲ مقایسه تغییرات غلظت MDA موجود در بافت ماهیچه‌ای در بین گروههای مورد مطالعه از موش صحرایی نر نژاد ویستار.....۶۷

شکل ۳-۳ مقایسه تغییرات غلظت سرمی تیول تام (TSH) در بین گروههای مورد مطالعه از موش صحرایی نر نژاد ویستار.....۶۹

شکل ۳-۴ مقایسه تغییرات TAC در بین گروههای مورد مطالعه از موش صحرایی نر نژاد ویستار..... ۷۰

شکل۳-۵ مقایسه تغییرات فعالیت SOD موجود در گلبولهای قرمز در بین گروههای مورد مطالعه از موش صحرایی نر نژاد ویستار.....۷۲

شکل۳-۶ مقایسه تغییرات فعالیت SOD موجود در ماهیچه سولئوس در بین گروههای مورد مطالعه از موش صحرایی نر نژاد ویستار.....۷۳

شکل۳-۷ مقایسه تغییرات فعالیت CAT موجود در گلبول قرمز در بین گروههای مورد مطالعه از موش صحرایی نر نژاد ویستار.....۷۴

شکل۳-۸ مقایسه تغییرات فعالیت CAT مربوط به ماهیچه سولئوس در بین گروههای مورد مطالعه از موش صحرایی نر نژاد ویستار.....۷۵

شکل۳-۹ مقایسه تغییرات فعالیت GPX موجود در گلبول قرمز در بین گروههای مورد مطالعه از موش صحرایی نر نژاد ویستار.....۷۶

شکل۳-۱۰ مقایسه تغییرات فعالیتGPX موجود در ماهیچه سولئوس در بین گروههای مورد مطالعه از موش صحرایی نر نژاد ویستار.....۷۷

شکل۳-۱۱ مقایسه تغییرات غلظت سرمی کلسترول توتال(CHOL) در بین گروههای مورد مطالعه از موش صحرایی نر نژاد ویستار..... ۷۹

شکل۳-۱۲ مقایسه تغییرات غلظت سرمی لیپوپروتئین کم چگال(LDL) در بین گروههای مورد مطالعه از موش صحرایی نر نژاد ویستار..... ۸۰

شکل۳-۱۳ مقایسه تغییرات غلظت سرمی لیپوپروتئین پر چگال(HDL) در بین گروههای مورد مطالعه از موش صحرایی نر نژاد ویستار..... ۸۱

شکل۳-۱۴ مقایسه تغییرات غلظت سرمی تری گلیسیرید(TG) در بین گروههای مورد مطالعه از موش صحرایی نر نژاد ویستار..... ۸۲

مقدمه

اثرات مفید ورزشهای منظم در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماریهای مزمن از قبیل سرطان، هایپرتانسیون، بیماریهای قلبی، دیابت، افسردگی و چاقی، مدت زمان طولانی است که شناخته شده است. با وجود این مساله، تحقیقات نشان می‌دهد که این اثرات مفید ورزش با خستگی و درماندگی از بین می‌رود و انجام یک جلسه ورزش درمانده‌ساز می‌تواند اثرات مضری بر روی سلامتی افراد داشته باشد. در جریان ورزشهای درمانده‌ساز مصرف اکسیژن در بدن و جریان اکسیژن در ماهیچه‌ها به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. که پیامد آن افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژنی[1](ROS) در غلظتهای بیش از ظرفیت آنتی اکسیدانی موجود در بدن می‌باشد. در این حالت ROS به عنوان عوامل اکسیدان از طریق اکسیداسیون اجزای ضروری سلول‌ها مانند پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدهای غشا آسیب‌های جدی به بافت‌های مختلف بدن بویژه ماهیچه‌ها وارد می‌نماید. مطالعات زیادی افزایش غلظت مالون دی آلدهید[2](MDA) به عنوان یکی از شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی را در افراد به دنبال یک جلسه ورزش درمانده‌ساز گزارش کرده‌اند. کاهش در سطح گلوتاتیون احیا(GSH) در کبد و ماهیچه‌های اسکلتی و پلاسما در آزمودنی‌هایی با اجرای ورزش درمانده‌ساز در مقایسه با گروههای کنترل گزارش شده است. در بافت‌های پستانداران آسیبهای اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد به وسیله‌ی سیستم آنتی اکسیدانی گسترده‌ای مهار می-شود که این سیستم شامل آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز(SOD)، کاتالاز(CAT) و گلوتاتیون پراکسیداز(GPX)، ماکرومولکولهایی مانند آلبومین، سرولوپلاسمین، فریتین و مجموعه‌ای از

[1] Reactive Oxygen Species
[2] Malon dialdehyde

مولکولهای کوچک شامل آسکوربیک اسید، آلفا- توکوفرول، کاروتنوئید، پلی‌فنول‌ها ، یوبی کوئینول-۱۰، گلوتاتیون احیا(GSH)، متیونین، اسیداوریک و بیلی‌روبین می‌باشد. محققان بر این عقیده‌اند که اجرای تمرینات ورزشی و مصرف مکمل‌های آنتی اکسیدانی ، ابزار مناسبی برای تقلیل آسیب‌های ماهیچه‌ای یا استرس اکسایشی ناشی از ورزش‌های حاد و درمانده‌ساز می‌باشد. تمرینات منظم استرس اکسایشی را با افزایش بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی اکسیدانی تعدیل می‌کند. تحقیقات انجام شده کاهش در میزان MDA را در گروههای تمرین کرده در مقایسه با گروههای تمرین نکرده به دنبال یک جلسه ورزش تردمیل درمانده‌ساز گزارش کرده‌اند . محققان پیشنهاد می‌کنند که افزایش مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوتاتیون، n-استیل سیستئین، و ویتامینهای مختلف (A,B,C,E) ممکن است از طریق مهار رادیکال‌های آزاد استرس اکسایشی ناشی از ورزش‌های درمانده‌ساز را کاهش دهند. از آنجایی که گیاهان به عنوان منابع غنی از ترکیبات آنتی اکسیدانی می‌باشند، مصرف سبزیجات ومیوه‌ها همواره برای کاهش آثار مخرب رادیکالهای آزاد توصیه شده است. دارچین به عنوان یکی از شناخته شده‌ترین فراورده گیاهی در جوامع مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد و در جریان چندین مطالعه گزارش شده است که عصاره، روغن فرار و چای دارچین دارای فعالیت‌های آنتی اکسیدانی می‌باشند. با توجه به اینکه در بیشتر مطالعات پیشین اثرات محافظتی اجرای تمرینات منظم و مصرف مکمل‌های آنتی اکسیدانی در کاهش استرس اکسایشی ناشی از انجام ورزش‌های حاد و درمانده‌ساز بصورت جداگانه بررسی شده‌اند، بنابراین در مطالعه‌ی حاضر قصد داریم اثرات محافظتی عصاره‌ی متانولی پوسته‌ی دارچین را بر روی آنتی اکسیدان توتال سرمی (TAC)، شاخص‌های استرس اکسایشی از قبیل غلظت سرمی MDA و GSH و فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی گلبولهای قرمز و

بافت ماهیچه سولئوس (درمعرض انقباضات شدید در جریان ورزش قرا دارند) در موش‌های صحرایی ورزشکار و غیرورزشکار به دنبال یک جلسه ورزش درمانده ساز مورد بررسی قرار دهیم.

۱-۱- استرس اکسایشی و آنتی‌اکسیدان‌ها

در سلول‌های موجودات زنده در حالت عادی به صورت مداوم تولید رادیکال‌های آزاد و حذف آنها در یک سطح پایه‌ای و با توجه به عملکردهای فیزیولوژیکی مفید و اثرات مضر آنها انجام می‌شود. این تعادل حساس در جهت حفظ حالت ردوکس داخل سلولی می‌باشد که نقش بسزایی در بهینه-سازی عملکردهای سلولی دارد. تعادل ردوکس بیان کننده پتانسیل اکسیداسیون و احیا در داخل سلول‌ها است که مشابه با PH تنظیم می‌شود(Sachdev, S. 2008; Covarrubias, L. 2008).

تجمع بیش از حد رادیکال‌های آزاد و یا ناتوانی بدن در جهت حذف آنها باعث جابجایی تعادل ردوکس در جهت ایجاد حالتهای اکسایشی در بدن می‌شود. در این حالت رادیکالهای آزاد به عنوان عوامل اکسیدان باعث اکسیداسیون ماکرومولکولهای زیستی و آسیب و مرگ سلولی می‌شوند(Fisher, K. 2009). این عدم تعادل بین میزان تولید عوامل اکسیدان و ظرفیت دفاع آنتی اکسیدانی بدن، استرس اکسایشی نامیده می‌شود که در ایجاد بسیاری از بیماریهای مزمن از قبیل آرترواسکلروسیس، آنفارکتوس میوکارد، سندرم زجر تنفسی، آسیب‌های ریرفیوژن، بیماری‌های پوستی، سرطان، بی‌نظمی-های عصبی مانند پارکینسون، آلزایمر، جنون و تصلب بافتی دخیل می‌باشد (Fisher, K. 2009; Maranon, G. 2008; Scandalios, J. 2005).

نمونه‌هایی از فعالیتهای فیزیولوژیکی که به حالتهای ردوکس سلولی حساس هستند شامل موارد زیر می‌باشد(Halliwell, B. 2007; Scandalios, J. 2005)

الف- تنظیم انقباض رگها بوسیله فعالیت گوانیلات سیکلاز و یا تنظیم رونویسی از آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز[۱](NOS) به واسطه فعالیت فاکتور هسته‌ای kB [۲](NF-kB) یا پروتئین کیناز فعال کننده میتوژن[۳](MAPK)

ب- تقویت سیستم ایمنی و تنظیم آپوپتوز سلولی بوسیله فعالیت پروتئین فعالساز۱ [۴](AP-1) و NF-kB در سلول‌های T انسانی

ج- تنظیم فعالیت کیناز رسپتور انسولین بوسیله افزایش فعالیت پروتئین تیروزین فسفاتاز

د- افزایش بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و یا گلوتاتیون در پاسخ به فعالیت MAPK وNF-kB در جهت بازگرداندن سلول به تعادل ردوکس پایه

۱-۲- رادیکال‌های آزاد (Free radicals)

اتم‌ها یا مولکول‌هایی هستند که حداقل دارای یک الکترون جفت نشده در اوربیتال خارجی خود می-باشند. که می‌توانند به فرم آنیونی، کاتیونی و یا خنثی باشند. از نظر انرژی بسیار ناپایدار بوده و در جهت حذف یا جفت کردن الکترون‌های اطرافشان و رسیدن به حالت پایدار با مولکول‌ها و اتم‌های اطراف واکنش می‌دهند. زمانی که یک رادیکال آزاد با ترکیبی غیر رادیکالی مواجه می‌شوند رادیکال-های آزاد جدیدی تولید می‌شوند. بنابراین واکنش‌های مربوط به رادیکال‌های آزاد تمایل دارند به

[۱] Nitric oxide syntitase
[۲] Nuclear factor -kB
[۳] Mitogen activator protein kinase
[۴] Activator Protein-1

صورت فعل و انفعالات زنجیره‌ای پیش روند. فقط زمانی که دو رادیکال در مجاورت هم قرار می-گیرند واکنش‌های زنجیره‌ای پایان خواهد یافت(Halliwell, B. 2007).

۱-۲-۱- انواع رادیکال‌های آزاد

اگر چه مقدار کثیری از رادیکال‌های آزاد از قبیل اتم‌های هیدروژن، یون‌های فلزی انتقالی، رادیکالهایی با اتم مرکزی گوگرد و کربن در طبیعت موجود هستند. ولی در بدن موجودات زنده آنها عمدتا از اکسیژن و یا نیتروژن مشتق می‌شوند. از مشهورترین رادیکال‌های آزاد موجود در ارگانیسم-های هوازی، محصولات ناشی از احیای ناقص اکسیژن در مسیر متابولیکی داخل سلولی است که به آنها گونه‌های فعال اکسیژن‌دار[۱](ROS) گفته می‌شود(Fisher, K. 2009; Halliwell, B. 2007).

ROS شامل ترکیبات زیر می‌باشند.

۱-۲-۱-۱- رادیکال‌های آزاد اکسیژن‌دار: این ترکیبات شامل آنیون سوپراکسید ($O_2^{\bullet -}$)، رادیکال هیدروپروکسیل($HOO^{\bullet}$) ، رادیکال هیدروکسیل($OH^{\bullet}$)، رادیکال لیپید پراکسیل($LOO^{\bullet}$)، رادیکال نیتریک اکساید($NO^{\bullet}$) و پراکسی نیتریت($ONOO^{\bullet -}$) می‌باشند(Halliwell, B. 2007; Blokhina, O. 2003).

۱-۲-۱-۲- گونه‌های اکسیژنی فعال غیررادیکالی: رادیکال‌های آزاد اکسیژن‌دار می‌توانند به گونه-های غیر رادیکالی ولی واکنش پذیر از قبیل پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، اسید هیپوکلروس(HOCl)،

[۱] Reactive Oxygen Species

اسید هیپوبروموس (HOBr) تبدیل شوند، ترکیبات ذکر شده فاقد الکترون آزاد بوده اما در بوجود آوردن رادیکال‌های آزاد دخیل هستند(Halliwell, B. 2007; Blokhina,O. 2003).

۱-۲-۱-۱-۱- رادیکال سوپراکسید ($O_2^{\bullet-}$): در داخل میتوکندری انتقال الکترون مسئول واکنشهای اکسیداسیون و احیایی است که منجر به ساخته شدنATP می‌شود. در این سیستم، O_2 طی احیای ناقص تبدیل به رادیکال سوپراکسید می‌شود. این رادیکال فعالیت زیادی در آب ندارد، در حلال‌های آبی اغلب به عنوان یک ماده احیا کننده عمل می‌کند به طور مثال باعث احیای نمک‌های آهن فریک به فرو می‌شود. آنیون سوپراکسید گاهی با قبول یک الکترون دیگر به صورت یک ماده اکسید کننده ضعیف درمی‌آید. به طور مثل می‌تواند اسید آسکوربیک را اکسید کند. این رادیکال در داخل سلول طی واکنش دیسموتاسیون به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شود. H_2O_2 به خاطر توانایی در تولید رادیکال هیدروکسیل مورد توجه می‌باشد(Halliwell, B. 2007 ; راداک، ژولت. ۱۳۸۳)

$$2O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$$

۱-۲-۱-۱-۲- رادیکال هیدروکسیل ($OH^{\bullet}$)

رادیکال هیدروکسیل یکی از فعالترین رادیکال‌های اکسیژنی است که به محض تماس با هر مولکول بیولوژیکی به آن حمله کرده و واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد را شروع می‌کند این رادیکال در بدن موجودات زنده در بیشتر موارد از طریق واکنش فلزات با پراکسید هیدروژن تولید می‌شوند. یونهای فلزی شرکت کننده در واکنش می‌توانند Ti^{3+}, Cu^{+}, Fe^{2+}, Co^{2+} باشد.

$$M^{n+} + H_2O_2 \rightarrow M^{(n+1)} + OH\bullet + OH^-$$

اگر M^{n+} یون آهن دو ظرفیتی باشد واکنش با نام واکنش فنتون[1] شناخته می‌شود(Halliwell, B. 2007 ; راداک، ژولت. ۱۳۸۳).

رادیکال سوپراکسید و پراکسید هیدروژن می‌توانند با احیای آهن توسط واکنش هابرویس[2] باعث تولید رادیکال هیدروکسیل شوند (راداک، ژولت. ۱۳۸۳).

$$O2^{\bullet -} + H_2O_2 \rightarrow OH^{\bullet} + OH^- + O_2$$

۱-۲-۱-۱-۳- رادیکال نیتریک اکساید ($NO^{\bullet}$)

نیتریک اکساید از نظر بیولوژیکی ضروری بوده و با شل کردن عضلات رگها، فشار خون را کاهش می‌دهد. $NO^{\bullet}$ در درجه حرارت بدن با اکسیژن ترکیب شده و اکسید نیتریک (NO_2) را به وجود می-آورد. NO_2 با گرفتن اتم‌های هیدروژن چربی‌های غشا باعث پراکسیداسیون چربی‌ها می‌شوند که ماکروفاژها از این روش برای نابودسازی انگل‌ها استفاده می‌کنند. بنابراین اکسیدهای نیتروژن در مقادیر اضافی سمی هستند رادیکال $NO^{\bullet}$ با آنیون سوپراکسید واکنش داده و $OH^{\bullet}$ را تولید می‌کنند که این واکنش توسط بکمن و همکارانش شناخته شد.

$$NO^{\bullet} + O_2 \rightarrow ONOO^-$$

$$ONOO^- + H^+ \rightarrow ONOOH$$

$$ONOOH \rightarrow OH^{\bullet} + NO_2^{\bullet}$$

[1] Fenton
[2] Haber- Weiss

پراکسی نیتریت ترکیب اکسید کننده بسیار قوی است که می‌تواند آسیب‌های جدی به ماکرومولکول-های زیستی وارد نماید(Halliwell, B. 2007; Mata-green wood, E. 2008)

۱-۲-۲- منشا تولید رادیکال‌های آزاد

رادیکال‌های آزاد از جمله گونه‌های فعال اکسیژنی در بدن حیوانات و انسان تحت شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی تولید می‌شود. و به عنوان محصولات فرعی و غیرقابل اجتناب در جریان تنفس هوازی وسایر فرایندهای کاتابولیکی و آنابولیکی می‌باشند.

۱-۲-۲-۱- زنجیره انتقال الکترون درمیتوکندری

در شرایط فیزیولوژیکی قسمت عمده اکسیژن مصرفی بدن طی انتقال الکترون در میتوکندری به آب احیا می‌شود .اما مقدار باقی مانده می‌تواند به ROS و دیگر رادیکال‌های آزاد تبدیل شود. انرژی در سلول‌ها از طریق سوخت ATP تامین می‌شود. بنابراین برای تولیدATP در زنجیره انتقال الکترون در میتوکندری، وجود اکسیژن مولکولی به عنوان پذیرنده الکترون در این مسیر ضروری است. اکسیژن در جریان این فرآیند برای احیا شدن، نیاز به چهار الکترون دارد. وبه دو روش این مسیر را طی می-کند. در این سیستم ابتدا O_2 بوسیله سیتوکروم C اکسیداز احیاء می‌شود که جزء آنزیمی نهایی در کمپلکس آنزیمی میتوکندری می‌باشد. دراین حالت هیچ ماده واسطه فرعی تولید نمی‌شود. و بدین ترتیب ۹۵ تا ۹۸ درصد اکسیژن به آب احیاء می‌شود. اما بخش اندکی از اکسیژن حدود ۲ تا ۵ درصد می‌تواند از طریق نشت به خارج میتوکندری و با احیای ناقص به آنیون سوپراکسید یا پراکسید هیدروژن تبدیل شود. مقدار رادیکال‌های اکسیژنی که در این مسیر تولید می‌شوند، در حالت عادی

نسبتا ناچیز است. ولی اگر بافت از نظر متابولیکی فعال باشد، مصرف اکسیژن در آنها افزایش یافته و ROS بیشتری تولید می‌شوند(Mata-green wood, E. 2008; Sachdev, S. 2008).

۱-۲-۲-۲- افزایش تولید H_2O_2 در جریان بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب در پروکسی‌زوم

۱-۲-۲-۳- تولید ROS طی واکنش‌های اکسیداتیو مانند اکسیداسیون D-آمینواسیدها، تجزیه گزانتین به اسید اوریک، اتواکسیداسیون کاتکول آمینها، فعالیت P_{450} وسیکلواکسیژناز، لیپواکسیژناز و آنزیم NADPH اکسیداز

سیتوکروم P_{450} در سنتز و تجزیه هورمونهای استروئیدی و رتینوئیک اسید نقش دارد. لیپواکسیژناز آنزیمی است که در سنتز لکوترین نقش دارند. و در غشاء سلول و یا پوشش هسته یافت می-شود(Covarrubias, L. 2008).

۱-۲-۲-۴- التهاب: در جریان واکنشهای التهابی، فعالیت و مهاجرت لکوسیتها به بافت ملتهب افزایش می‌یابد. لکوسیتها حاوی آنزیم NADPH اکسیداز هستند که باعث تولید آنیون سوپراکسید می‌شوند و حضور آنزیمهای دیگری از قبیل میلوپراکسیدازها باعث ایجاد HOCl از H_2O_2 می‌شوند. در محل التهاب در اثر تجزیه گلبولهای قرمز، آهن از هموگلوبین جدا شده و در جریان واکنشهای فنتون و هابرویس باعث تولید رادیکالهای سمی‌تری می‌شوند(Harmon, D. 1999).

۱-۲-۲-۵- ایسکمی- رپرفیوژن[1]: قطع موقت جریان خون به یک عضو و خونرسانی مجدد که ممکن است در جریان سکته‌های قلبی و خونگیری از یک ارگان و فعالیتهای بدنی شدید اتفاق بیافتد، منجر به تولید رادیکال‌های آزاد در محل می‌شود(Powers, S.K. 2007; Halliwell, B. 2007).

۱-۲-۲-۷- بسیاری از عوامل دیگر مانند قرار گرفتن در معرض آلودگی‌ها، تشعشعات یونیزان واشعهUV ، مصرف برخی داروها و ترکیبات سمی، سیگار کشیدن و ورزش‌های سنگین در افزایش تولید رادیکال‌های آزاد دخالت دارند(Li, N. 2008; Halliwell, B. 2007).

۱-۲-۳- آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از ROS بر روی چربی‌ها: لیپیدهای غشا و لیپیدهای موجود در ساختار لیپوپروتئین‌های موجود در خون مانند LDL[2] با گونه‌های فعال اکسیژنی واکنش می‌دهند که نتیجه آن پراکسیداسیون لیپیدی است. پراکسیداسیون لیپیدی نتیجه یک سری از واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکالی است که با گرفتن یک اتم هیدروژن توسط رادیکال‌های آزاد از یک اسید چرب غیراشباع شروع می‌شود. بدین ترتیب رادیکال اولیه خنثی شده ولی یک رادیکال لیپید(L•) تشکیل می‌شود. رادیکال ایجاد شده به سرعت با یک مولکول اکسیژن ترکیب شده و رادیکال ناپایدار پراکسیل (LOO•) را ایجاد می‌کند که با اسیدهای چرب مجاور واکنش داده و پراکسید لیپید (LOOH) ایجاد می‌شود و بدین ترتیب واکنشهای زنجیره‌ای پراکسیداسیون لیپیدی شکل می‌گیرد که پیامد آن ایجاد آسیبهای ساختاری در غشاهای سلولی، میتوکندری، هسته‌ای و رتیکولوم آندوپلاسمیک و در نتیجه تولید اختلال‌های عملکردی در سلول می‌باشد. در جریان پراکسیداسیون لیپیدی

[1] Ischaemia-Reprefusion injury
[2] Lowe density lipoprotein

محصولات فرعی دیگری از قبیل برخی آلدهیدها مانند مالون دی آلدهید (MDA) و برخی آلکان‌ها مانند اتان و پنتان تولید می‌شود. غلظت MDA در بافت‌ها و خون نشان دهنده میزان پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشد(Sachdev, S. 2008). MDA آلدهیدی سه کربنه است که در اثر تجزیه LOOH تولید می‌شود. با تیوباربیتوریک‌اسید[۱] (TBA) واکنش داده و کمپلکس صورتی رنگی به نام TBARS[۲]ایجاد می‌کنند. از این روش به صورت رایج برای تعیین غلظت MDA استفاده می‌شود. ولی چون TBA علاوه بر مالون دی آلدهید با مولکولهای زیستی دیگری (کربوهیدرات‌ها، سیالیک اسید یا پروستوگلاندین) نیز ترکیب می‌شوند، این آزمایش کاملا اختصاصی نمی‌باشد. F_2 ایزوپروستان یک ترکیب شبه پروستوگلاندینی است که در نتیجه پراکسیداسیون اسید آراشیدونیک تولید می‌شود که این ماده نیز می‌تواند به عنوان شاخصی برای میزان پراکسیداسیون لیپیدی باشد ولی به علت پایین بودن نیمه عمر این ماده در خون اندازه‌گیری MDA متد رایج‌تری می‌باشد (Fisher, K. 2009).

۱-۲-۳-۱- اکسیداسیون LDL و بروز بیماریهای قلبی عروقی

در پلاسمای خون نقل و انتقال لیپیدها در سراسر بدن توسط ذرات لیپوپروتئینی مانند شیلومیکرونها،[۳] VLDL(لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم)، LDL (لیپوپروتئین با چگالی کم)، HDL[۴] (لیپوپروتئین با چگالی زیاد) انجام می‌شود. این ذرات دارای انواع لیپید و انواع پروتئین هستند که بخش لیپیدی آنها می‌توانند در معرض رادیکال‌های آزاد پراکسید شوند. امروزه استفاده از LDL به عنوان مدلی برای ارزیابی وضعیت آنتی‌اکسیدانی بدن کاربرد دارد زیرا LDL اکسید شده در ایجاد و

[۱] Tiobarbituric acid
[۲] Thiobarbitoric acid reactive substances
[۳] Very Lowe density lipoprotein
[۴] density lipoprotein High