بررسی اثر آب میوه و روغن دانه انار بر تراز لیپیدهای سرم خون و پیشرفت آترواسکلروز در خرگوش‌های هایپرکلسترولمی

طیبه رجبیان[1]*، حسن فلاح‌حسینی[2]، منیژه کرمی[1]، ایرج رسولی[3]، سقراط فقیه‌زاده[4]

۱- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد
۲- استادیار پژوهشی، گروه فارماکولوژی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
۳- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد
٤- دانشیار، گروه آمار زیستی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
* آدرس مکاتبه: تهران، ابتدای آزاد راه تهران - قم، روبروی حرم مطهر حضرت امام خمینی (ره)،
تلفن: ۵۵۲۷۷۵٤۹ (۰۲۱)، نمابر: ۵۵۲۷۷٦۳۹ (۰۲۱)
پست الکترونیک: rajabian@shahed.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۲/۹ **تاریخ تصویب:** ۸٦/۵/۱۱

چکیده

مقدمه: انار[1] گیاهی بومی ایران و متحمل به خشکی است و به همین علت در ایران عمدتاً در مناطق با آب و هوای کویری به خوبی کشت می‌شود. مهم‌ترین متابولیت‌های میوه انار را پلی فنل‌ها و بویژه پونیکالاژین‌ها تشکیل می‌دهند که دارای خصوصیات آنتی اکسیدانی قوی هستند. روغن موجود در دانه انار نیز یک فرآورده طبیعی منحصر به فرد و غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع است.

هدف: هدف از انجام این طرح بررسی اثر آب میوه و روغن دانه انار بر روی تراز لیپیدهای سرم خون و میزان تشکیل پلاک آترواسکلروز در خرگوش‌های هایپرکلسترولمی بود.

روش بررسی: ٤۲ سر خرگوش نر از نژاد نیوزیلند با وزن ۱/۷ الی ۲ کیلوگرم در شرایط محیطی مشابه در ٦ گروه ۷ تایی به طور تصادفی تقسیم‌بندی شدند. ۵ گروه آزمایشی با رژیم غذایی حاوی ۱ درصد کلسترول و یک گروه با غذای معمولی حیوانخانه به مدت ۲ ماه تیمار شدند. در شروع بررسی به غذای ٤ گروه آزمایشی دوزهای مختلف (۱ و ۲ درصد) آب میوه انار و روغن دانه اضافه شد و یک گروه به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. بعد از ۲ ماه و در پایان دوره آزمایش میزان لیپوپروتئین‌ها و تری گلیسرید سرم خون آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس حیوانات کشته شده و میزان تشکیل پلاک آترواسکلروز در شریان‌های آئورت آن‌ها به روش پلانیمتری اندازه‌گیری شد. تفاوت بین گروه‌ها درتیمارهای مختلف برای پارامترهای مورد آزمون در سطح معنی داری $p<۰/۰۵$ مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: تجویز آب میوه و روغن دانه در دوزهای استفاده شده هیچ‌گونه اثر معنی‌داری بر کاهش تراز لیپوپروتئین‌های خون حیوانات تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل نداشت، اما بررسی‌های مورفولوژیکی و مورفومتری نشان داد که پیشرفت آترواسکلروز در شریان‌های آئورت خرگوش‌های گروه‌های تیمار شده با آب میوه و روغن دانه انار در مقایسه با گروه کنترل به صورت معنی‌داری کاهش یافته است.

نتیجه‌گیری: تجویز آب میوه و روغن دانه انار اگرچه سبب کاهش تراز لیپدهای سرم خون حیوانات هایپروکلسترولمی نمی‌شود، اما مانع پیشرفت پلاک آترواسکلروز در شریان آئورت آن‌ها می‌شود.

گل‌واژگان: آب میوه انار، روغن دانه انار، لیپوپروتئین‌های سرم، آترواسکلروز، خرگوش‌های هایپرکلسترولمی

[1] *Punica granatum* L

[Downloaded from jmp.ir on 2025-08-30]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.12.8]

مقدمه

انار[1] یک درختچه خزان‌کننده میوه‌دار یا یک درخت کوچک آسیایی از خانواده Punicaceae است که ارتفاع آن به ۵ تا ۸ متر می‌رسد. این گیاه بومی ایران و شمال هند است و مدت‌ها است که در منطقه مدیترانه کشت می‌شود. این گیاه در حال حاضر به طور گسترده‌ای در سرتاسر ارمنستان، ایران، افغانستان، هند، مناطق خشک جنوب آسیا، مالایا، هندشرقی و آفریقای حاره کشت می‌شود [۱]. انار یکی از میوه‌های شناخته شده است که کشت و کار آن در ایران و خاورمیانه از سابقه بسیار طولانی برخوردار است. انار گیاهی متحمل به خشکی است که می‌تواند در مناطق خشک با آب و هوای مدیترانه‌ای دارای بارندگی زمستانی و یا آب و هوای دارای بارندگی تابستانی رشد کند. انار ارقام زراعی متعددی دارد که به درجه حرارت‌های یخ‌زدگی ملایم (تا ۱۰- درجه سانتی‌گراد) مقاوم هستند. در ایران انار عمدتاً در مناطق حاشیه کویر که دارای تابستان‌های گرم و خشک، آفتاب سوزان، زمستان‌های نسبتا سرد و آب و خاک شور است پرورش داده می‌شود؛ که این دامنه وسیع سازگاری از خصوصیات مطلوب اکوفیزیولوژیکی انار محسوب می‌شود [۲،۳]. میوه انار دارای یک پوست چرمی شکل و نازک است که رنگ آن از قرمز تا صورتی مایل به زرد تغییر می‌کند. داخل میوه حدود ۶۰۰ دانه وجود دارد که به وسیله صفحات غشایی سفید رنگ و تلخ مزه از یکدیگر جدا می‌شوند. دانه‌ها خوراکی بوده و با یک پوشش گوشتی، شفاف و سفید تا قرمز رنگ به نام آریل با مزه ترش- شیرین پوشیده می‌شود. در حقیقت میوه انار سته سیبگون است [۱].

قسمت‌های مختلف میوه انار حاوی متابولیت‌های مختلفی چون انواع ویتامین‌های C، B2، B1، فولیک اسید، پانتوتنیک اسید، قندها، اسیدهای آلی، آلکالوییدها، پلی‌فنل‌ها وآنتوسیانین است .مهم‌ترین پلی فنل‌های آب انار را تانن‌های هیدرولیز شده به نام پونیکالاژین‌ها[2] تشکیل می‌دهند [۴،۵]. پونیکالاژین‌ها اولین بار در پریکارپ میوه و سپس در آریل‌ها یافت شدند. آن‌ها ساختمان‌های تانن مانندی دارند که درگروه ترکیبات فنلی قرار می‌گیرند. پونیکالاژین‌های A و B مهم‌ترین اجزای فنلی میوه انار را تشکیل می‌دهند و الاژیک اسید[1]، الاژی تانن‌ها[2] و پونیکالین[3] مقادیر کمی از فنل‌های میوه را تشکیل می‌دهند. پونیکالاژین‌ها در طی متابولیسم به الاژیک اسید هیدرولیز می‌شوند. الاژیک اسید فلاوونولی از خانواده بزرگ رنگیزه‌های فنلی است که غالباً همراه تانن‌های خانواده الاژی تانن‌ها وجود دارد [۶،۷].

روغن دانه انار یک فرآورده طبیعی منحصر به فرد است که همتایی در بین دیگر روغن‌های گیاهی ندارد و یکی از شش منبع شناخته شده است که حاوی اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع است. روغن دانه انار حاوی اسیدهای چرب متنوعی است که حدود ۸۰ درصد آن‌ها را اسیدهای چرب ۱۸ کربنی با سه پیوند دوگانه متناوب تشکیل می‌دهند. اسیدهای چرب همیوغ با سه پیوند دوگانه، تری‌انوئیک[4] نامیده می‌شوند. بررسی‌ها نشان داده‌اند که اسیدهای چرب تری انوئیک روغن دانه انار از نظر فیزیولوژیکی بسیار قوی تر از اسیدهای چرب دی انوئیک چون لینولنیک اسید عمل می‌کنند. پونیسیک اسید[5] مهم‌ترین اسید چرب تری انوئیک موجود در روغن دانه انار است. این اسید چرب که یک ۹ - سیس، ۱۱- ترانس، ۱۳ سیس- لینولنیک اسید است، حدود ۷۲ درصد روغن دانه انار را تشکیل می‌دهد [۱۱، ۱۰، ۹، ۸].

بیشترین ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی آب میوه و روغن دانه انار به وجود ترکیبات فنلی از قبیل: پونیکالاژین‌ها، پونیکالین، گالیک اسید و به ویژه الاژیک اسید وابسته است. الاژیک اسید یک آنتی‌اکسیدان شناخته شده بسیاری از سته‌ها، دانه‌ها و گیاهان دیگر است که مصارف غذایی دارند [۱۲ - ۲۰].

[1] *Punica granatum* L.
[2] Punicalagins
[1] Ellagic acid
[2] Ellagitannins
[3] Punicalin
[4] Trienoic
[5] Punicic acid

[Downloaded from jmp.ir on 2025-08-30]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.12.8]

بررسی‌های فارماکولوژیکی نشان داده‌اند که آنتی‌اکسیدان‌ها، در کاهش عوامل خطر بیماری‌های قلبی- شریانی چون: تنش‌های اکسیدایتو، فشار سیستولیک خون و اکسیداسیون LDL-C بسیار موثر هستند. آنها از طریق جاروب کردن اکسیژن‌های خطرناک و گونه‌های واکنش‌کننده نیتروژن، مانع پراکسیداسیون لیپیدها از طریق ماکروفاژها و تشکیل ماکروفاژهای غنی از لیپیدپراکسید می‌شوند که همگی در ایجاد فرایند آترواسکروز نقش دارند [۲۱،۲۲،۲۳]. آب انار منبع خوبی از پلی‌فنل‌های آنتی‌اکسیدان است. بررسی‌ها نشان داده‌اند، که ارتباط معکوسی بین مصرف مواد غذایی غنی از پلی‌فنل‌ها و بیماری‌های قلبی - شریانی وجود دارد. این اثر به توانایی پلی‌فنل‌ها در ممانعت از اکسیداسیون LDL-C، تشکیل سلول‌های فوم[1] ماکروفاژها و آترواسکلروز مرتبط است. پلی‌فنل‌های آب انار به دو طریق: ۱- بر هم کنش مستقیم با لیپوپروتئین‌ها و ۲- اثر غیرمستقیم و از طریق انباشتگی آنها در ماکروفاژهای آرتریال[2] مانع اکسیداسیون LDL-C می‌شوند. پلی‌فنل‌های انار از طریق جاروب کردن اکسیژن‌های خطرناک و گونه‌های واکنش‌کننده نیتروژن ظرفیت ماکروفاژهای آرتریال را برای تغییر LDL–C و اکسیداسیون آن و هم‌چنین پراکسیداسیون لیپیدها کاهش می‌دهند. به علاوه پلی‌فنل‌های انار فعالیت آنزیم پاراکسوناز[3] سرم را افزایش می‌دهند که این امر منجر به هیدرولیز پراکسیدهای لیپید در لیپوپروتئین‌های اکسیدشده و در پلاک‌های آترواسکلروز می‌شود. شواهد زیادی وجود دارند که نشان می‌دهند پاراکسوناز دارای فعالیت ضدآترواسکلروزی است [۲٤]. Aviram و همکاران (۲۰۰۰ و ۲۰۰۲) نیز اثرات آنتی‌اکسیداتیو و آنتی‌آتروژنیک پلی‌فنل‌های انار را در بررسی‌های *in vivo* و *in vitro* در انسان و در موش‌های آترواسکلروتیک معیوب از نظر تولید آپولیپوپروتئین E نشان داده‌اند. بر طبق گزارش آنها تغذیه موش‌های آترواسکلروتیک با آب انار غنی از پلی‌فنل‌ها، به طور معنی‌داری مانع پیشرفت پلاک‌های آترواسکلروزی در آنها شده است. آنها این اثر را به نقش حفاظتی پلی‌فنل‌های انار برای اکسیداسیون LDL-C مرتبط دانسته‌اند [۲۰،۲۵].

تعداد گزارش‌های موجود در رابطه با اثرات فارماکولوژیکی روغن دانه انار بسیار اندک است. اثرات آنتی‌اکسیداتیو و بازدارندگی از فعالیت آنزیم‌های ایکوزانویید ترکیبات روغن دانه انار گزارش شده است [۱٤،۱۹،۲۰]. در یک تحقیق اثر روغن دانه انار غنی از پونیسیک اسید بر روی متابولیسم چربی در رت‌های چاق و هایپرلیپیدمیک بررسی شد. نتایج نشان داد که تغذیه رت‌ها با روغن دانه انار سبب کاهش بارز در انباشتگی تری گلیسریدها و اسیدهای چرب یک غیراشباع در کبد آنها می‌شود [۲٦]. روغن دانه انار به دلیل داشتن فیتواستروژن‌ها مانع بروز سرطان پستان می‌شود [۲۷]. در یک بررسی نیز نشان داده شده است که مصرف رژیم غذایی حاوی روغن دانه انار، به علت غنی بودن از اسیدهای چرب چند غیراشباع می‌تواند بروز سرطان کولون را در رت‌ها سرکوب کند [۲۸].

در بررسی حاضر خصوصیات فارماکولوژیکی آب میوه و روغن دانه انار بر تراز لیپیدهای سرم خون و پیشرفت آترواسکلروز در شریان آئورت خرگوش‌های هایپرکلسترولمی بررسی شد. با این امید که نتایج حاصل بتواند پتانسیل این محصول استراتژیک و با ارزش ایران را برای پیشبرد تحقیقات در زمینه مصارف دارویی آن مورد ارزیابی قرار دهد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

آب میوه انار: آب میوه تغلیظ شده (۱۰ برابر) و پاستوریزه یک رقم زراعی انار شیراز با ٦٥ °Brix (محتوی ٦٥ گرم ساکارز در ۱۰۰ گرم آب میوه) که در فصل میوه‌دهی (پاییز) جمع‌آوری شده است، از شرکت ایمان مهر (کرج، ایران) تهیه شد و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. برای تهیه آب میوه،

[1] Foam
[2] Arterial
[3] Paraoxonase

[Downloaded from jmp.ir on 2025-08-30]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.12.8]

ابتدا دانه‌ها از سایر بخش‌های میوه جداسازی شده و سپس با فشردن آب آنها گرفته می‌شود. آب میوه حاصل صاف شده، سپس پاستوریزه و به میزان مورد نظر تغلیظ و در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود.

روغن دانه انار: تهیه شده به روش cold pressed و غنی از اسیدهای چرب غیراشباع (۹۰ درصد) به ویژه ۹c، ۱۱t، ۱۳c- لینولنیک اسید همیوغ (9c, 11t, 13c-CLNA) از شرکت ایمان مهر (کرج، ایران) تهیه گردید. در این روش دانه‌ها پس از حذف بخش گوشتی (آریل) در دستگاه پرس در غیاب نور و اکسیژن و در دمای ۸۰ + درجه سانتی‌گراد روغن‌کشی می‌شوند.

تهیه حیوان

تعداد ٤٢ سر خرگوش نر نژاد سفید نیوزیلند[1] با وزن حدود kg ۲ - ۱/۷ و عمر شش ماه از موسسه تحقیقات رازی خریداری گردید. خرگوش‌ها براساس دستورالعمل‌های استاندارد مراکز تحقیقاتی در مراقبت از حیوانات در حیوان‌خانه پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی (کرج، ایران) نگهداری شدند. تمام حیوانات در قفس‌های آلومینیومی (۲ خرگوش در یک قفس) مجهز به ظروف جداگانه آب و غذا تحت شرایط کنترل شده‌ای از رطوبت (۱۰ درصد ±۵۰)، نوردهی (چرخه ۱۲ ساعته نور/ تاریکی) و درجه حرارت ۲ ± ۲۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. خرگوش‌ها برای سازگاری با محیط جدید به مدت یک هفته با غذای معمولی خریداری شده از شرکت دام پارس تغذیه شدند.

به غذای آماده پودر شده، کلسترول (Merck, Germany) و روغن مایع ذرت اضافه شد. مقدار کلسترول موجود در غذا ۱ درصد و مقدار روغن مایع مورد استفاده ۳ درصد بود (۱ گرم کلسترول + ۳ گرم روغن ذرت + ۹٦ گرم غذای استاندارد).

به مخلوط غذا، کلسترول و روغن مایع ذرت کمی آب اضافه گردید و پس از مخلوط نمودن مجدداً تحت فشار به صورت پلت تهیه گردید و پس از خشک کردن به مقدار موردنیاز (حدود ۱۰۰ گرم برای هر خرگوش) و یک مرتبه در روز به حیوانات خورانده شد.

گروه‌بندی حیوانات

بعد از یک هفته دوره زمانی سازش به شرایط آزمایشگاهی، خرگوش‌ها به صورت تصادفی در ٦ گروه (هر گروه ۷ خرگوش) زیر گروه‌بندی شدند:

۱- گروه شاهد مثبت[1]: خرگوش‌ها در این گروه با غذای حاوی ۱ درصد کلسترول تغذیه شدند.

۲ - گروه تیمار شده با ۱ درصد روغن دانه انار: در این گروه خرگوش ها با غذای حاوی کلسترول و ۱٪ روغن دانه انار تغذیه شدند.

۳- گروه تیمار شده با ۲ درصد روغن دانه انار: در این گروه خرگوش‌ها با غذای حاوی کلسترول و ۲ درصد روغن دانه انار تغذیه شدند.

٤- گروه تیمار شده با ۱ درصد آب میوه انار: در این گروه خرگوش‌ها با غذای حاوی کلسترول و ۱ درصد آب میوه انار تغذیه شدند.

۵- گروه تیمار شده با ۲ درصد آب میوه انار: در این گروه خرگوش‌ها با غذای حاوی کلسترول و ۲ درصد آب میوه انار تغذیه شدند.

٦- گروه شاهد منفی: خرگوش‌ها در این گروه تنها با غذای استاندارد حیوان‌خانه تغذیه شدند.

آزمایش‌ها روی حیوان

آزمایش‌های بیوشیمایی

پس از پایان دوره آزمایش (۲ ماه) از سرخرگ حاشیه‌ای گوش تمام خرگوش‌ها خون‌گیری شد. سرم نمونه‌های خون به روش سانتریفوژ (۲۰ دقیقه در g × ۲۵۰۰) جداسازی شدند. تراز کلسترول کل و تری گلیسرید در نمونه‌های سرم

[1] New Zealand white rabbits

[1] Positive control [2] Negative control

[Downloaded from jmp.ir on 2025-08-30]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.12.8]

با استفاده از کیت‌های تهیه شده از شرکت سهامی خاص پارس آزمون اندازه‌گیری شد. لیپوپروتئین‌های سرم (LDL-C، HDL-C و VLDL-C) به روش رسوب‌دهی لیپوپروتئین‌ها جداسازی شدند و تراز آنها به کمک کیت‌های تهیه شده از شرکت سهامی خاص آنزیمی شرکت زیست شیمی اندازه‌گیری شد. تمام آزمایش‌ها در آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه شاهد انجام گرفت.

بررسی‌های بافت شناختی

پس از پایان دوره آزمایش، خرگوش‌ها در تمام گروه‌ها به کمک کلروفرم[1] کشته و سریعاً کالبدگشایی شدند و شریان آئورت آنها از محل اتصال به قلب تا محل اتصال به پرده دیافراگم جدا گردید. پس از تمیز نمودن شریان آئورت از بافت‌های هم‌بند، آنها به طور طولی برش داده شدند و تحت فرایند رنگ‌آمیزی اختصاصی قرار گرفتند. قطعات شریان آئورت ابتدا با اتانل ۷۰ درصد شستشو داده شدند و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در محلول ۱ درصد سودان IV همراه با تکان دائم رنگ‌آمیزی شدند. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در اتانل ۸۰ درصد و نهایتاً به مدت یک ساعت در آب شستشو شدند. بعد از انجام مراحل فوق پلاک‌های آترواسکلروز در سطوح شریان آئورت به صورت لکه‌های قرمز رنگ مشخص شدند و بقیه سطوح سفید رنگ باقی ماندند [۲۹]. از شریان‌های رنگ‌آمیزی شده به کمک دوربین عکاسی دیجیتالی تصاویری تهیه شد تا پس از اسکن به روش پلانیمتری[2] درصد سطح شریان آئورت پوشیده از پلاک‌های آترواسکلروز اندازه‌گیری شود. سپس قطعات شریان آئورت رنگ‌آمیزی شده در پاکت‌های نایلونی حاوی فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند و پس از تخلیه هوای موجود در آنها، درب پاکت‌ها مسدود شده و در جای خنک نگهداری شدند.

پلانیمتری به روش کامپیوتری

با استفاده از نرم‌افزار UTSCSA Image Tool (version3 , 2003) سطوحی از شریان آئورت را که توسط پلاک‌های قرمز رنگ آترواسکلروز اشغال شده بودند، اندازه‌گیری نموده و درصد سطح پلاک آترواسکلروز نسبت به کل سطح شریان آئورت مطابق معادله زیر اندازه‌گیری شد.

X = درصد سطح پلاک آترواسکروز

A = سطح کل آئورت

B = سطح پلاک آترواسکلروز

$$X = \frac{B \times 100}{A}$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های حاصل از آزمایش‌های بیوشیمیایی سرم خون با استفاده از روش آزمون آماری ناپارامتری کراسکال – والیس[1] بررسی شدند و میانگین‌ها براساس تفاوت‌های بین گروهی در سطح $p < ۰/۰۵$ گروه‌بندی شدند. داده‌های حاصل از تشکیل پلاک آترواسکلروز با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه[2] بررسی شد و سپس با کمک آزمون دانکن[3] تفاوت‌های بین گروهی تجزیه و تحلیل شد و تیمارها بر اساس پاسخ‌های مشاهده شده در سطح معنی‌دار $p <۰/۰۵$ گروه‌بندی شدند.

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار (version 11) SPSS انجام گرفت. نمودارها نیز با استفاده از برنامه Excel رسم گردیدند.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی عوامل بیوشیمیایی سرم خون

در پایان آزمایش، پس از جمع‌آوری اطلاعات و داده‌های مربوط به اندازه‌گیری عوامل مختلف خون در خرگوش‌های تیمار شده، پردازش و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها انجام گرفت. برای بررسی اثر تداخل احتمالی سایر عوامل بر میزان عوامل بیوشیمیایی سرم خون در ابتدا و پایان آزمایش از خرگوش‌های گروه کنترل منفی خون‌گیری انجام گرفت و میزان این عوامل در خون آنها اندازه‌گیری و آنالیز آماری شد.

[1] Overdose [2] Planimetry

[1] Kruskal –Wallis [2] ANOVA
[3] DMRT

[Downloaded from jmp.ir on 2025-08-30]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.12.8]

نتایج آنالیزهای آماری تفاوت معنی‌داری در تراز عوامل بیوشیمیایی سرم خون خرگوش‌ها در گروه کنترل منفی در ابتدا و پایان آزمایش نشان ندادند ($p > ۰/۰۵$) (جدول شماره ۱). با توجه به برقرار نبودن دو فرض موردنیاز: ۱) مساوی نبودن واریانس داده‌ها داخل سایر گروه‌های مورد آزمون و ۲) نرمال نبودن توزیع داده‌ها در آن‌ها از آزمون ناپارامتری کروسکال – والیس برای تجزیه و تحلیل داده‌های استفاده گردید. نتایج آماری نشان دادند که تجویز آب میوه و روغن دانه انار در دوزهای مورد استفاده به خرگوش‌های هایپرکلسترولمی هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری را در تراز عوامل بیوشیمیایی مورد آزمون (کلسترول کل، LDL-C، HDL-C، VLDL-C، HDL-C/کلسترول کل، LDL-C/HDL-C، تری گلیسرید) در سرم خون خرگوش‌های تیمار شده نسبت به گروه شاهد مثبت به همراه نداشت ($p > ۰/۰۵$) (جدول شماره ۲).

نتایج حاصل از بررسی اثر تیمارهای مختلف بر تشکیل پلاک آترواسکلروز

پس از جمع‌آوری اطلاعات و داده‌های مربوط به اندازه‌گیری پلاک آترواسکلروز در شریان آئورت خرگوش‌های تیمار شده پردازش و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها انجام گرفت. همان‌گونه که داده‌های جدول شماره ۳، تصویر شماره ۱ و نمودار شماره ۱ نشان می‌دهند، تیمار طولانی مدت خرگوش‌های هایپرکلسترولمی با دوزهای مختلف آب میوه انار و روغن دانه انار اثر بسیار محسوس و بارزی در پیش‌گیری از تشکیل پلاک آترواسکلروز در شریان آئورت این حیوانات داشته است. به طوری که میزان تشکیل پلاک آترواسکروز در شریان آئورت خرگوش‌های تیمار شده با روغن دانه و آب میوه انار در تمام دوزهای مورد استفاده تفاوت محسوس و معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) با خرگوش‌های گروه شاهد مثبت نشان داد.

بحث

اختلالات متابولیسمی و کاهش قدرت آنتی‌اکسیدانی خون در بیماران مبتلا به چربی خون بالا منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و کاهش دفع آنها می‌شود. وجود رادیکال‌های اکسیژن و میل ترکیبی زیاد آنها به مولکول‌های آلی و ترکیبات مختلف به ویژه LDL-C منجر به اکسیداسیون آنها می‌شود. برهم‌کنش شکل اکسید شده LDL-C با لایه‌های چربی غشاء سلولی منجر به تولید اکسید لیپید در غشای سلولی شده که این اختلالات موجب تشدید آترواسکلروز و بیماری قلبی – شریانی آئورت در بیماران متبلا به چربی خون بالا می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها با حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کاهش اختلالات متابولسیمی ناشی از تنش اکسیداتیو موثر هستند. آب میوه انار حاوی مقدار زیادی از ترکیبات پلی فنلی مانند الاژیک اسید، گالیک اسید، آنتوسیانین‌ها، تانن‌ها، به ویژه پونیکالاژین‌ها می‌باشد. پونیکالاژین یکی از قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان‌ها است که از عملکرد دستگاه‌های قلب و شریانی حمایت می‌کند. پونیکالاژین قادر به تنظیم فعالیت رادیکال‌های آزاد سوپر اکسید است [۱۸،۲۰]. علاوه بر این پونیکالاژین‌ها به واسطه وجود گروه‌های هیدروکسیل در ساختمان‌شان و پایان دادن به زنجیرهٔ پراکسیداسیون (با حذف رادیکال‌های پراکسید) از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می‌کنند [۱۸]. فلاوونوییدهای موجود در آب انار علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارای اثرات باردارندگی آنزیمی (لیپواکسیژنارها) هستند که برای جلوگیری از بیماری‌های قلبی توصیه می‌شوند [۱۹].

اسیدهای چرب غیراشباع موجود در روغن دانه انار بازدارنده بیوسنتز پروستاگلاندین‌ها هستند و از فعالیت پراکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری می‌کنند. پلی‌فنل‌های استخراج شده از روغن دانه انار به علت بازدارندگی از بیوسنتز پروستاگلاندین‌ها و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی از فعالیت آنزیم‌های سیلکواکسیژنار جلوگیری می‌کنند؛ غیرفعال شدن این آنزیم‌ها از فعالیت و تقسیم سلول‌های سرطانی جلوگیری می‌کند. پلی‌فنل‌های آب انار چنین فعالیتی از خود نشان نمی‌دهند [۱۹،۳۰].

امروزه مشخص شده است که اسیدهای چرب غیر اشباع نقش مهمی در جلوگیری از بیماری‌های قلبی – شریانی آئورت دارند، زیرا آنها باعث کاهش مقدار کلسترول کل و

[Downloaded from jmp.ir on 2025-08-30]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.12.8]

جدول شماره ۱- آنالیز آماری عوامل محتلف بیوشیمیایی خون در خرگوش‌های تغذیه شده با غذای استاندارد (گروه کنترل منفی) در ابتدا و پایان آزمایش

عامل / گروه	TG	Chol	LDL-C	HDL-C	VLDL-C
کنترل منفی (n = ۷) (ابتدای آزمایش)	۱۲۶/۷۱±٤/۱۰	۱۰٤/۸۵±۷/۱۸	٥٦/٤۳±٤/۲٦	۲٦/۸٦±۱/۸٤	۱/۹٦±۰/٦۸
کنترل منفی (n = ۷) (پس از دو ماه)	۱۳٥/٤۳±۳/۸٤	۱۲۲/٤۳±٤/۱٦	٦۳/۲۹±۲/۷٤	۲٥/٤۳±۱/۰٤	۲/٤۳±۰/۱۹
P-value	۰/۸٥۷	۰/۹٥۷	۰/۹۷۰	۰/۹۲۸	۰/۹٦۱

TG: تری گلیسرید؛ Chol: کلسترول کل؛ HDL-C: لیپو پروتئین با داتسیته بالا؛ LDL-C: لیپوپروتئین با داتسیته پایین؛ VLDL-C: لیپوپروتئین با داتسیته بسیار پایین. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد (SE) نشان داده شده‌اند. تمامی عوامل سرم برحسب (mg/dL) محاسبه شده‌اند. معنی‌داری تفاوت‌ها بین میانگین‌ها در سطح p <۰/۰٥ بررسی شد.

جدول شماره ۲- داده‌های آنالیز آماری آزمون کراسکال - والیس عوامل محتلف بیوشیمیایی خون در گروه‌های مورد بررسی

گروه / عامل	کنترل مثبت (n= ۷)	روغن دانه انار ۱ درصد (n= ۷)	روغن دانه انار ۲ درصد (n= ٦)	آب میوه انار ۱ درصد (n= ۷)	آب میوه انار ۲ درصد (n= ۷)	P- value
TG	٤۰۳/۳۳±۷۱/٦۷	۲۳۷/۱٤±۲٦/۸۰	۲۹۱/٤۳±۳۳/۹۱	۲۸٥/۷۱±٤۱/۹۷	۳۲۸/٥۷±۳۲/۹۱	۰/۱٤۱
Chol	۳۰۹۸/٥۷±٤٦۲/۹۸	۱۸٤۲/۸٦±۱۲۲/٤۱	۲۲۹٥/۰۰±۲٤۸/۸٦	۲۲٥۸/۰۰±۲۲۹/۷۷	۲۲٤۹/٤۳±۱٤۲/۳۲	۰/۱۲٥
HDL-C	۱۹/۱٤±۲/٤۲	۱۳/۲۸±۱/۱۱	۱۱/٥۰±۰/٥٦	۱۳/٥۷±۲/۰۱	۲۱/۰۰±۳/٦۰	۰/٥۳۰
LDL-C	۱٦٥٥/۸٦±۹٤/۸٤	۱۳۹۷/٥۷±۹٥/۲٦	۱٥۳۲/٥۰±۱۷۹/۰٤	۱۷۰٦/٥۷±۲۰۱/۸۷	۱٦۸۹/۰۰±٦۷/٦۳	۰/٤۲٦
Chol/HDL-C	۱۸۹/٤۱±٤۷/٥۰	۱٤۳/۱۰±۱۳/۹٥	۱٦۷/٦۳±۲٥/۸٦	۱۸۸/٥۷±۳۲/٤۸	۱۲۳/۳٥±۱۸/۸۳	۰/٤٤۹
LDL-C/HDL-C	۹٤/۷٥±۱۲/٥۰	۱۰۸/٦۷±۱۰/٥۰	۱۱٥/٤٤±۱۷/۸٥	۱٤٤/٦٤±۲٤/٦٥	۹۷/۰۳±۱۷/۳۱	۰/۳۳۸
VLDL-C	٥۸/۲۹±٦/۷۸	٤۷/۲۹±۱/۳٦	۸۰/٦۷±۱٤/۳٤	٥۷/۰۰±۸/۳۹	٦٥/٥۷±٦/٥۸	۰/۱٤۰

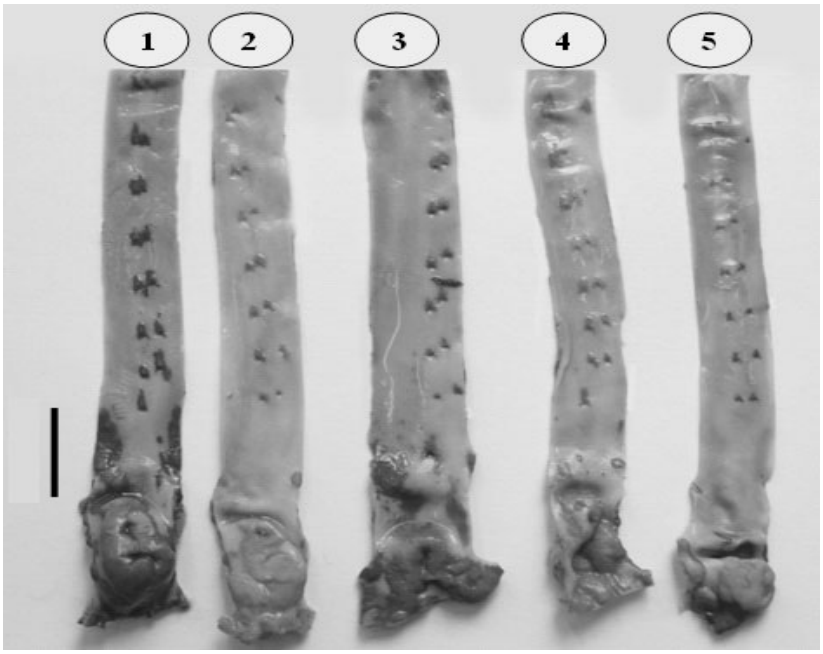
TG: تری گلیسرید؛ Chol: کلسترول کل؛ HDL-C: لیپوپروتئین با داتسیته بالا؛ LDL-C: لیپو پروتئین با داتسیته پایین؛ VLDL-C: لیپو پروتئین با داتسیته بسیار پایین. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد (SE) نشان داده شده‌اند. تمامی عوامل سرم برحسب (mg/dL) محاسبه گردیده‌اند. معنی‌داری تفاوت‌ها بین میانگین‌ها در سطح p <۰/۰٥ بررسی شد.

جدول شماره ۳- اثر تیمارهای مختلف (روغن دانه انار و آب میوه انار) بر تشکیل پلاک آترواسکلروز در شریان آئورت خرگوش‌های هایپرکلسترولمی (پس از دو ماه)

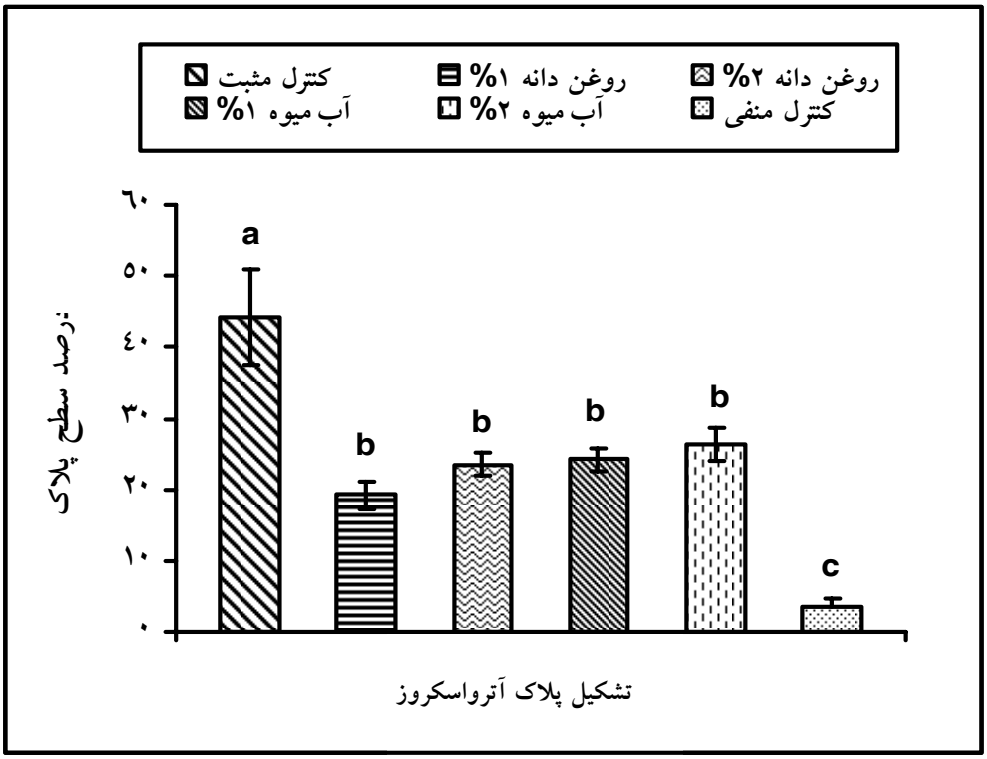
تیمار	درصد سطح پلاک آترواسکلروز
کنترل مثبت (n=۷)	٤٤/۲۳ ± ٦/٦۰[a]
روغن دانه انار ۱ درصد (n=۷)	۱۹/۲۱ ± ۱/۸٤[b]
روغن دانه انار ۲ درصد (n=۷)	۲۳/٤٦ ± ۱/٦۳[b]
آب میوه انار ۱ درصد (n=۷)	۲٤/۲۷ ± ۱/٦۲[b]
آب میوه انار ۲ درصد (n=۷)	۲٦/٤۳ ± ۲/۳۷[b]
کنترل منفی (n=۷)	۳/٦۰ ± ۱/۱۷[c]

با استفاده از آزمون دانکن مشخص شده است که تفاوت‌ها بین میانگین‌هایی که حروف مشترکی را نشان نمی‌دهند در سطح p < ۰/۰٥ معنی‌دار است. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد (SE) نشان داده شده‌اند.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-08-30]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.12.8]



شکل شماره ۱ - چگونگی تشکیل پلاک آترواسکلروز در شریان آئورت خرگوش‌های هایپرکلسترولمی مورد آزمون در گروه‌های کنترل مثبت (۱)، تیمار شده با روغن دانه ۱ درصد (۲)، روغن دانه ۲ درصد (۳)، آب میوه انار ۱ درصد (٤) و آب میوه انار ۲ درصد (٥) پس از دو ماه. مقیاس ۱ سانتی‌متر.



نمودار شماره ۱ - تغییرات سطح پلاک آترواسکلروز در شریان آئورت خرگوش‌های هایپرکلسترولمی تیمار شده با دوزهای مختلف آب میوه و روغن دانه انار پس از دو ماه. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد (SE) نشان داده شده‌اند. تفاوت‌ها بین میانگین‌هایی که حروف مشترکی را نشان نمی‌دهند در سطح $p < ۰/۰۵$ معنی‌دار است.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-08-30]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.12.8]

مقدار LDL-C در خون می‌شوند [۸].

مهم‌ترین عوامل خطر برای آترواسکلروز ترازهای بالای LDL-C و اشکال تغییر شکل یافته و اکسید شده یا تجمع یافته آن [۳۱] و هم‌چنین فعالیت پلاکت‌های خون هستند که تشکیل پلاک آترواسکلروز را سرعت می‌بخشند. تغییر شکل اکسیداتیو LDL-C نقش محوری در فرایند آتروژنزیس دارد. اشکال اکسید شدهٔ LDL-C در ترازهای بالا به وسیله ماکروفاژها برداشت شده و اساس تشکیل سلول‌های فوم بارگیری شده با لیپید را فراهم می‌سازند که در واقع شروع آترواسکلروز را در شریان آئورت هدف‌گیری می‌کنند [۳۲]. اگر چه داروهای سنتزی زیادی برای جلوگیری از افزایش میزان اکسیداسیون LDL-C خون تولید شده‌اند، اما کوشش‌های اخیر بیشتر روی شناسایی و معرفی فراورده‌های غذایی طبیعی متمرکز شده‌اند که با دارا بودن خصوصیات آنتی‌اکسیدانی قوی بتوانند از اکسیداسیون LDL-C جلوگیری کنند. بررسی‌های زیادی تاکنون برای نشان دادن ارزش‌های مفید ترکیبات طبیعی چون بتا – کاروتن، لیکوپن، ویتامین E و فلاوونوییدها به عنوان مواد آنتی‌اکسیدان قوی که می‌توانند از اکسیداسیون LDL-C جلوگیری نمایند انجام گرفته است. آب میوه و روغن دانه انار به عنوان منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی اخیراً توجه زیادی را در بین محققان جهت بررسی اثر ترکیبات موثر آنها بر روی تراز LDL-C خون، اکسیداسیون و تجمع آن و همچنین به عنوان یک منبع غذایی مطلوب جهت جلوگیری از فرایند آترواسکلروز در شریان‌های خونی به خود جلب نموده‌اند. اثرات آنتی‌اکسیداتیو آب میوه و روغن دانه انار در برابر اکسیداسیون لیپید، به ویژه LDL-C، ظرفیت جاروب‌کنندگی رادیکال‌های اکسیژن و اثر مواد موثر آنها بر تجمع و فعالیت پلاکت‌های خون در بررسی‌های متعددی نشان داده شده است [۳۳، ۲۰–۱۷، ۱۵–۱۳].

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که اگر چه تجویز آب میوه و روغن دانه انار با دوزهای مورد استفاده نتوانست بر کاهش تراز کلسترول کل، تری گلیسرید، LDL-C و VLDL-C موثر باشد اما بر روی جلوگیری از پیشرفت تشکیل پلاک‌های آترواسکلروز در شریان آئورت خرگوش‌های هایپرکلسترولمی تیمار شده به طور معنی‌داری موثر بود. Esmailzadeh و همکاران (۲۰۰۶) اثر تجویز آب میوه غلیظ شده انار را بر پروفیل چربی خون بیماران دیابتی نوع II مبتلا به هایپرلیپیدمی بررسی کردند. آنها نشان دادند که مصرف ٤٠ گرم آب میوه در روز به مدت ۸ هفته می‌تواند تاثیر معنی‌داری بر کاهش تراز LDL-C، کلسترول کل، LDL-C/HDL-C و HDL-C /کلسترول کل داشته باشد [٣٤]. Rosenblat و همکاران (۲۰۰٦) با بررسی اثر تجویز آب میوه انار بر بیماران دیابتی نشان دادند که مصرف روزانه آب میوه انار به میزان ۵۰ میلی‌لیتر به مدت ۳ ماه، بدون آنکه اثر معنی‌داری برتراز گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید خون آنها داشته باشد، سبب کاهش معنی‌داری در تراز لیپید پراکسیدهای سرم، پراکسیدهای سلولی و جذب سلولی شکل اکسید شده LDL-C و افزایش معنی‌داری بر فعالیت پاراکسوناز ۱ در سرم خون آنها می‌شود، عواملی که از پیشرفت آترواسکلروز جلوگیری می‌کنند [۳۵].Aviram و همکاران (۲۰۰۸)، ویژگی‌های آنتی‌آتروژنیک عصاره قسمت‌های مختلف گیاه انار را در مقایسه با آب میوه در موش‌های آترواسکلروتیک معیوب از نظر تولید آپولیپوپروتئین E بررسی کردند. در این بررسی موش‌ها با عصاره قسمت‌های مختلف (حاوی ۲۰۰ میکروگرم گالیک اسید / موش/ روز) به مدت ۳ ماه تغذیه شدند. تجویز آب میوه و عصاره گل بیشترین اثر کاهش‌دهندگی را به ترتیب به میزان ٣٤ و ۷۰ درصد در تشکیل پلاک آترواسکلروز داشتند. روغن دانه از این نظر اثری نشان نداد. در بین بخش‌های مختلف مورد بررسی تنها عصاره گل اثر کاهش‌دهنده بر روی تراز لیپیدهای خون داشت و عصاره سایر قسمت‌ها و آب میوه تاثیری بر تراز لیپیدهای خون نداشتند [٣٦]. نتایج پژوهش حاضر در رابطه با خصوصیات آنتی‌آتروژنیک روغن دانه با نتایج Aviramو همکاران هم‌خوانی نداشته اما در رابطه با موثر بودن بودن آب میوه بر ممانعت از پیشرفت آترواسکلروز بدون اثر بر تراز لیپیدهای خون، نتایج Rosenblat (۲۰۰٦) و همکاران و Aviram و همکاران (۲۰۰۸) را تایید می‌کند.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-08-30]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.12.8]

با توجه به فرضیه پراکسیداسیون لیپید آترواسکلروز [۳۲] که اکسیداسیون لیپید به ویژه LDL-C را علت اصلی تشکیل پلاک آترواسکلروز در عروق خونی می‌داند. به نظر می‌رسد که احتمالاً ترکیبات موجود در آب میوه و روغن دانه انار به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی با دو ساز و کار احتمالی زیر مانع تشکیل پلاک آترواسکلروز در خرگوش‌های هایپرکلسترولمی شده‌اند:

۱) جلوگیری از پراکسیداسیون LDL-C

۲) جاروب کردن رادیکال‌های خطرناک اکسیژن، سازوکار مهمی که برخی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند ویتامین E و فلاوونوییدها از طریق آن عمل می‌کنند.

نتیجه‌گیری کلی آن که تجویز آب میوه و روغن دانه انار احتمالاً می‌تواند بدون تاثیر قابل ملاحظه بر میزان غلظت لیپیدهای سرم خون حیوانات هایپروکلسترولمی به طور موثری از تشکیل پلاک آترواسکلروز در عروق پیش‌گیری کند. اگرچه برای ارایه نظرات کامل‌تر، جامع‌تر و دقیق‌تر در این مورد نیاز به بررسی‌های تکمیلی و بیشتری است.

گزارش‌ها در رابطه با مطالعه اثر روغن دانه انار برتراز کلسترول و لیپوپروتئین‌های خون و هم‌چنین اثر آن بر آترواسکلروز بسیار محدود و اندک هستند و نتایج پژوهش حاضر در این رابطه جدید است.

تشکر و قدردانی

با تشکر از مرکز تحقیقات علوم پایه دانشگاه شاهد، به منظور تامین هزینه مالی انجام این پژوهش و هم‌چنین با سپاس‌گزاری از گروه فارماکولوژی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی و دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد که ما را در انجام امور آزمایشگاهی یاری نمودند.

منابع

1. Pomegranate. http://en.wikipedia.org/wiki/pomegranate.

2. Sarkhosh A, Zamani Z, Fatahi R, Ghorbani H and Hadian J. A review on medicinal characteristics of pomegranate (*Punica granatum* L.). *J. Med. Plants* 2007; 6 (22): 13 - 24.

3. Shahr Babaki B. Genetic diversity of pomegranate genotype in Iran. Agriculture Education Publication. Karaj, Iran. 1997, pp: 265.

4. Malgrejo P, Salazar, D and Arties F. Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. *Euro. Food Res. Technol.* 2000; 211: 185 – 90.

5. Poyrazog E, Knew W and Artik. N. Organic acids and phenolic compounds in Pomegranates (*Punica granatum* L.) grown in Turkey. *J. Food Compos. and Anal.* 2002; 15: 567 - 75.

6. Artik N, Murakami H and Mori T. Determination of phenolic compounds in pomegranate juice by using HPLC**.** *Fruit Processing* 1998; 12: 492 - 9.

7. Nasr N and Ayed M. Quantitative determination of the polyphenolic content of pomegranate peel. *Z Lebensm Unters Forsch.* 1996: 203: 374 - 8.

8. Melgarejo P and Arte F. Total lipid content and fatty acid composition of oil seed from lesser known sweet pomegranate clones. *J. Sci. Food Agric.* 2000; 80: 1452 - 4.

9. El-Nemr S E, Ismail IA and Ragab M. Chemical of juice and seeds of pomegranate fruit. *Food / Nahrung, Molecular Nutrition & Food Research* 1990; 34 (7): 601 - 6.

10. Shaarawy M and Nahapetian A. Studies on pomegranate seed oil. *Ferre Seifen Ansttrichm* 1983; 85: 123 - 6.

11. Hernandez F, Melgarejo P, Olias JM and Artes F. Fatty acid composition and total lipid content of seed oil from the commercial pomegranate cultivars. *Advances in Research and Technology* 2000; 205 - 9.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-08-30]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.12.8]

12. Gil M and Tomas B. Antioxidant with phenol composition and processing. *J. Agric. Food Chem.* 2000; 48: 4581 - 9.

13. Noda Y, Kaneyuki T, Mori A and Packer A. Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidin: delphinidin, cyaniding and pelargonidin**.** *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 166 - 71.

14. Singh P and Murthy N. Jayaprakasha K. Studies on the antioxidant activity of pomegranate peel and seed extracts using *in vitro* of pomegranate peel and seed extracts using in vitro models**.** *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 81 - 6.

15. Gil M, Barberan F, Pierce B, Holcroft D and Kader A. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J. Agric. Food Chem.* 2000; 48: 4581 - 9.

16. Fan L, Dong X. Lan X, Yu Z, Wei W, Lu Z and Li D. Pharmacokinetic study of ellagic acid in rat after oral administration of pomegranate leaf extract. *J. Chromatogr.* 2003; 796: 189 - 94.

17. Negi P, Jayaprakasha G and Jena B. Antioxidant and anti mutagenic activities of pomegranate peel extracts**.** *Food Chemistry* 2003; 80: 393 - 7.

18. Anand P, Kulkarni A, Somaradhya M, Soundar D. Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant punicalagin from pith and capillary membrane of pomegranate fruit. *Food Chemistry* 2004; 214: 56 - 67.

19. Schubert S, Lansky E and Neeman I. Antioxidant and eiocsanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavoniods. *J. Ethnopharmacol***.** 1999; 66 (1): 11 - 7.

20. Aviram M, Dornfeld L, Rosenblat M, Volkova N. Kaplan M, Coleman R, Hayek T, Presser D and Fuhrman B: Pomegrante juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice**.** *Am. J. Clin. Nutr.* 2000; 71: 1062 - 76.

21. Stocker R and Keaney JF Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol. Rev.* 2004; 84 (4): 1381 - 478.

22. Cherubini A, Vigna GB, Zuliani G, Ruggiero C, Senin U and Fellin R. Role of antioxidants in atherosclerosis: epidemiological and clinical update. *Curr. Pharm. Des.* 2005; 11 (16): 2017 - 3.

23. Antelava N, Pachkoria K, Kezeli T, Nikuradze N and Shamkulashvili G. Major pathogenic links of atherosclerosis. *Georgian Med. News* 2005; 128: 72 - 9.

24. Durrington PN, Mackness B and. Mackness MI. The hunt for nutritional and pharmacological modulators of paraoxonase**.** *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002; 22 (8): 1248 - 50.

25. Aviram M, Dornfeld L, Kaplan M, Coleman R, Gaitini D, Nitecki S, Hofman A, Rosenblat M, Volkova N, Presser D, Attias J, Hayek T and Fuhrman B. Pomegranate juice flavonoids inhibit low-density lipoprotein oxidation and cardiovascular diseases: studies in atherosclerotic mice and in humans. *Drugs Exp. Clin. Res.* 2002; 28 (2-3): 49 - 62

26. Arao K, Wang YM, Inoue N, Hirata J, Cha JY, Nagao K and Yanagita T. Dietary effect of pomegranate seed oil rich in 9cis, 11trans, 13 cis conjugated linolenic acid on lipid metabolism in obese, hyperlipidemic OLETF Rats**.** *Lipids in Health and Disease* 2004; 3: 24, 1-7.

27. Nam K, rajendra M, Weiping Y, Neeman I and Livney T. Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate (*Punica granatum* L.) for human breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* 2002; 71: 203 - 17.

28. Kohono H, Suzuki, R, Yasui Y, Hosokawa M, Miyashita K and Tanaka T. Pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid suppressed chemically induced colon carcinogenesis in rats. *Cancer Sci*. 2004; 95: 6, 481- 68.

29. Holman RL, Mc Gill Jr. HC, Strong JP and

[Downloaded from jmp.ir on 2025-08-30]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.12.8]

Geer JC. Techniques for studying atherosclerotic lesions. *Lab. Invest.* 1958; 7: 42 - 7.

30. Changjiang G, Jijun Y, Jingly W, Yunfeng L, Jing X and Yugang J. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fraction of common fruits as determined by FRAP assay**.** *Nutrition Research* 2003; 23: 1726 – 819.

31. Aviram M. Modified forms of low density lipoprotein and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1993; 98: 1 - 9.

32. Aviram M. LDL-platelet interaction under oxidative stress induces macrophage foam cell formation. *Thromb. Haemost.* 1995; 574: 560 - 4.

33. Lansky E, Schubert S and Neeman I. Pharmacological and therapeutic properties of pomegranate. *Chiasm Options Mediterraneenes* 1997; 5: 231 - 5.

34. Esmaillzadeh A, Tahbaz F, Gaieni I, Alavi-Majd H and Azadbakht L. Cholesterol-lowering effect of concentrated pomegranate juice consumption in type II diabetic patients with hyperlipidemia. *Int. J. Vitam. Nutr. Res***.** 2006; 76 (3): 147 - 51.

35. Rosenblat M, Hayek T and Aviram M. Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages. *Atherosclerosis* 2006; 187 (2): 363-71.

36. Aviram M, Volkova N, Coleman R, Dreher M, Reddy MK, Ferreira D and Rosenblat M. Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are antiatherogenic: studies *in vivo* in atherosclerotic apolipoprotein e-deficient (e (0)) mice and *in vitro* in cultured macrophages and lipoproteins *J. Agric. Food Chem.* 2008 13; 56 (3): 1148 - 57.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-08-30]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.12.8]