

Original Article

The Interactive Effect of Crocin Supplementation on the Alteration of Malondialdehyde and Cardiomyocyte Catalase in Male Rats Poisoned with Hydrogen Peroxide

Afsaneh Seyfi^{1*}, Fereshteh Shahidi¹, Mojtaba Salehpour¹

¹Department of Physiology,
Faculty of Physical
Education & Sport Sciences,
Shahid Rajaei Teacher
Training University, Tehran,
Iran.

***Corresponding Author:**
Afsaneh Seyfi; Department
of Physiology, Faculty of
Physical Education & Sport
Sciences, Shahid Rajaei
Teacher Training University,
Tehran, Iran.

Email:
afsaneh.seyfi23@gmail.com

Received: 15 Jun, 2019
Accepted: 7 Aug, 2019

Abstract

Background and Objectives: Active oxygen species (ROS) are direct or indirect causes of cell damage. Continuously active heart muscle as an oxidative tissue is one of the tissues susceptible to oxidative damage. Malondialdehyde is one of the lipid peroxidation products, which is considered in the studies as an indicator of oxidative damage level. Crocin is also a carotenoid extracted from Saffron, which can affect the damage level with its antioxidant properties. In this study, the effect of crocin supplementation on the alteration of Malondialdehyde and catalase cardiomyocyte, was investigated in male rats poisoned with hydrogen peroxide.

Methods: In this study, 32 male Wistar rats (mean weight, 180±20g) were randomly divided into four groups including: control, sham (saline injections), hydrogen peroxide, and Crocin and Hydrogen peroxide. For induction of oxidative stress in the H₂O₂ groups, 1mmol/kg H₂O₂, was injected to the rats intraperitoneally every other days for 3 weeks, and in the supplement group, the rats intraperitoneally received 12.5mg/kg of crocin, every days. The alteration of MDA and CAT, was performed by ELISA technique. Data analysis was performed using one way ANOVA and Scheffe test.

Results: In this study, induction of H₂O₂ caused a significant increase in malondialdehyde and a significant decrease in the activity of catalase enzyme, and crocin consumption led to a significant reduction in malondialdehyde and significant increase in the activity of catalase enzyme in the heart tissue (p<0.01).

Conclusion: The results of this study showed that supplementation with crocin leads to strengthening of antioxidant system and reduction of oxidative stress damages.

Keywords: Crocin; Malondialdehyde; Catalase.

DOI: 10.29252/qums.13.8.5

تأثیر مکمل کروسین بر تغییرات مالون‌دی‌آلدئید و کاتالاز کاردیومیوسیتی رت‌های نر مسموم‌شده با پراکسید هیدروژن

افسانه سیفی^۱، فرشته شهیدی^۱، مجتبی صالح‌پور^۱

چکیده

زمینه و هدف: گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، از دلایل آسیب مستقیم یا غیرمستقیم به سلول هستند. عضله قلب با فعالیت مداوم، یک بافت اکسیداتیو و یکی از بافت‌های مستعد جهت بروز آسیب‌های اکسیداتیو است. مالون‌دی‌آلدئید یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپید بوده که در مطالعات متعدد به عنوان نشانگر سنجش میزان آسیب اکسایشی در نظر گرفته می‌شود. کروسین نیز کاروتنوئید استخراج‌شده از زعفران است که می‌تواند با خواص آنتی‌اکسیدانی بر میزان آسیب تأثیرگذار باشد. در این مطالعه تأثیر مکمل کروسین بر تغییرات مالون‌دی‌آلدئید و کاتالاز کاردیومیوسیتی رت‌های نر مسموم‌شده با پراکسید هیدروژن بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۲ سر رت نر نژاد ویستار (با میانگین وزنی 180 ± 20 گرم) به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، شم (تزریق سالین)، آب‌اکسیژنه، آب‌اکسیژنه و کروسین تقسیم شدند. برای القای فشار اکسیداتیو در گروه‌های آب‌اکسیژنه، رت‌ها H_2O_2 را به میزان یک میلی‌مول بر کیلوگرم در طول ۳ هفته، یک‌روز در میان و در گروه مکمل، کروسین را با دوز ۱۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم هر روز به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. سنجش میزان CAT و MDA به روش ELISA انجام شد. داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه و تعقیبی شفه تحلیل شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه، القای H_2O_2 باعث افزایش معنی‌داری سطح مالون‌دی‌آلدئید و کاهش معنی‌داری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز شد. مصرف کروسین منجر به افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و کاهش معنی‌دار سطح مالون‌دی‌آلدئید در بافت قلب رت‌های مسموم‌شده با H_2O_2 گردید ($p < 0.01$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد مصرف مکمل کروسین، تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش آسیب‌های استرس اکسیداتیو را در پی دارد.

کلیدواژه‌ها: کروسین؛ مالون‌دی‌آلدئید؛ کاتالاز.

^۱گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

افسانه سیفی؛ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
afsaneh.seyfi23@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۸/۳/۲۵

تاریخ پذیرش: ۹۸/۵/۱۶

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Seyfi A, Shahidi F, Salehpour M. The interactive effect of crocin supplementation on the alteration of malondialdehyde and cardiomyocyte catalase in male rats poisoned with hydrogen peroxide. Qom Univ Med Sci J 2019;13(8):5-13. [Full Text in Persian]

مقدمه

بیماری‌های قلبی - عروقی، از عوامل متعددی ناشی می‌شود. استرس اکسیداتیو رادیکال‌های آزاد در مسیرهای سیگنالی مشترکی نقش داشته و تأثیر عمده‌ای در مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و پاتوفیزیولوژیکی عملکرد قلب و اختلالات آن دارند (۱). فشار اکسایشی ناشی از عدم تعادل بین سیستم‌های تولیدکننده ترکیبات اکسیدان و به دام‌اندازنده رادیکال آزاد بوده که با افزایش تولید رادیکال آزاد یا کاهش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و یا هر دو همراه است (۲). این رادیکال‌ها می‌توانند به صورت مستقیم به اجزاء و محتویات سلولی آسیب برسانند (۳)، و منجر به تغییر ساختار مولکول‌های مهم زیستی نظیر چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک شوند (۴). یکی از گونه‌های اکسیژن فعال که باعث فشار اکسایشی می‌شود؛ پراکسید هیدروژن (H_2O_2) است. Janero و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند H_2O_2 می‌تواند موجب آسیب جدی به سارکولمای سلول‌های قلبی گردد (۵). عضله قلب با فعالیت مداوم، یک بافت اکسیداتیو و یکی از بافت‌های مستعد جهت بروز آسیب‌های اکسیداتیو است (۶). از مهم‌ترین محصولات تولیدی در اثر پراکسید شدن چربی‌ها می‌توان به لیپید هیدروپراکسیدها اشاره کرد که اغلب در اثر اکسید شدن اسیدهای چرب غیراشباع موجود در فسفولیپیدها و استر کلسترول ایجاد شده، ناپایدار و قابل تبدیل به محصولات ثانویه‌ای نظیر مالون‌دی‌آلدئید (MDA) نیز می‌باشد. مالون‌دی‌آلدئید یک دی‌آلدئید سه کربنه و یکی از محصولات عمده ناشی از پراکسید شدن لیپیدها بوده که اغلب از آن برای بررسی سنجش میزان پراکسید شدن لیپیدی استفاده می‌شود (۷). آنتی‌اکسیدان‌ها که از عوامل اصلی خنثی‌کننده آسیب‌های اکسیداتیو هستند به دو دسته دفاع آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی (شامل مولکول‌های کوچک نظیر ویتامین E، اسکوربات و گلوکاتایون) و دیگری دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی سلول متشکل از سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) تقسیم می‌شوند (۲). شواهد بسیاری نشان می‌دهند در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک متفاوت، از جمله هنگام فعالیت‌های هوازی، تمرین در ارتفاع زیاد و عدم تحرک، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نمی‌توانند به صورت کامل از

آسیب‌های اکسایشی پیشگیری کنند (۸). همچنین گزارش شده است مصرف ترکیبات آنتی‌اکسیدانی سبب تقویت سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی بدن می‌شود؛ از این رو طی سال‌های اخیر، استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی برای افزایش توان دفاع ضد اکسایشی و کاهش آسیب‌های اکسایشی هنگام فعالیت‌های بدنی مورد بررسی قرار گرفته است (۹). کرونین که حدود ۳/۵٪ وزن کلاله خشک زعفران را تشکیل می‌دهد، از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده رنگ زعفران و جزء معدود کاروتنوئیدهای محلول در آب موجود در طبیعت است. پژوهش‌های متعدد نشان داده‌اند کرونین زعفران با داشتن خواص دارویی گوناگون، برای درمان‌های بالینی قابل استفاده است. از خواص کرونین‌ها می‌توان به آثار ضد آتروژنی و ضد لخته‌ای، محافظت‌کنندگی سیستم عصبی و نورون‌ها، بهبود رفتارهای یادگیری و حافظه، کاهش لیپیدهای سرم، بهبود کارکرد کلیه، بهبود جریان خون در شبکه و عملکرد چشم، ضد التهاب، آنتی‌اکسیدان، ضد سرطان و ضد توموری اشاره کرد که به طور گسترده در یک مقاله مروری به آن‌ها اشاره شده است (۷، ۱۰). در طب سنتی عنوان شده زعفران قادر است سلامت قلب و عروق را حفظ کند. همچنین از زعفران به عنوان عامل کاردیوتونیک، در درمان تپش قلب نیز استفاده می‌شود (۱۰، ۱۱). نتایج مطالعه کفاشی و همکاران (سال ۱۳۹۵) با هدف ارزیابی تأثیر کرونین بر تمامی متعاقب انسداد کامل یک طرفه حالب روی ۴۰ سر موش صحرایی نر ویستار، نشان داد تیمار با کرونین باعث کاهش معنی‌داری سطح مالون‌دی‌آلدئید و بهبود سطوح آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شود (۱۲). در پژوهشی دیگر توسط Zheng و همکاران (سال ۲۰۰۷) مشخص گردید کرونین آسیب اکسیداتیو - نیترا تیو ناشی از بازخونسازی را در بافت مغز کاهش می‌دهد (۱۳). با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای در زمینه تأثیر محافظتی کرونین در برابر آسیب‌های ناشی از H_2O_2 که هم به صورت اندوژن در بدن تولید شده و هم به شکل اگزوژن باعث آسیب به قلب می‌شوند در موش صحرایی انجام نشده است؛ پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات محافظتی کرونین در برابر آسیب H_2O_2 در بافت قلب انجام شد. در این مطالعه خاصیت دارویی کرونین در محافظت از بافت قلب مورد ارزیابی قرار گرفت که در صورت تأیید می‌توان از آن به عنوان یک منبع

قابل دسترسی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی استفاده کرد.

روش بررسی

در این پژوهش تجربی، ۳۲ موش نر صحرایی جوان نژاد ویستار (محدوده وزنی ۲۰۰-۱۶۰ گرم) از مرکز آزمایشگاهی هیستونوتیک خریداری و در حیوانخانه دانشکده تربیت‌بدنی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، به تعداد ۴ سر رت در هر قفس مخصوص از جنس پلی‌کربنات شفاف (به ابعاد ۱۵×۱۵×۳۰ سانتی‌متر) ساخت شرکت رازی‌راد به‌طور جداگانه تحت شرایط استاندارد (دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتیگراد، رطوبت ۶۰-۴۰٪ و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲-۱۲ ساعت) نگهداری شدند.

در این مطالعه، تمامی قوانین راهنمای انستیتوی ملی سلامت مربوط به نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید و تمامی آزمایش‌ها بر روی حیوانات، طبق دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید پژوهشگاه علوم ورزشی (با کد اخلاق ۵۳۵۷۴ مرکز علوم تحقیقات) صورت گرفت.

به‌منظور سازگاری با محیط، همچنین رسیدن به میانگین وزنی، دو هفته پس از انتقال موش‌های صحرایی به آزمایشگاه، آزمودنی‌ها با توجه به ماهیت و اهداف مطالعه، به‌طور تصادفی به چهار گروه شامل: گروه کنترل، گروه شم (تزریق سالین)، گروه دریافت‌کننده آب‌اکسیژنه، گروه دریافت‌کننده آب‌اکسیژنه + مکمل کروسین تقسیم شدند. از آنجا که این پژوهش بر روی بافت قلب انجام شد، امکان استفاده از پیش‌آزمون وجود نداشت. هدف از تعیین گروه کنترل نیز بیان سطوح طبیعی این دو شاخص بود؛ لذا در گروه کنترل هیچ‌گونه مداخله‌ای صورت نگرفت. به‌موازات تزریق پراکسید هیدروژن و کروسین در گروه‌های ۳ و ۴، به موش‌های گروه شم، سالین تزریق شد. هدف از وجود گروه شم، حذف اثر احتمالی استرس تزریق به‌عنوان عامل مداخله‌گر بود.

برای گروه‌های القای H_2O_2 ، تزریق داخل صفاقی در سمت راست به میزان یک میلی‌مول بر کیلوگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن برای سه هفته، به‌صورت یک‌روز در میان انجام شد (۱۴). داروی کروسین به شکل پودر آماده در ویال مخصوص از شرکت سیگمای آلمان (SIGMA) تهیه گردید و برای گروه کروسین، دوز ۱۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت روزانه با ۵ سی‌سی

آب مقطر، رقیق و به‌وسیله سرنگ انسولین به‌صورت تازه در ناحیه صفاق تزریق شد که این تزریق در گروه ترکیب القای کروسین و پراکسید هیدروژن، بلافاصله بعد از تزریق پراکسید هیدروژن، در سمت چپ طی مدت سه هفته صورت گرفت (۱۵). با توجه به اینکه در مطالعات، پراکسید هیدروژن تأثیر دوگانه‌ای نشان داده است؛ بنابراین مداخله‌ای با تزریق کروسین ندارد (۱۶).

موش‌ها پس از ۱۲-۱۰ ساعت ناشتایی با قرار گرفتن در محفظه گاز CO_2 قربانی شدند (۱۷). استنشاق گاز CO_2 ، یکی از روش‌های رایج و تصویب‌شده برای مرگ آسان موش‌های آزمایشگاهی و سایر جوندگان در آزمایشگاه است (۱۸).

پس از شکافتن حفره شکمی، قلب موش‌ها به‌دقت جدا و بدون ضامن خارج گردید و بعد از شست‌وشو با آب مقطر، در نیتروژن مایع، منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی در ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند (۱۷). پس از انجماد، بافت قلب توزین و جهت جلوگیری از تخریب پروتئین‌ها به کمک بافر محتوی کوکتیل آنتی‌پروتئاز (با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در یک میلی‌مول بافر) به‌صورت دستی هموژن گردید (۱۹). این محلول در دمای ۴ درجه سانتیگراد در یخچال به مدت یک‌ساعت نگهداری شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. اجزای بافت ته‌نشین شدند، سپس پروتئین‌ها و بافر لیزکننده که به‌صورت یک‌دست در بالا قرار داشتند، به‌سرعت به فریزر (دمای ۸۵- درجه سانتیگراد) منتقل و تا زمان سنجش سطوح مالون‌دی‌آلدئید و میزان فعالیت آنزیم آکسیدانی کاتالاز در این شرایط نگهداری شدند. سنجش میزان مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از کیت محصول کمپانی زل بایو آلمان (Zell Bio) با حساسیت ۰/۱ میکرومولار و سنجش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نیز با استفاده از کیت‌های محصول کمپانی زل بایو آلمان

(Zell Bio) با حساسیت ۰/۵ یونیت بر میلی‌لیتر و طبق دستورالعمل شرکت تولیدکننده کیت انجام شد. میزان مالون‌دی‌آلدئید بافتی بر حسب میکرومولار و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با واحد یونیت بر میلی‌لیتر سنجیده شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳، آزمون کولموگروف - اسمیرنوف (جهت توزیع طبیعی)، آزمون واریانس یک‌طرفه (برای بررسی فرضیه‌های آماری) و

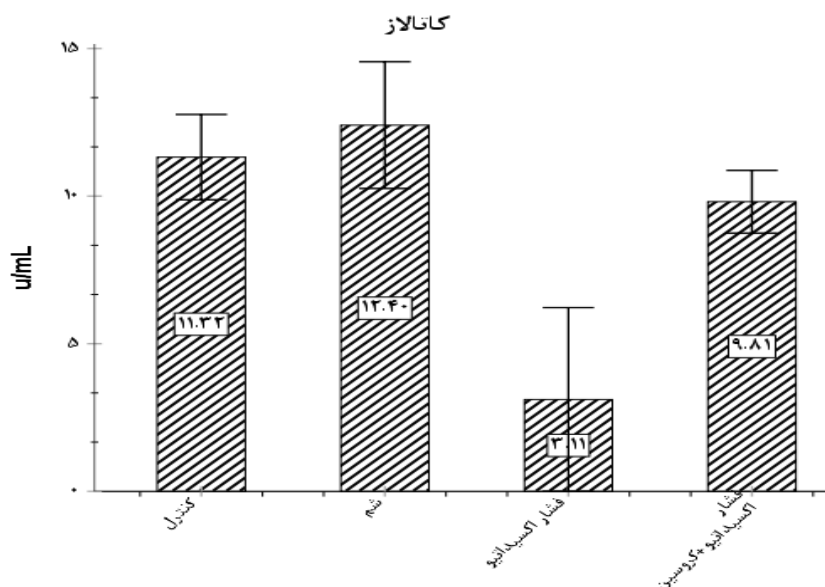
تعقیبی شفه (جهت تعیین محل تفاوت) تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری، $p \leq 0/01$ جهت رد فرض صفر در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

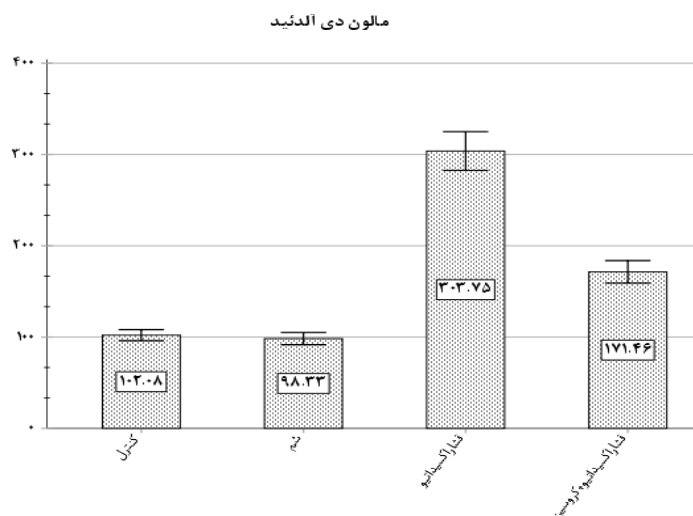
نمودارهای شماره ۱ و ۲ تأثیر درمان با کروسین در موش‌های مسموم شده با پراکسید هیدروژن را نشان می‌دهند. میانگین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بافت قلب چهار گروه آزمایشی در نمودار شماره ۱ و سطوح مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب در نمودار شماره ۲ نمایش داده شده است. براساس نتایج آزمون شفه، نبود تفاوت معنی‌دار بین دو گروه کنترل و شم در میزان فعالیت آنزیم CAT و سطوح MDA، حاکی از عدم تأثیر عامل تزریق بر سطوح این دو شاخص بود که در نمودارها مشهود است. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بافت قلب در گروه فشار اکسیداتیو و در پی القای پراکسید هیدروژن در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌داری داشت ($p \leq 0/01$). در گروه درمان شده با کروسین، میزان فعالیت کاتالاز نسبت به گروه فشار اکسیداتیو افزایش معنی‌داری نشان داد.

همچنین سطح مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب در گروه فشار اکسیداتیو و در اثر القای پراکسید هیدروژن نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی‌داری یافت ($p \leq 0/01$). درمان با کروسین سبب گردید میزان مالون‌دی‌آلدئید به‌طور معنی‌داری کاهش یابد ($p \leq 0/01$). نتایج آزمون تعقیبی شفه درخصوص شاخص‌های مالون‌دی‌آلدئید و میزان فعالیت کاتالاز؛ بین گروه کنترل و گروه فشار اکسیداتیو، بین گروه فشار اکسیداتیو و گروه فشار اکسیداتیو + کروسین، تفاوت معنی‌داری نشان داد ($p \leq 0/01$). ارزیابی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و سطح پراکسیداسیون لیپیدی بافت قلب نشان داد مصرف مکمل کروسین باعث افزایش معنی‌داری فعالیت کاتالاز و کاهش معنی‌داری سطح مالون‌دی‌آلدئید شده است.

با القای پراکسید هیدروژن در گروه فشار اکسیداتیو، میزان فعالیت کاتالاز کاهش چشمگیری داشت و میانگین فعالیت آن از ۱۱/۳۲ به ۳/۱۱ رسید که با مصرف کروسین، میزان فعالیت آن با افزایش ۲۱۵/۴۳ درصدی نسبت به گروه فشار اکسیداتیو همراه بود (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱: میانگین میزان فعالیت کاتالاز بافت قلب موش صحرایی در چهار گروه آزمایشی



نمودار شماره ۲: میانگین میزان مالون دی آلدئید در بافت قلب موش صحرایی در چهار گروه آزمایشی

معنی داری را بین این دو گروه در سطح $p \leq 0.001$ نشان داد؛ بنابراین با توجه به فرضیه های این پژوهش، مصرف مکمل کروسین باعث افزایش معنی دار میزان فعالیت کاتالاز و کاهش معنی دار میزان مالون دی آلدئید می شود. در توجه این امر باید عنوان کرد طبق تحقیقات صورت گرفته، مصرف مکمل های آنتی اکسیدانی ممکن است از طریق کاهش تولید گونه های فعال اکسیژن، بلکه کردن پراکسیداسیون لیپیدی، تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی، مداخله در متابولیسم گلیکوژن جهت تأمین انرژی مورد نیاز سلول های فعال و حفظ پایداری ساختار میتوکندری در جلوگیری از اختلالات ناشی از آسیب های اکسایشی مفید باشند (۲۰). کروسین به دلیل ساختار ویژه کاروتنوئیدی خود، رادیکال های آزاد را به دام می اندازد؛ بنابراین یک آنتی اکسیدان بالقوه محسوب می گردد (۲۱). همچنین کاروتنوئیدها با خنثی کردن اکسیژن های منفرد، انتقال الکترون، دریافت و اضافه کردن الکترون می توانند به عنوان آنتی اکسیدان عمل کنند (۲۲). در بخش دیگری از نتایج پژوهش حاضر، کاهش میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و بروز استرس اکسیداتیو متعاقب القای پراکسید هیدروژن مشاهده شد. از آنجا که حذف پراکسید هیدروژن را آنزیم کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز با تبدیل آن به آب و اکسیژن انجام می دهند (۲۳)؛ لذا کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، نشان دهنده نارسایی سیستم دفاع آنتی اکسیدان برای مقابله با گونه های فعال اکسیژن و در نتیجه افزایش میزان مالون دی آلدئید است.

با القای پراکسید هیدروژن، میزان مالون دی آلدئید در بافت قلب افزایش چشمگیری داشت و میزان آن از میانگین ۱۰۲/۰۸ به ۳۰۳/۷۵ رسید که با مصرف کروسین، میزان آن کاهش ۷۷/۱۶ درصدی را در پی داشت (نمودار شماره ۲).

بحث

نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد القای پراکسید هیدروژن که نوعی القای استرس اکسیداتیو برون زاد است، با کاهش معنی دار فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت قلب همراه است. مالون دی آلدئید نیز به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید در موش های مسموم شده با پراکسید هیدروژن نسبت به گروه شاهد، افزایش معنی داری نشان داد که حاکی از افزایش پراکسیداسیون لیپیدی است. براساس نتایج به دست آمده از این پژوهش، مصرف مکمل کروسین به عنوان آنتی اکسیدان برون زاد، مقادیر مالون دی آلدئید بافت قلب را که متعاقب القای پراکسید هیدروژن افزایش معنی داری داشت، به طور معنی داری کاهش داد. همچنین میزان فعالیت کاتالاز با القای کروسین، افزایش معنی داری نشان داد. با توجه به نتایج آزمون شفه، اختلاف میانگین در میزان MDA بافت قلب بین گروه فشار اکسیداتیو و گروه مکمل کروسین + فشار اکسیداتیو، حاکی از تفاوت معنی دار در سطح $p \leq 0.001$ بین این دو گروه بود. همچنین اختلاف میانگین در میزان CAT بافت قلب، تفاوت

در تحقیق Boussabbeh و همکاران با بررسی اثر محافظتی کروسین بر استرس اکسیداتیو بافتی القاشده به‌وسیله پاتولین، مشخص گردید کروسین باعث کاهش پراکسیداسیون لیپید و اکسیداسیون پروتئین شده است (۲۶). در پژوهش کفاشی نیز تیمار با کروسین توانست میزان MDA در بافت کلیه متعاقب انسداد کامل حالب را به‌طور معنی‌داری کاهش و آنتی‌اکسیدان‌ها را در این بافت به مقدار طبیعی برگرداند (۱۲). در مطالعه خسروی و همکاران نیز مصرف عصاره زعفران به‌تنهایی نتوانست تأثیر معنی‌داری بر سطوح پایه‌ای شاخص مالون‌دی‌آلدئید داشته باشد (۲۷). علت این اختلاف را می‌توان به میزان دوز مصرفی، تعداد وعده‌های مصرفی و نحوه مصرف مربوط دانست. گرچه در پژوهش مذکور مصرف زعفران به همراه فعالیت هوازی این تأثیر را دارا بود (۲۷).

با توجه به نمودارهای شماره ۱ و ۲، اگرچه کروسین در این پژوهش از کاهش و افزایش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص افزایش گونه‌های فعال اکسیژن فراتر از ظرفیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی جلوگیری کرد، اما میزان این دو شاخص با سطح طبیعی در گروه کنترل فاصله داشت، از آن‌جاکه در گروه کنترل، هیچ مداخله‌ای صورت نگرفت؛ بنابراین سطوح این دو شاخص در گروه کنترل را می‌توان به‌عنوان سطوح طبیعی این دو شاخص مدنظر قرار داد؛ لذا این احتمال وجود دارد که با مصرف کروسین طی دوره زمانی طولانی‌تر و یا با دوز مصرفی بیشتر، سطوح پراکسیداسیون و میزان کاتالاز به سطح طبیعی آن برسد؛ لذا به پژوهشگران پیشنهاد می‌گردد در مطالعات بعدی این امر را موردتوجه قرار دهند.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد مصرف مکمل کروسین می‌تواند منجر به جلوگیری از افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، همچنین کاهش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت قلب در اثر استرس اکسایشی شود که این نتایج به دلیل بهبود سیستم ضد اکسایشی و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد در بافت قلب حیاتی بوده و در پیشگیری از بیماری‌های قلبی - عروقی نیز به‌عنوان یکی از عوامل اصلی مرگ‌ومیر در دنیا مؤثرند.

در پژوهش حاضر فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه مسموم‌شده با پراکسید هیدروژن نسبت به گروه شاهد، کاهش معنی‌داری در پی داشت، اما میزان کاتالاز در گروه مسموم درمان‌شده با کروسین نسبت به گروه مسموم، افزایش معنی‌داری نشان داد. کاتالاز که مسئول تبدیل آب‌اکسیژنه به آب و اکسیژن است، در سلول‌های تمامی پستانداران وجود دارد (۲۴). فعالیت کاتالاز باعث جلوگیری از تشکیل رادیکال هیدروکسیل، از طریق تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن دو اتمی می‌شود (۲۳).

با توجه به موارد اشاره‌شده، می‌توان گفت کروسین از یک‌سو به‌لحاظ ساختار کاروتنوئیدی خود، از راه تبادل الکترون با رادیکال‌های آزاد، به‌صورت مستقیم آثار آنتی‌اکسیدانی خود را اعمال کرده و از آسیب‌های ناشی از آن جلوگیری می‌کند و از سوی دیگر، با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌تواند از آسیب‌های اکسایشی پیشگیری کند. کروسین با تقویت فعالیت آنزیم کاتالاز، به‌طور معنی‌داری سبب مهار پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش مالون‌دی‌آلدئید می‌شود؛ از این‌رو، کروسین اثری محافظتی داشته که با مهار رادیکال‌های آزاد حاصل از القای پراکسید هیدروژن باعث افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شود. Goyal و همکاران در سال ۲۰۱۰ با بررسی اثر حفاظتی کروسین بر روی قلب، نشان دادند کروسین (با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز) طی ۲۱ روز در سمیت قلبی ایجادشده با ایزوپروترونول با تثبیت وضعیت ردوکس سلول که در نتیجه ایزوپروترونول دچار اختلال شده، از طریق بهبود سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن عمل می‌کند (۲۵). در پژوهش حاضر، کروسین نقش تعدیل‌کننده‌ای در تولید گونه‌های فعال اکسیژن داشت و باوجود القای فشار اکسیداتیو (H_2O_2) از افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری کرد. در نتیجه می‌توان گفت کروسین می‌تواند موجب پیشگیری از عوارض ناشی از القای پراکسید هیدروژن شود. نتایج مطالعه حاضر، گزارش سایر محققین را درخصوص اثرات آنتی‌اکسیدانی و زدایش رادیکال‌های آزاد توسط کروسین مورد تأیید قرار می‌دهد. یافته‌های این مطالعه با نتایج پژوهش‌های Boussabbeh و همکاران (سال ۲۰۱۶)، کفاشی و همکاران (سال ۲۰۱۶) و Goyal و همکاران (سال ۲۰۱۰) همسو بود (۲۶، ۲۵، ۱۲).

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر مجید کاشف بابت رهنمودهای ارزشمندشان

تشکر و قدردانی می‌کنند.

این پژوهش با همکاری دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی تهران

انجام شد؛ لذا نویسندگان از کارکنان محترم این دانشگاه، همچنین

References:

1. Kelly F. Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects. 2003;60(8):612-16. PubMed
2. Shahsavari G, Toolabi A, Raufi A. The assessment of serum levels of malondialdehyde and total antioxidant capacity after the use of atorvastatin in patients with coronary artery stenosis. 2015;16(4):18-26. Link
3. Montalvo-Jave EE, Escalante-Tattersfield T, Ortega-Salgado JA, Pina E, Geller DA. (2008). Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury. J Surg Res 147:153-9. PubMed
4. Grune T, Reinheckel T, Davies KJ. Degradation of oxidized proteins in mammalian cells. FASEB J 1997;11(7):526-34. PubMed
5. Janero DR, Hreniuk D, Sharif HM. Hydrogen peroxide-induced oxidative stress to the mammalian heart-muscle cell (cardiomyocyte): Lethal peroxidative membrane injury. J Cell Physiol 1991;149(3):347-64. PubMed
6. Ascensão A, Ferreira R, Magalhães J. Exercise - induced cardio protection biochemical, morphological and functional evidence in whole tissue and isolated mitochondria. Int J Cardiol 2007;117(1):16-30. PubMed
7. Taheri F, Zahra Bathaie S, Ashrafi M, Ghasemi E. Assessment of crocin toxicity on the rat liver. Modares J Med Sci Pathobiology 2014;17(3):67-79. [Full Text in Persian] Link
8. Tokmakidis SP, Volaklis KA. Training and detraining effects of a combined-strength and aerobic exercise program on blood lipids in patients with coronary artery disease. J Cardiopulm Rehabil 2003;23(3):193-200. PubMed
9. Yavari A, Javadi M, Mirmiran P, Bahadoran Z. Exercise-induced oxidative stress and dietary antioxidants. Asian J Sports Med 2015;6(1):e24898. PubMed
10. Bathaie SZ, Mousavi SZ. New applications and mechanisms of action of saffron and its important ingredients. Crit Rev Food Sci Nutr 2010;50(8):761-86. PubMed
11. Javadi B, Sahebkar A, Emami SA. A survey on saffron in major Islamic traditional medicine books. Iran J Basic Med Sci 2013;16(1):1-11. PubMed
12. Kafashi ER, Mohajeri D. Experimental study on protective effects of Crocin on nephropathy induced by complete unilateral ureteral obstruction in the Rats. J Compar Pathobiol Iran 2016;12(51):1769-82. [Full Text in Persian] Link
13. Zheng YQ, Liu JX, Wang JN, Xu L. Effects of crocin on reperfusion-induced oxidative/nitrative injury to cerebral microvessels after global cerebral ischemia. Brain Res 2007;1138:86-94. PubMed
14. Radák Z, Sasvári M, Nyakas C, Pucsok J, Nakamoto H, Goto S. Exercise preconditioning against hydrogen peroxide-induced oxidative damage in proteins of rat myocardium. Arch Biochem Biophys 2000;376(2):248-51. PubMed
15. Lari P, Abnous K, Imenshahidi M, Rashedinia M, Razavi M, Hosseinzadeh H, et al. Evaluation of diazinon-induced hepatotoxicity and protective effects of crocin. Toxicol Ind Health 2015;31(4):367-76. PubMed
16. Verma SK, Bordia AJ. Antioxidant property of saffron in man. Indian J Med Sci 1998;52(5):205-7. PubMed

17. Akbari M, Shahidi F, Rajabi H, Kashef M, Mazaheri Z. The simultaneous effect of six-week forced swimming and crocin supplementation on the expression of 3-cardiomyocyte gene caspase 3 in male rats infected with hydrogen peroxide. *Razi J Med Sci* 2018;25(9):26-36. [Link](#)
18. Mobasher M, Sasani P, Aledavood SJ, Aramesh K, Larijani B. Revision of the ethical guidelines for working with laboratory animals. *Iran J Ethics Med History* 2012;5(Supple):70-111. [Full Text in Persian] [Link](#)
19. Soleimani H, Talebi-Garakani E, Safarzade A. The effect of endurance training and whey protein consumption on levels of antioxidant enzymes and oxidative stress in the heart muscle of rats fed a high-fat diet. *Iran J Nutr Sci Food Technol* 2018;13(2):1-10. [Link](#)
20. Messina S, Altavilla D, Seminara P, Minutoli L, Monici MC, Bitto A, et al. Lipid peroxidation inhibition blunts nuclear factor-kb activation, reduces skeletal muscle degeneration, and enhances muscle function in mice. *Am J Pathol* 2006;168(3):918-26. [PubMed](#)
21. Bathaie SZ, Shams A, Moghadas Zadeh Kermani F. Crocin bleaching assay using purified di-gentiobiosyl crocin (-crocin) from iranian saffron. *Iran J Basic Med Sci* 2011;14(5):399-406. [PubMed](#)
22. Nijveldt RJ, Van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 2001;74(4):418-25. [PubMed](#)
23. Warner DS, Sheng H, Batinic-Haberle I. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *J Exp Biol* 2004;207(18):3221-31. [PubMed](#)
24. Shiroo A, Salami S, Khadem Ansari M, Ghaderi Pakdel F, Khadem Vatani K, Saadatian R, Karimipour M. Protective effect of vitamin e on diabetes induced apoptosis and oxidative stress in rat heart tissue. *Iran J Endocrinol Metabol* 2008;10(1):67-74. [Link](#)
25. Goyal SN, Arora S, Sharma AK, Joshi S, Ray R, Bhatia J, Kumari S, Arya DS. Preventive effect of crocin of *Crocus sativus* on hemodynamic, biochemical, histopathological and ultrastructural alterations in isoproterenol-induced cardio toxicity in rats. *Phytomedicine* 2010;17(3-4):227-32. [PubMed](#)
26. Boussabbeh M, Salem IB, Belguesmi F, Bacha H, Abid-Essefi S. Tissue oxidative stress induced by patulin and protective effect of crocin. *Neurotoxicology* 2016;53:343-9. [PubMed](#)
27. Khosravi A, Mirzaei B, Mehrabani J, Rasoulzadeh B. The interaction effects of aerobic training and Saffron extracts consumption on anti-oxidant defense system of heart and brain premotor cortex of young male rats following an acute bout of exhaustive endurance exercise. *J Exerc Physiol* 2014;7(25):109-30. [Link](#)