

اثر مصرف کوتاهمدت عصاره آبی کلالة زعفران بر میزان مالون دی آلدئید و سیستم آنتی اکسیدانی کبد موش‌های نر جوان پس از یک جلسه فعالیت حاد و امانده ساز

امیر خسروی^{۱*}، فاطمه امید علی^۲، بهرام رسولیان^۳، سیروس چوبینه^۴

۱- استادیار، گروه تربیت‌بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آیت‌الله‌العظمی بروجردی (ره)، بروجرد، ایران.

۲- مربی، گروه تربیت‌بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آیت‌الله‌العظمی بروجردی (ره)، بروجرد، ایران.

۳- دانشیار، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران.

۴- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

یافته / دوره نوزدهم / شماره ۱ / بهار ۹۶ / مسلسل ۷۱

چکیده

دریافت مقاله: ۹۵/۱۱/۳ پذیرش مقاله: ۹۶/۱/۱۹

مقدمه: با وجود اثرات مفید فعالیت‌های منظم ورزشی، فعالیت‌های حاد و امانده ساز باعث بروز آسیب اکسیداتیو در کبد می‌شود. هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر یک‌هفته‌ای مصرف عصاره آبی کلالة زعفران بر میزان تغییرات مالون دی آلدئید (MDA) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPX) کبد موش‌های نر جوان پس از یک جلسه فعالیت حاد و امانده ساز بود.

مواد و روش‌ها: ۴۸ سر موش نر ویستار به‌صورت تصادفی به سه گروه ۱. کنترل یک (حلال عصاره زعفران) ۲. کنترل دو (حلال عصاره زعفران + تمرین) ۳. تجربی (۵۰ mg/kg عصاره آبی زعفران + تمرین) دسته‌بندی شدند (هر گروه شامل ۱۶ سر موش). پس از یک هفته، نیمی از هر سه گروه بدون امانده شدن و نیم دیگر موش‌های گروه کنترل ۲ و تجربی بلافاصله پس از امانده کردن قربانی شدند و مقادیر SOD، CAT، GPX و MDA کبد آنها اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: متعاقب فعالیت و امانده ساز میزان MDA و فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT، GPX بافت کبد موش‌های گروه تجربی برخلاف گروه کنترل، تغییر معنی‌داری نیافت ($P > 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری: مصرف عصاره آبی کلالة زعفران باعث تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی کبد موش‌های ویستار شده و از تغییرات معنی‌دار سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و MDA بافت کبد در نتیجه فعالیت و امانده ساز جلوگیری می‌کند.

واژه‌های کلیدی: فعالیت و امانده ساز، زعفران، مالون دی آلدئید، آنتی‌اکسیدان.

* آدرس مکاتبه: بروجرد، دانشگاه آیت‌الله‌العظمی بروجردی (ره)، دانشکده علوم انسانی، گروه تربیت‌بدنی.

پست الکترونیک: stu_khosravi1@yahoo.com

مقدمه

فعالیت‌های بدنی منظم با شدت پایین تا متوسط نقش حیاتی در ارتقاء عملکرد ارگان‌های حیاتی از جمله مغز، قلب، کلیه، کبد و ریه‌ها دارند. با این وجود، در خلال فعالیت بدنی با شدت بالا اکسیژن مصرفی برخی سلول‌های فعال تا ۲۰۰ برابر سطوح استراحتی افزایش یافته و تعادل بین تولید گونه‌های واکنش پذیر و دفع آنها توسط سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بر هم خورده و منجر به بروز استرس اکسیداتیو در سلول‌ها می‌شود (۱). در صورت به وجود آمدن استرس اکسیداتیو خفیف یا ملایم، غالباً بافت‌ها با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اثر آن را خنثی می‌نمایند ولی در حالت استرس اکسیداتیو شدید، سلول‌ها صدمه دیده و ممکن است مرگ سلولی رخ دهد. با بروز استرس اکسیداتیو رادیکال‌های آزاد با حمله به لیپیدهای غشایی، زمینه تولید مالون دی آلدئید (MDA) را فراهم می‌کنند. این آلدئید ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی، می‌تواند با سایر اجزای سلولی مانند پروتئین‌ها و ساختارهای ژنومی وارد واکنش شده و ضایعات متنوعی ایجاد کند (۲).

یکی از بافت‌هایی که در معرض صدمات ناشی از بروز استرس اکسیداتیو قرار دارد کبد می‌باشد. کبد نقش حیاتی در حفظ هموستاز بدن در شرایط استراحت و فعالیت‌های بدنی دارد. با این وجود کبد در حین فعالیت‌های بدنی در معرض محرک‌هایی مانند افزایش دمای بدن، توقف گردش خون و کاهش گلیکوژن قرار دارد. از سویی فعالیت سلول‌های این بافت در حین تمرینات ورزشی به‌منظور افزایش میزان تبدیل اسیدهای آمینه گلوکوژنیک به پیرووات یا واسطه‌های سیکل اسید سیتریک و گلیکوژنولیز، جهت حفظ گلوکز خون، تجزیه اسید چرب به استیل کوآ و سپس به کتون‌بادی برای انتقال به بافت‌های محیطی و برآورده کردن نیازهای انرژی، افزایش می‌یابد (۳). با افزایش فعالیت این بافت

در حین فعالیت‌های ورزشی، میزان مصرف اکسیژن و در نتیجه تولید رادیکال‌های آزاد این بافت به بیش از ۲ تا ۳ برابر حالت طبیعی افزایش می‌یابد (۳) که باعث کاهش سطوح آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی و بروز استرس اکسیداتیو در این بافت و آسیب به لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA سلولی و اختلال در عملکرد کبد می‌شود (۲). بروز استرس اکسیداتیو در بدن اثرات منفی دیگری از جمله تسریع روند پیری، برخی از بیماری‌های تخریب نورونی، آسیب‌های عضلانی و لنفوئیدی، التهاب بافتی، خستگی عضلانی، اختلال در بازگشت به حال اولیه، اختلال و کاهش کارایی سیستم ایمنی و وضعیت اکسیداسیون عضلانی را به همراه دارد (۴). ممکن است مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی از طریق کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژنی، بلوکه کردن پراکسیداسیون لیپیدی، تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، دخالت در متابولیسم گلیکوژن جهت برآورده کردن انرژی مورد نیاز عضلات فعال و حفظ استحکام ساختار میتوکندری در جلوگیری از این اختلالات مفید باشند (۵). با وجود این، در تحقیقات متعددی عدم تأثیر مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی سنتزی بر تولید رادیکال‌های آزاد، تسریع روند پراکسیداسیون لیپیدی در بافت‌های مختلف، بلوکه کردن سیگنال‌های سلولی تولید شده جهت سازگاری بافت‌های مختلف با ورزش، آلودگی به مواد ممنوعه، خطر وقوع سرطان و ژنوتوکسین در مصرف کنندگان گزارش شده است (۶). علاقه‌مندی ورزشکاران به مصرف آنتی‌اکسیدان‌های با منشأ طبیعی و همچنین عملکرد مؤثرتر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در کاهش سطوح گونه‌های فعال اکسیژن (۷)، سهولت دسترسی، کاهش عوارض جانبی و قیمت مناسب، به‌عنوان جایگزین‌های شایسته برای داروهای صناعی، همواره مورد بحث بوده و از چند دهه اخیر به‌طور خاص مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند.

لیپیدی را کاهش و سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را به‌صورت وابسته به دوز افزایش داد (۱۰). فرهمند و همکاران گزارش کردند تزریق سافرانال (۵ mg/kg) به مدت یک ماه از کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون اس ترانسفراز، کاتالاز) و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی کبد موش‌های پیر جلوگیری می‌کند (۱۲).

اگر چه تحقیقات مختلفی اثرات آنتی‌اکسیدانی زعفران را به اثبات رسانده‌اند با این وجود، چند نکته نتیجه‌گیری قطعی جهت توصیه به مصرف عصاره زعفران به ورزشکاران را با مشکل مواجه می‌کند و انجام تحقیقات تکمیلی در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد از جمله، در تحقیقات گذشته جهت بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی زعفران در کبد نمونه‌های حیوانی، از مواد شیمیایی جهت ایجاد استرس اکسیداتیو استفاده شده است. همچنین جدا سازی مواد مؤثره آنتی‌اکسیدانی زعفران، طولانی بودن دوره مصرف زعفران (بعضاً بیش از یک ماه) را می‌توان عنوان کرد؛ بنابراین بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره زعفران به‌جای ترکیبات مؤثره آن در شرایط طبیعی وقوع استرس اکسیداتیو از طریق ورزش و در انتها بررسی اثرات کوتاه مدت عصاره زعفران و از سویی با توجه به اهمیت جلوگیری از وقوع استرس اکسیداتیو و اثرات نامطلوب ناشی از آن از جمله آسیب کبدی ناشی از تمرینات با شدت بالا، تحقیق حاضر برای اولین بار با بررسی اثرات محافظتی عصاره آبی کلالة زعفران در جلوگیری از بروز شرایط استرس اکسیداتیو ناشی از تمرینات وامانده ساز، در صدد پاسخ به این سؤال است که آیا مصرف کوتاه مدت عصاره آبی کلالة زعفران می‌تواند موجب تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و جلوگیری از بروز شرایط استرس اکسایشی و افزایش سطوح مالون دی آلدئید در بافت کبد شود یا خیر.

گیاه زعفران از هزاران سال پیش تاکنون دارای مصارف درمانی و غذایی بوده و منبعی غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله فلاونوئیدها، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها (ریبوفلاوین و تیامین)، آمینواسیدها، مینرال‌ها، صمغ‌ها و همچنین کاروتنوئیدهایی مثل کرووسین، پیکروکروسین و سافرانال می‌باشد (۷). کاروتنوئیدهای موجود در زعفران با خنثی کردن اکسیژن‌های منفرد، انتقال الکترون، پذیرش و اضافه کردن الکترون و فلاونوئیدهای موجود در زعفران از طریق واکنش با عناصر واکنش پذیر گونه‌های فعال اکسیژن، اختلال در عوامل وادار کننده عمل سنتز نیتریت، اختلال در عملکرد اکسازین اکسیداز، کاهش تعداد لکوسیت‌های ساکن در خلال ریپرفیوژن، به دام انداختن آهن آزاد، کاهش انتشار و رها سازی پراکسیداز و بلوکه کردن متابولیسم آراشیدونیک اسید خاصیت آنتی‌اکسیدانی زعفران را تشکیل می‌دهند (۸). با توجه به ترکیبات موجود در زعفران اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی زعفران در تحقیقات مختلفی گزارش شده است (۷، ۹، ۱۰). مهاجری و همکاران با بررسی اثرات محافظتی عصاره زعفران (۸۰ و ۴۰ mg/kg) بر سمیت داروی ضد سل ریفامپین بر کبد در یک دوره ۳۰ روزه، عنوان کردند این عصاره قادر است از افزایش آنزیم‌های شاخص عملکرد کبدی (آلانین آمینو ترانسفراز، آسپارات آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز) و بیلی‌روبین تام آلبومین جلوگیری کرده و سطوح آلبومین و پروتئین تام سرم را در موش‌های تیمار شده با ریفامپین افزایش دهد (۱۱). همچنین مهاجری و همکاران در تحقیق دیگری با خوراندن عصاره الکلی کلالة زعفران (۸۰ mg/kg و ۴۰) به مدت ۸ هفته به موش‌های صحرایی نر ویستار به بررسی اثرات محافظتی این عصاره در برابر سمیت کبدی سیسپلاتین داروی ضد سرطانی که برای کبد تا حدی سمی می‌باشد در موش‌های صحرایی پرداختند. در این موش‌ها، عصاره به‌طور معنی داری میزان پراکسیداسیون

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی است و در پژوهشکده تحقیقات داروهای گیاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان انجام گرفت. کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های کار روی حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید کمیته اخلاق در پژوهش این دانشگاه بود. ۶۰ سر موش صحرایی نر بالغ ۳ ماهه نژاد ویستار (Wistar) از دانشگاه شهید بهشتی تهران تهیه شد. پس از انتقال موش‌ها به محیط آزمایشگاه، به صورت گروه‌های ۴ سر موش در قفس‌های پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند. طی دوره پژوهش، حیوانات به صورت آزاد به غذا و آب مورد نیازشان دسترسی داشتند.

نحوه جمع آوری اطلاعات

پس از انتقال حیوانات به محیط جدید (حیوان‌خانه)، به مدت دو هفته در این محیط نگهداری شدند تا از این طریق استرس احتمالی ناشی از تغییر محل نگهداری و همچنین، تغییر احتمالی شرایط فیزیولوژیکی حیوان مجدداً به وضعیت اولیه برگردانده شود. تمامی حیوانات در ابتدای هفته سوم مجبور به دویدن در سرعت ۱۶/۶ متر در ساعت و به مدت ۵ دقیقه بر روی تردمیل شدند که از بین آنها ۴۸ سر موش صحرایی با وزن تقریبی 22 ± 246 گرم که توانایی دویدن در این سرعت را داشتند انتخاب شده و سپس به صورت تصادفی به ۳ گروه اصلی ۱- گروه کنترل یک ۲- گروه کنترل دو و ۳- گروه تجربی (هر گروه ۱۶ سر موش) تقسیم شدند. گروه‌های کنترل یک و دو حلال عصاره زعفران (آب مقطر) و گروه دیگر عصاره آبی کلالة زعفران دریافت کردند. گروه کنترل دو و گروه تجربی تمرینات مشابهی، مطابق با پروتکل توضیح داده شده در بخش بعدی را انجام دادند.

نحوه تهیه و خوراندن عصاره زعفران و حلال

کلالة خشک زعفران خوراکی معروف به زعفران پوشالی از قائنات تهیه شد. جهت تهیه عصاره آبی، بعد از افزودن ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر به ۱۰ گرم پودر زعفران، محلول در ظرف پوشیده به مدت ۳ روز در شیکر انکوباتور قرار گرفت. سپس نمونه صاف شده و عصاره آبی جدا شد و با دستگاه فریزدرایر به صورت پودر درآمد (۱۳). موش‌های گروه تجربی (گروه ۳)، عصاره آبی کلالة زعفران را به میزان ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در ۲ میلی لیتر آب مقطر حل شده، روزانه رأس ساعت ۸ صبح به مدت ۱ هفته از طریق گاواژ دریافت کردند. همزمان به موش‌های گروه‌های کنترل ۱ و ۲ نیز روزانه به همان میزان ۲ میلی لیتر آب مقطر به عنوان حلال عصاره زعفران گاواژ شد.

پروتکل تمرینی

تمامی موش‌های گروه کنترل شماره ۲ و گروه تجربی به مدت ۱ هفته، ۵ روز متوالی هفته و هر روز یک جلسه (بین ۵ تا ۱۵ دقیقه) با شدت ۱ تا ۱/۲ کیلومتر در ساعت (۱۶/۶ تا ۲۰ متر در دقیقه) بر روی تردمیل در شیب صفر درجه دویدند (۲). سرعت و مدت به طور تدریجی افزایش داده شد. تمرین بر روی تردمیل ۱۲ کاناله انجام گرفت.

پروتکل تمرینی وامانده کردن

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و ۳ ساعت پس از آخرین گاواژ موش‌ها، به طور تصادفی ۸ سر موش از گروه کنترل شماره ۲ و همین تعداد از گروه تجربی جهت وامانده سازی انتخاب شدند. موش‌ها در مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۰ متر در دقیقه و سپس ۳۰ دقیقه با سرعت ۲۵ متر در دقیقه و در آخر، سرعت ۳۰ متر در دقیقه در شیب ۱۰ درجه تا زمان واماندگی بر روی تردمیل دویدند (۱۴). زمانی که موش‌ها سه بار به شوک الکتریکی تعبیه شده در ابتدای تردمیل واکنش نمی‌دادند و به حالت خوابیده به پشت باقی می‌ماندند وامانده محسوب می‌شدند.

بافت برداری و تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی

پروتئین بیان گردید. برای تعیین غلظت پروتئین از روش برادفورد استفاده شد (۲۰). حجم مناسبی از عصاره بافتی را به حجم ۱ میلی لیتر رسانده و ۳ میلی لیتر از محلول برادفورد به آن اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه گردید. سپس در طول موج ۵۹۵ نانومتر جذب قرائت شد. غلظت پروتئین را با رسم استاندارد با استفاده از محلول ۱ mg/ml آلبومین سرم گاوی (BSA) محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

برای نشان دادن توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف استفاده شد. سپس از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه به منظور بررسی تفاوت هر یک از شاخص‌ها بین گروه‌های مختلف و از آزمون تعقیبی توکی برای تعیین محل تفاوت استفاده شد. سطح معنی داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اطلاعات جداول ۱ نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری از نظر میانگین وزنی و زمان وامانده شدن بین سه گروه و نیز در هر گروه (بجز گروه کنترل ۱) از لحاظ وزنی در ابتدا و انتهای تحقیق وجود ندارد ($P > 0.05$). همچنین میزان MDA و فعالیت سه آنزیم SOD، CAT و GPX بلافاصله پیش از وامانده شدن بین سه گروه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). در گروه کنترل ۱، در هر دو مرحله اندازه‌گیری تغییر معنی‌داری در مقادیر MDA و آنزیم‌های SOD، CAT و GPX این گروه مشاهده نشد ($P > 0.05$) (نمودار ۱ و ۲).

جدول ۱. میانگین وزنی (گرم) گروه‌های مختلف در ابتدا و

انتهای مطالعه، همچنین زمان وامانده شدن (دقیقه).

گروه	تیمار	میانگین وزنی	زمان وامانده شدن
۱	کنترل ۱	ابتدای تحقیق	۲۴۱ ± ۱۹
	کنترل ۱	انتهای تحقیق	۲۶۸ ± ۲۷*
۲	کنترل ۲	ابتدای تحقیق	۲۴۶ ± ۲۴
	کنترل ۲	انتهای تحقیق	۲۵۶ ± ۱۸
۳	تجربی	ابتدای تحقیق	۲۵۱ ± ۲۲
		انتهای تحقیق	۲۵۹ ± ۱۵

* تفاوت معنی‌دار نسبت به مرحله قبلی اندازه‌گیری ($P < 0.05$)

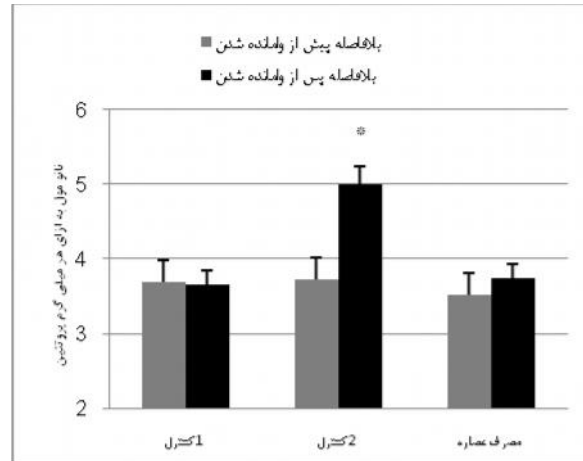
بلافاصله پیش از وامانده سازی موش‌ها از هر گروه ۸ سر موش به‌طور تصادفی جهت بافت برداری کبد انتخاب و کشته شدند. موش‌های باقی مانده نیز بلافاصله پس از وامانده سازی (موش‌های گروه کنترل ۱ بدون واماندگی) کشته شدند. نحوه کشته شدن و بافت برداری بدین شکل بود که ابتدا موش‌ها با داروی کلروفورم بیهوش و کشته شدند. سپس کبد موش‌ها سریعاً خارج و قسمتی از آن در سالیین بسیار سرد شستشو و هموژنات ۱۰ درصد در ۱/۱۵ درصد (w/v) کلرور پتاسیم تهیه گردید. هموژنات با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و محلول شناور جهت سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدی از طریق اندازه‌گیری مقدار مالون دی آلدئید (MDA) و همچنین برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) مورد استفاده قرار گرفت. مالون دی آلدئید، به‌عنوان مقیاسی از پراکسیداسیون چربی، در قالب واکنش تیوباربتوریک اسید TBARS و با استفاده از روش استرن بارو و چیزمن مورد سنجش قرار گرفت و مقدار TBARS به‌صورت نانومول در میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (۱۵). فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌صورت واحدهای قراردادی در میلی‌گرم پروتئین عنوان گردید. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز توسط روش نیشیکیمی (۱۶) مورد سنجش و توسط روش کاکار (۱۷) نیز تعدیل گردید. هر واحد از فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به‌صورت غلظت آنزیم مورد نیاز برای ممانعت از تولید رنگ تا ۵۰ درصد در ۱ دقیقه، تحت شرایط مطالعه، تعیین شد. فعالیت کاتالاز توسط روش کلایبورن (۱۸) و بر اساس تجزیه پراکسید هیدروژن در ۲۴۰ nm، به شکل «فعالیت کاتالاز در دقیقه» محاسبه گردید. فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز با استفاده از روش روتروک و همکاران (۱۹) مورد سنجش قرار گرفته و به‌صورت میکرومول گلوکاتایون اکسید/دقیقه/میلی‌گرم

بحث و نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که متعاقب یک وهله فعالیت وامانده ساز غلظت MDA بافت کبد موش‌های گروه کنترل ۲ به‌طور معنی‌داری افزایش و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GPX این بافت به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین در مهم‌ترین یافته تحقیق جاری مشخص شد که مصرف یک‌هفته‌ای عصاره آبی کلالة زعفران از تغییرات معنی‌دار شاخص MDA و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GPX بافت کبدی موش‌های گروه مصرف‌کننده عصاره زعفران (گروه تجربی) متعاقب فعالیت وامانده ساز جلوگیری کرد. همسو با نتایج پژوهش حاضر در مورد افزایش غلظت MDA و کاهش آنزیم‌های SOD، CAT و GPX بافت کبد گروه کنترل ۲ متعاقب فعالیت وامانده ساز، لئو و همکاران نشان دادند که یک جلسه دویدن بر روی تردمیل تا حالت واماندگی میزان MDA کبد موش‌ها را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (۲). در مطالعه‌ای دیگر چویی و همکاران نیز افزایش میزان MDA پس از تمرین وامانده ساز را گزارش کردند (۲۱).

در حین ورزش عوامل متعددی در آسیب رساندن به کبد دخیل هستند که از جمله می‌توان به هیپوکسی، فعالیت گزانتین اکسیداز و افزایش درجه حرارت بدن اشاره کرد (۲۲). در حین ورزش متناسب با افزایش شدت تمرین میزان جریان خون کبد کاهش می‌یابد، به‌طوری که در خلال تمرینات شدید در مقایسه با شرایط استراحت تا ۱۸ درصد از جریان خون کبد کاهش می‌یابد که منجر به وقوع شرایط هیپوکسی در کبد می‌شود، هیپوکسی باعث تخلیه آدنین نوکلئوتیدها درون سلول از جمله ATP، اختلال در پمپ سدیم-پتاسیم سلول، غشاء میتوکندری، تجمع متابولیت‌های توکسین در سلول‌های کبدی، اختلال در فراهمی مواد لازم برای تولید انرژی، اختلال در هموستاز کلسیم و فعال شدن آنزیم فسفو لیپاز

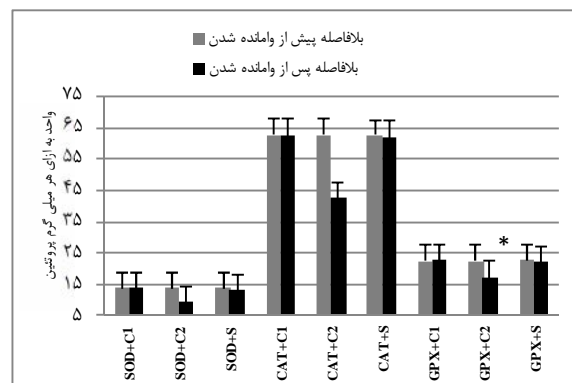
در گروه ۲، ورزش وامانده ساز مقادیر MDA و آنزیم‌های SOD، CAT و GPX را در مقایسه با پیش از وامانده شدن، به‌طور معنی‌داری به ترتیب افزایش و کاهش داد ($P < 0.05$) (نمودار ۱ و ۲).



نمودار ۱. میزان MDA بافت کبد گروه‌های مختلف در طی دو مرحله اندازه‌گیری.

* تغییر معنی‌دار نسبت به مرحله قبلی اندازه‌گیری ($P < 0.05$).

در گروه تجربی، مصرف یک‌هفته‌ای ۵۰ mg/kg عصاره آبی کلالة زعفران توانست مقادیر MDA و فعالیت آنزیم‌های مذکور را پیرو ورزش وامانده ساز در حد طبیعی خود حفظ کرده و از تغییرات معنی‌دار در این شاخص‌ها جلوگیری کند ($P > 0.05$) (نمودار ۱ و ۲).



نمودار ۲. میزان فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و GPX بافت کبد گروه مصرف‌کننده عصاره آبی زعفران (s) در مقایسه با گروه‌های کنترل C1,2 در طی دو مرحله اندازه‌گیری.

* تغییر معنی‌دار نسبت به مرحله قبلی اندازه‌گیری ($P < 0.05$).

و در نهایت تجزیه غشاء دو لایه سلولی کبد می‌شود (۲۲). تحت شرایط هیپوکسی، چه به صورت حاد و یا مزمن، تعادل بین سیستم‌های اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی به هم می‌خورد که در نهایت ممکن است مرگ سلولی را در پی داشته باشد. فرضیه دیگر، فعالیت گزانتین اکسیداز می‌باشد، در حین فعالیت‌های ورزشی تبدیل گزانتین دهیدروناز که غلظت بالایی در بافت کبد دارد، به گزانتین اکسیداز و سپس سنتز آنیون‌های سوپر اکسید و دیگر گونه‌های اکسیژن فعال مثل H_2O_2 موجب وقوع استرس اکسیداتیو و در نهایت افزایش فرآورده‌های ناشی از استرس اکسیداتیو از جمله MDA در بافت کبد می‌شود (۲۲). از دیگر عوامل آسیب رسان به سلول‌های کبدی می‌توان به افزایش درجه حرارت بدن در حین فعالیت‌های ورزشی اشاره کرد. با توجه به افزایش متابولیسم بدن در حین فعالیت‌های ورزشی ممکن است درجه حرارت بدن حتی به بیش از ۴۰ درجه سانتی‌گراد هم برسد (۲۲). تحت این شرایط تشکیل سوپراکسید از گزانتین اکسیداز و تخلیه سطوح گلوتاتیون کبد تسریع شده و استرس اکسیداتیو در کبد رخ داده و سطوح MDA بافت کبد افزایش می‌یابد (۲۳). از دیگر عواملی که احتمالاً موجب استرس اکسایشی و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب کبدی می‌شوند می‌توان به فعالیت کاتکول آمین‌ها و اکسایش خود به خودی آنها، متابولیسم پروستاگلانین‌ها، NAD(P)H اکسیداز و فعالیت ماکروفاژها اشاره کرد (۲۴). در نتیجه‌گیری از این تحقیقات می‌توان ادعا کرد که حداقل در ورزش‌های با شدت بالا، بافت کبد با درجاتی از آسیب مواجه می‌شود. با وجود این، اطلاعات محدودی در مورد میزان این آسیب، مدت و شدت تمرینات آسیب‌زننده و گستردگی این آسیب‌های کبدی در دسترس می‌باشد (۲۵).

در مهم‌ترین یافته تحقیق حاضر مشخص شد که میزان MDA و آنزیم‌های SOD، CAT و GPX بافت کبد

گروه مصرف کننده عصاره آبی زعفران در نتیجه تمرین وامانده ساز تغییر معنی‌داری نشان ندادند. نتایج این بخش از تحقیق با نتایج تحقیقات مهاجری و همکاران (۱۰، ۱۱)، فرهمند و همکاران (۱۲) همسو می‌باشد. مهاجری و همکاران با بررسی اثرات محافظتی عصاره زعفران (mg/kg) ۴۰ و ۸۰ بر سمیت داروی ضد سل ریفامپین بر کبد در یک دوره ۳۰ روزه عنوان کردند این عصاره قادر است از افزایش آنزیم‌های شاخص آسیب کبدی (آلانین آمینو ترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز) و بیلی‌روبین تام آلبومین جلوگیری کرده و سطوح آلبومین و پروتئین تام سرم را در موش‌های تیمار شده با ریفامپین افزایش دهد (۱۱). همچنین، مهاجری و همکاران در تحقیق دیگری با خوراندن عصاره الکلی کلالة زعفران (mg/kg) ۴۰ و ۸۰ به مدت ۸ هفته به موش‌های صحرایی نر و بیستار به بررسی اثرات محافظتی این عصاره در برابر سمیت کبدی سیسپلاتین پرداختند. عصاره زعفران به‌طور معنی‌داری میزان پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش و سطوح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را به‌صورت وابسته به دوز افزایش داد (۱۰). فرهمند و همکاران گزارش کردند تزریق سافرانال (۰/۵ mg/kg) به مدت یک ماه از کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GST همچنین افزایش پراکسیداسیون لیپیدی کبدی موش‌ها در نتیجه پیری جلوگیری می‌کند (۱۲).

ترکیبات موجود در زعفران با روش‌های مختلفی موجب جلوگیری از تغییر معنی‌دار مالون دی آلدئید متعاقب یک وهله فعالیت حاد وامانده ساز در بافت کبد موش‌های بیستار تحقیق حاضر شده‌اند. ابتدا از طریق تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی با افزایش بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (۱۱) و در نتیجه کاهش تولید رادیکال‌های اکسیژنی در نتیجه مصرف یک‌هفته‌ای این عصاره، گرچه میزان فعالیت سطوح استراحتی آنزیم‌های اندازه‌گیری شده گروه مصرف کننده عصاره زعفران پیش

رادیکال‌های آزاد محافظت کنند (۲۸). همچنین، اثرات ضد ایسکمی عصاره آبی زعفران نیز می‌تواند یکی از دلایل باشد (۲۹).

بنابراین، در کل می‌توان عنوان کرد که انجام فعالیت‌های حاد و امانده ساز منجر به تضعیف عملکرد سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی کبد و بروز استرس اکسایش در کبد موش‌ها می‌شود. از سویی مصرف یک‌هفته‌ای عصاره زعفران منجر به تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی کبد شده و با بلوکه کردن تولید عملکرد رادیکال‌ها و گونه‌های اکسیژن فعال از کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GPX و افزایش میزان MDA بافت کبد متعاقب فعالیت هوازی و امانده ساز جلوگیری می‌کند.

تشکر و قدردانی

در پایان، از راهنمایی‌های ارزنده آقایان دکتر بهمن میرزایی و دکتر بهرام رسولیان، پرسنل مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، همچنین تأمین بخشی از بودجه مالی این طرح توسط مرکز یاد شده، تشکر و قدردانی می‌گردد.

از و امانده سازی با گروه‌های کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان نداد، با وجود این، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گروه مصرف کننده عصاره زعفران اندکی بیشتر و میزان MDA این گروه اندکی کمتر بود که می‌تواند نشان دهنده سیستم آنتی‌اکسیدانی مقاوم‌تر در مقایسه با گروه‌های کنترل باشد، بنابراین ممکن است این عامل یکی از دلایل عدم کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گروه مصرف کننده عصاره زعفران پس از فعالیت و امانده ساز باشد. از سویی، با توجه به مصرف عصاره زعفران ۳ ساعت پیش از و امانده شدن، ممکن است این عصاره در تقویت دفاع غیر آنزیمی و بلوکه کردن عملکرد رادیکال‌های آزاد تولیدی در کبد موش‌های گروه مصرف کننده عصاره مؤثر بوده باشد. چراکه سافرانال موجود در زعفران از طریق استحکام بخشی به غشاهای سلولی، بلوکه کردن گونه‌های اکسیژن فعال و کاهش پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع غشاء سلولی، اثرات آنتی‌اکسیدانی خود را ایفاء می‌کند (۱۳). همچنین سایر ترکیبات موجود در کلالة زعفران از جمله کروسین‌ها (۲۶) و کروسنتین هم دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند (۲۷). این کاروتنوئیدها جمع کننده رادیکال‌های آزاد به‌ویژه آنیون‌های سوپراکسید بوده و بنابراین ممکن است سلول‌ها را از استرس اکسیداتیو با پایدار کردن

References

1. Powers SK, Nelson WB, Hudson MB. Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. *Free Radic Biol Med.* 2011; 51(5): 942-950.
2. Liu J, Yeo HC, Övervik-Douki E, Hagen T, Doniger SJ, Chu DW, et al. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *J Appl Physiol.* 2000; 89(1): 21-28.
3. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev.* 2008; 88(4): 1243-1276.
4. Bloomer RJ, Goldfarb AH. Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. *Can J Appl Physiol.* 2004; 29(3): 245-263.
5. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology.* 2003; 189(1): 41-54.
6. Walsh PC. Effects of long-term vitamin E supplementation on cardiovascular events and cancer: a randomized controlled trial. *J Urol.* 2005; 174(5): 1338-1347.
7. Hosseinzadeh H, Sadeghnia HR. Effect of safranal, a constituent of *Crocus sativus* (Saffron), on methyl methanesulfonate (MMS)-induced DNA damage in mouse organs: an alkaline single-cell gel electrophoresis (Comet) assay. *DNA Cell Biol.* 2007; 26(12): 841-846.
8. Ferrandiz M, Alcaraz M. Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. *Inflamm Res.* 1991; 32(3): 283-288.
9. Srivastava R, Ahmed H, Dixit R, Saraf S. *Crocus sativus* L.: a comprehensive review. *Pharmacogn Rev.* 2010; 4(8): 200-208.
10. Mohajeri D, Doustar Y. Protective effect of ethanolic extract of *Crocus sativus* L.(Saffron) stigma against Cisplatin induced hepatotoxicity in rats. *Med Sci J Islamic Azad Univ Teh Med Branch.* 2012; 21(4): 251-261.
11. Mohajeri D, Doustar Y, Rezaei A, Mesgari-Abbasi M. Hepatoprotective effect of ethanolic extract of *Crocus sativus* L.(Saffron) stigma in comparison with silymarin against rifampin induced hepatotoxicity in rats. *Zahedan J Res Med Sci.* 2011; 12(5): 53-59.
12. Farahmand SK, Samini F, Samini M, Samarghandian S. Safranal ameliorates antioxidant enzymes and suppresses lipid peroxidation and nitric oxide formation in aged male rat liver. *Biogerontol.* 2013; 14(1): 63-71.
13. Hosseinzadeh H, Sadeghnia HR, Ziaee T, Danaee A. Protective effect of aqueous saffron extract (*Crocus sativus* L.) and crocin, its active constituent, on renal ischemia-reperfusion-induced oxidative damage in rats. *J Pharm Sci.* 2005; 8(3): 387-393.
14. Brooks GA, White TP. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *J Appl Physiol.* 1978; 45(6): 1009-1015.
15. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and

- 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol.* 1990; 186: 407-421.
16. Nishikimi M, Rao NA, Yagi K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Biochem Biophys Res Commun.* 1972; 46(2): 849-854.
17. Kakkar P, Das B, Viswanathan P. A modified spectrophotometric assay of superoxide dismutase. *IJBB Vol.* 1984; 21(2): 610-621.
18. Caliborne A. Measurement of catalase activity in tissue extracts. *Analyt biochem.* 1970; 34(1): 30-38.
19. Rotruck J, Pope A, Ganther H, Swanson A, Hafeman DG, Hoekstra W. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science.* 1973; 179(4073): 588-590.
20. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt biochem.* 1976; 72(1): 248-254.
21. Choi EY, Cho YO. The effects of physical training on antioxidative status under exercise-induced oxidative stress. *Nutr Res Pract.* 2007; 1(1): 14-18.
22. Skibba J, Gwartney E. Liver hyperthermia and oxidative stress: role of iron and aldehyde production. *Int J Hyperthermia.* 1997; 13(2): 215-226.
23. Wynne J, Mack S, McRae D, Pillay S, Potts J, Boffinger C, et al. Portal vein perfusion of the isolated rat liver: some markers of hyperthermic liver damage. *Australian J Exp Biol Med Sci.* 1984; 62(1): 73-80.
24. Bakonyi T, Radak Z. High altitude and free radicals. *J Sports Sci Med.* 2004; 3(2): 64-69.
25. Flamm SD, Taki J, Moore R, Lewis SF, Keech F, Maltais F, et al. Redistribution of regional and organ blood volume and effect on cardiac function in relation to upright exercise intensity in healthy human subjects. *Circulation.* 1990; 81(5): 1550-1559.
26. Kurechi T, Kato T. Studies on the antioxidants: oxidation products of concomitantly used butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J Am Oil Chem Soc.* 1980; 57(7): 220-223.
27. Rios J, Recio M, Giner R, Manez S. An update review of saffron and its active constituents. *Phytother Res.* 1996; 10(3): 189-193.
28. Bors W, Saran M, Michel C. Radical intermediates involved in the bleaching of the carotenoid crocin. Hydroxyl radicals, superoxide anions and hydrated electrons. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med.* 1982; 41(5): 493-501.
29. Hosseinzadeh H, Modaghegh MH, Saffari Z. *Crocus sativus* L. (Saffron) extract and its active constituents (crocin and safranal) on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2009; 6(3): 343-350.

The effects of Short-Term aqueous Saffron extracts consumption on malondialdehyde and anti-oxidant system content of liver of young male rats following an acute bout of exhaustive exercise

Khosravi A^{*1}, Omidali F², Rasoulia B³, Choobineh S⁴

1. Assistant Professor, Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Ayatollah Ozma Boroujerdi University, Boroujerd, Iran, stu_khosravil@yahoo.com.

2. Instructor, Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Ayatollah Ozma Boroujerdi University, Boroujerd, Iran.

3. Associate Professor, Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran.

4. Associate Professor, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.

Received: 22 Jan 2017 Accepted: 8 April 2017

Abstract

Background : Despite regular exercise benefits, acute exhaustive exercise elicits oxidative damage in liver. The present study aims to investigate the effects of a week aqueous Saffron extracts consumption on malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) Antioxidant enzymes alterations content of liver of young male rats following an acute bout of exhaustive exercise.

Materials and Methods: We randomly classified 48 Wistar male rats were assigned into following three groups 16 rats per group: 1) control 1 (saffron extract solvent); 2) control 2 (saffron extract solvent+ training); 3) experimental (aqueous saffron extract, 50 mg/kg + training). After a week, half of each group were killed without exhaustive, but the remaining rats (control 2 and experimental) were killed immediately after performed an acute bout of exhaustive exercise and SOD, CAT, GPx and MDA in their liver were measured.

Results: The MDA level and anti-oxidant enzymes activities didn't change significantly, in the liver tissue in experimental group unlike control group of rats following an acute bout of exhaustive exercise

Conclusion: The consumption aqueous extract of saffron stigma in rats leads to the reinforcement of the antioxidant defense system and prevented the MDA level and anti-oxidant enzymes defense system in the liver tissue of rats following an acute bout of exhaustive exercise.

Keywords: Saffron extracts, Anti-oxidant enzymes, liver, Exhaustive exercise

***Citation:** Khosravi A, Omidali F, Rasoulia B, Choobineh S. The effects of Short-Term aqueous Saffron extracts consumption on malondialdehyde and anti-oxidant system content of liver of young male rats following an acute bout of exhaustive exercise. *Yafteh*. 2017;19(1): 20-30.