

اثر مصرف کوتاه‌مدت عصاره آبی کلاله زعفران بر میزان مالون دی آلدئید و سیستم آنتی‌اکسیدانی 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- مری، 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: ۹۵/۱۱/۱۹ 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 کلاله زعفران بر میزان تغییرات مالون دی آلدئید (MDA) و آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) کبد موش‌های نر جوان پس از یک جلسه فعالیت حاد و امانده ساز بود.

مواد و روش‌ها: ۴۸ سر موش نر ویستار به صورت تصادفی به سه گروه ۱. کنترل یک (حلال عصاره زعفران). ۲. کنترل دو (حلال عصاره زعفران + تمرین). ۳. تجربی (50 mg/kg عصاره آبی زعفران + تمرین) دسته‌بندی شدند (هر گروه شامل ۱۶ سر موش). پس از یک هفته، نیمی از هر سه گروه بدون وامانده شدن و نیم دیگر موش‌های گروه کنترل ۲ و تجربی بلافاصله پس از وامانده کردن قربانی شدند و مقادیر MDA، CAT، SOD و GPX کبد آنها اندازه‌گیری شد.

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

بحث و نتیجه‌گیری: مصرف عصاره آبی کلاله 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 وامانده ساز جلوگیری می‌کند.

واژه‌های کلیدی: فعالیت وامانده 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

در حین فعالیت‌های ورزشی، میزان مصرف اکسیژن و درنتیجه 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 تسريع روند پیری، برخی از بیماری‌های تخریب نورونی، آسیب‌های عضلانی و لنفوئیدی، التهاب بافتی، خستگی عضلانی، اختلال در بازگشت به حال اولیه، اختلال و کاهش کارآیی 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 گلیکوزن 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، تسريع 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 ژنوتوكسین در مصرف کنندگان گزارش شده است (۶). علاقه‌مندی ورزشکاران به مصرف آنتی‌اکسیدان‌های با منشاء 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، به عنوان جایگزین‌های شایسته برای داروهای صناعی، همواره مورد بحث بوده و از چند دهه اخیر به طور خاص مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند.

فعالیت‌های بدنی منظم با شدت پایین تا متوسط نقش حیاتی در ارتقاء عملکرد ارگان‌های حیاتی از جمله مغز، قلب، کلیه، کبد و ریه‌ها دارد. 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 گلیکوزن قرار دارد. از سویی فعالیت سلول‌های این بافت در حین تمرینات ورزشی به منظور افزایش میزان تبدیل اسیدهای آمینه گلوكوزنیک به پیرووات یا واسطه‌های سیکل اسید سیتریک و گلیکوزنولیز، جهت حفظ گلوکز خون، تجزیه اسید چرب به استیل کوا و سپس به کتون‌بادی برای انتقال به بافت‌های محیطی و برآورده کردن نیازهای انرژیک، افزایش می‌یابد (۳). با افزایش فعالیت این بافت

لیپیدی را کاهش و سطوح آنزیمهای آنتی اکسیدانی را به صورت وابسته به دوز افزایش داد (۱۰). فرهمند و همکاران گزارش کردند تزریق سافرانال (0.5 mg/kg) به مدت یک ماه از کاهش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاویون اس ترانسفراز، کاتالاز) و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی کبد موش‌های پیر جلوگیری می‌کند (۱۲).

اگر چه تحقیقات مختلفی اثرات آنتی اکسیدانی زعفران را به اثبات رسانده‌اند با این وجود، چند نکته نتیجه گیری 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 آنتی اکسیدانی زعفران در کبد نمونه‌های حیوانی، از مواد شیمیایی جهت ایجاد استرس اکسیداتیو استفاده شده است. همچنین جدا سازی مواد مؤثره آنتی اکسیدانی زعفران، طولانی بودن دوره مصرف زعفران (بعضًا بیش از یک ماه) را می‌توان عنوان کرد؛ بنابراین بررسی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره زعفران به جای ترکیبات مؤثره آن در شرایط طبیعی وقوع استرس اکسیداتیو از طریق ورزش و در انتهای 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 باشد بالا، تحقیق حاضر برای اولین بار با بررسی اثرات محافظتی عصاره آبی کلاله 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 کلاله زعفران می‌تواند موجب تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی 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 آنتی اکسیدانی از جمله فلاونوئیدها، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها (ریبوفلاوین و تیامین)، آمینواسیدها، مینرال‌ها، صمغ‌ها و همچنین کاروتونوئیدهایی مثل کروسین، پیکرولوسین و سافرانال می‌باشد (۷). کاروتونوئیدهای 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 اختلال در عوامل وادر کننده عمل سنتز اکسیژن، اختلال در عملکرد اکساتین اکسیداز، کاهش نیتریت، اختلال در لکوسیت‌های ساکن در خلال ریپرفیوژن، به دام انداختن آهن آزاد، کاهش انتشار و رها سازی پراکسیداز و بلوکه کردن متابولیسم آراشیدونیک اسید خاصیت آنتی اکسیدانی زعفران را تشکیل می‌دهند (۸). با توجه به ترکیبات موجود در زعفران اثرات آنتی اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی زعفران در تحقیقات مختلفی گزارش شده است (۷، ۹، ۱۰). مهاجری و همکاران با بررسی اثرات محافظتی عصاره زعفران (40 mg/kg) بر سمیت داروی ضد سل ریفارمپین بر کبد در یک دوره ۳۰ روزه، عنوان کردند این عصاره قادر است از افزایش آنزیمهای شاخص عملکرد کبدی (آلانین آمینو ترانسفراز، آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز) و بیلی‌روبین تام آلبومین جلوگیری کرده و سطوح آلبومین و پروتئین تام سرم را در موش‌های تیمار شده با ریفارمپین افزایش دهد (۱۱). همچنین مهاجری و همکاران در تحقیق دیگری با خوراندن عصاره الکلی کلاله زعفران (80 mg/kg) و 40 mg/kg 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 به طور معنی داری میزان پراکسیداسیون

کلاله خشک زعفران خوارکی 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 کلاله 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 گاواظ 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 گاواظ شد.

پروتکل تمرینی

تمامی موش‌های گروه کنترل شماره ۲ و گروه تجربی به مدت ۱ هفته، ۵ روز متوالی هفتگه و هر روز یک جلسه (بین ۵ تا ۱۵ دقیقه) با شدت ۱ تا $1/2$ کیلومتر در ساعت (۱۶/۶ تا ۲۰ متر در دقیقه) بر روی تردمیل در شیب صفر درجه دویتدند (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 گاواظ 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 دویتدند (۱۴). زمانی که موش‌ها سه بار به شوک الکتریکی تعییه شده در ابتدای تردمیل واکنش نمی‌دادند و به حالت خوابیده به پشت باقی ماندند وامانده محسوب می‌شدند.

بافت برداری و تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی

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 246 ± 22 گرم که توانایی دویدن در این سرعت را داشتند انتخاب شده و سپس به صورت تصادفی به ۳ گروه اصلی ۱- گروه کنترل 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 کلاله 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

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 ۱mg/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 (جز گروه کنترل ۱) از لحظه وزنی در ابتداء و انتهای تحقیق وجود ندارد ($P>0.05$). همچنین میزان MDA و فعالیت سه آنزیم SOD، CAT و GPX بلاfacسله 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 ابتداء و انتهای مطالعه، همچنین زمان وامانده شدن (دقیقه).

زمان وامانده شدن	میانگین وزنی	تیمار	گروه
-	۲۴۱±۱۹	ابتدا تحقیق	کنترل ۱
-	۲۶۸±۲۷*	انتهای تحقیق	۱
-	۲۴۶±۲۴	ابتدا تحقیق	کنترل ۲
۳۰ ± ۱۴	۲۵۶±۱۸	انتهای تحقیق	۲
-	۲۵۱ ± ۲۲	ابتدا تحقیق	تجربی
۳۵ ± ۱۰	۲۵۹ ± ۱۵	انتهای تحقیق	۳

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

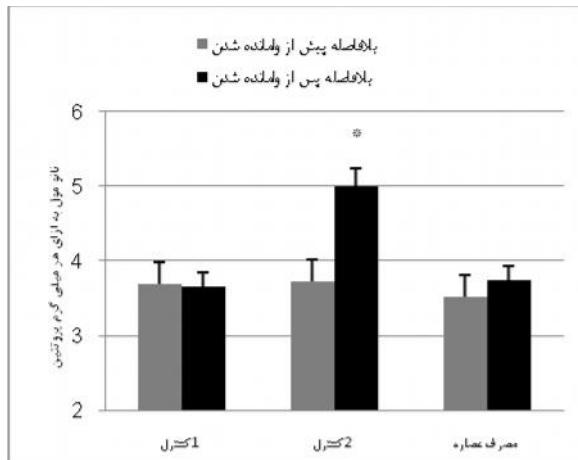
بلافاصله پیش از وامانده سازی موش‌ها از هر گروه ۸ سر موش به طور تصادفی جهت بافت برداری کبد انتخاب و کشته شدند. موش‌های باقی مانده نیز بلافاصله پس از وامانده سازی (موش‌های گروه کنترل ۱ بدون واماندگی) کشته شدند. نحوه کشته شدن و بافت برداری بدین شکل بود که ابتدا موش‌ها با داروی کلروفرم بیهوش و کشته شدند. سپس کبد موش‌ها سریعاً خارج و قسمتی از آن در سالین بسیار سرد شستشو و هموژنات ۱۰ درصد در ۱/۱۵ درصد (w/v) کلور پتانسیم تهیه گردید. هموژنات با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد و محلول شناور جهت سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدی از طریق اندازه گیری مقدار مالون دی آلدئید (MDA) و همچنین برای اندازه گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوبراکسید دیسموتاز (GPX)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون پراکسیداز (SOD) مورد استفاده قرار گرفت. مالون دی آلدئید، به عنوان مقیاسی از پراکسیداسیون چربی، در قالب واکنش تیوباربیتوریک اسید TBARS و با استفاده از روش استرن TBARS با رو و چیزمن مورد سنجش قرار گرفت و مقدار به صورت نانومول در میلی گرم پروتئین بیان گردید (۱۵). فعالیت آنتی اکسیدانی به صورت واحدهای قراردادی در میلی گرم پروتئین عنوان گردید. فعالیت سوبراکسید دیسموتاز توسط روش نیشیکیمی (۱۶) مورد سنجش و توسط روش کاکار (۱۷) نیز تعديل گردید. هر واحد از فعالیت سوبراکسید دیسموتاز به صورت 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 گلوتاتیون پراکسیداز با استفاده از روش روتروک و همکاران (۱۹) مورد سنجش قرار گرفته و به صورت میکرومول گلوتاتیون اکسید/دقیقه/میلی گرم

بحث و نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که متعاقب یک و هله فعالیت وامانده ساز غلظت MDA بافت کبد موش های گروه کنترل ۲ به طور معنی داری افزایش و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی SOD و CAT و GPX این بافت به طور معنی داری کاهش یافت. همچنین در مهم ترین یافته تحقیق جاری مشخص شد که مصرف یک هفته ای عصاره آبی کلاله زعفران از تغییرات معنی دار شاخص MDA و آنزیم های آنتی اکسیدانی SOD، CAT و GPX بافت کبدی موش های گروه مصرف کننده عصاره زعفران (گروه تجربی) متعاقب فعالیت وامانده ساز جلوگیری کرد. همسو با نتایج پژوهش حاضر در مورد افزایش غلظت MDA و کاهش آنزیم های SOD، CAT و GPX بافت کبد گروه کنترل ۲ متعاقب فعالیت وامانده ساز، لئو و همکاران نشان دادند که یک جلسه دویدن بر روی ترمیمیل تا حالت واماندگی میزان MDA کبد موش ها را به طور معنی داری افزایش می دهد (۲). در مطالعه ای دیگر چوبی و همکاران نیز افزایش میزان MDA پس از تمرین وامانده ساز را گزارش کردند (۲۱).

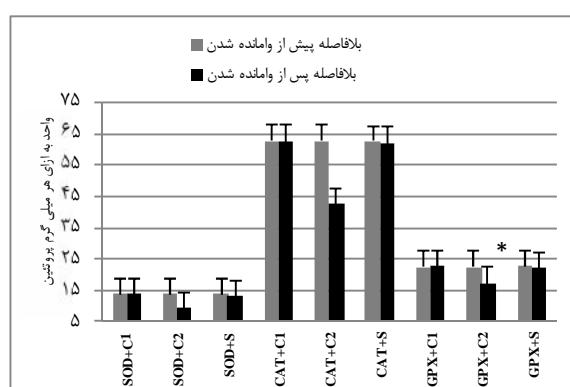
در حین ورزش عوامل متعددی در آسیب رساندن به کبد دخیل هستند که از جمله می توان به هیپوکسی، فعالیت گرانشین اکسیداز و افزایش درجه حرارت بدن اشاره کرد (۲۲). در حین ورزش مناسب با افزایش شدت تمرین میزان جریان خون کبد کاهش می یابد، به طوری که در خلال تمرینات شدید در مقایسه با شرایط استراحت تا ۱۸ درصد از جریان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

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



نمودار ۱. میزان MDA بافت کبد گروه های مختلف در طی دو مرحله اندازه گیری.

* تغییر معنی دار نسبت به مرحله قبلی اندازه گیری ($P<0.05$). در گروه تجربی، مصرف یک هفته ای 50 mg/kg عصاره آبی کلاله زعفران توانست مقادیر MDA و فعالیت آنزیم های مذکور را پیرو ورزش وامانده ساز در حد طبیعی خود حفظ کرده و از تغییرات معنی دار در این شاخص ها جلوگیری کند ($P<0.05$) (نمودار ۱ و ۲).



نمودار ۲. میزان فعالیت آنزیم های SOD، CAT و GPX بافت کبد گروه مصرف کننده عصاره آبی زعفران (s) در مقایسه با گروه های کنترل C_{1,2} در طی دو مرحله اندازه گیری.

* تغییر معنی دار نسبت به مرحله قبلی اندازه گیری ($P<0.05$).

گروه مصرف کننده عصاره آبی زعفران درنتیجه تمرین وامانده ساز تغییر معنی داری نشان ندادند. نتایج این بخش از تحقیق با نتایج تحقیقات مهاجری و همکاران (۱۰، ۱۱)، فرهمند و همکاران (۱۲) همسو می باشد. 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 آنزیم های شاخص آسیب کبدی (آلانین آمینو ترانسفراز، آسپارتات آمینو ترانسفراز و آکالالین فسفاتاز) و بیلی رو بین تمام آلبومین جلوگیری کرده و سطوح آلبومین و پروتئین تمام سرم را در موش های تیمار شده با ریفامپین افزایش دهد (۱۱). همچنین، مهاجری و همکاران در تحقیق دیگری با خوراندن عصاره الکلی کلاله زعفران نر ویستار به بررسی اثرات محافظتی این عصاره در برابر سمیت کبدی سیسپلاتین پرداختند. عصاره زعفران به طور معنی داری میزان پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش و سطوح فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی را به صورت وابسته به دوز افزایش داد (۱۰). فرهمند و همکاران گزارش کردند تریکیت سافرانال (mg/kg) ۵/۰ به مدت یک ماه از کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی CAT و SOD همچنین افزایش پراکسیداسیون لیپیدی کبدی موش ها درنتیجه پیری جلوگیری می کند (۱۲).

ترکیبات موجود در زعفران با روش های مختلفی موجب جلوگیری از تغییر معنی دار مالون دی آلدئید متعاقب یک و هله فعالیت حاد وامانده ساز در بافت کبد موش های ویستار تحقیق حاضر شده اند. ابتدا از طریق تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی با افزایش بیان ژن های آنزیم های آنتی اکسیدانی (۱۱) و درنتیجه کاهش تولید رادیکال های اکسیژنی درنتیجه مصرف یک هفته ای این عصاره، گرچه میزان فعالیت سطوح استراحتی آنزیم های اندازه گیری شده گروه مصرف کننده عصاره زعفران پیش

و در نهایت تجزیه غشاء دو لایه سلولی کبد می شود (۲۲). تحت شرایط هیپوکسی، چه به صورت حاد و یا مزمن، تعادل بین سیستم های اکسیدانی و آنتی اکسیدانی به هم می خورد که در نهایت ممکن است مرگ سلولی را در پی داشته باشد. فرضیه دیگر، فعالیت گزانتین اکسیداز می باشد، در حین فعالیت های ورزشی تبدیل گزانتین دهیدروزناز که غلظت بالایی در بافت کبد دارد، به گزانتین اکسیداز و سپس سنتر آنیون های سوپر اکسید و دیگر گونه های اکسیژن فعال مثل H_2O_2 موجب وقوع استرس اکسیداتیو و در نهایت افزایش فرآورده های ناشی از استرس اکسیداتیو از جمله MDA در بافت کبد می شود (۲۲). از دیگر عوامل آسیب رسان به سلول های کبدی می توان به افزایش درجه حرارت بدن در حین فعالیت های ورزشی ممکن است درجه حرارت بدن حتی به بیش از ۴۰ درجه سانتی گراد هم برسد (۲۲). تحت این شرایط تشکیل سوپر اکسید از گزانتین اکسیداز و تخلیه سطوح گلوتاتیون کبد تسريع شده و استرس اکسیداتیو در کبد رخ داده و سطوح MDA بافت کبد افزایش می یابد (۲۳). از دیگر عواملی که احتمالاً موجب استرس اکسایشی و درنتیجه پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب کبدی می شوند می توان به فعالیت کاتکول آمین ها و اکسایش خود به خودی آنها، متabolیسم پروستاتوئیدها، NAD(P)H اکسیداز و فعالیت ماکروفازها اشاره کرد (۲۴). در نتیجه گیری از این تحقیقات می توان ادعا کرد که حداقل در ورزش های با شدت بالا، بافت کبد با درجه ای از آسیب مواجه می شود. با وجود این، اطلاعات محدودی در مورد میزان این آسیب، مدت و شدت تمرینات آسیب زننده و گستردگی این آسیب های کبدی در دسترس می باشد (۲۵).

در مهم ترین یافته تحقیق حاضر مشخص شد که میزان MDA و آنزیم های SOD، CAT و GPX بافت کبد

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 وامانده 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 و عملکرد رادیکال‌ها و گونه‌های اکسیژن فعال از کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GPX و افزایش میزان MDA بافت کبد متعاقب فعالیت هوایی وامانده 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 وامانده 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 وامانده ساز باشد. از سویی، با توجه به مصرف عصاره زعفران ۳ ساعت پیش از وامانده 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 کلاله زعفران از جمله کروسین‌ها (۲۶) و کروستین 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, Ziae 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, Rasoulian B³, Choobineh S⁴

1. Assistant Professor, Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Ayatollah Ozma Boroujerdi University, Boroujerd, Iran, stu_khosravi1@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, Rasoulian 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.