اثر محافظتی زعفران در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو در ایسکمی مغزی موضعی- موقتی در موش صحرایی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۴/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۵/۰۳

عابدین وکیلی[1*]
محمد رضا عینعلی[1]
احمد رضا بندگی[2]

۱- گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات و بخش فیزیولوژی
۲- گروه بیوشیمی

دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران.

*نویسنده مسئول: سمنان، کیلومتر ۵ جاده دامغان، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات و بخش فیزیولوژی
تلفن: ۰۲۳۱-۳۳۵۴۱۶۱
E-mail: Abvakili@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات متعدد نشان داده‌اند زعفران اثر محافظتی در مقابل آسیب اکسیداتیو در ایسکمی گلوبال مغزی دارد، اما اثر آن بر ادم مغزی و آسیب اکسیداتیو در ایسکمی مغزی موضعی کاملا مشخص نیست. این مطالعه با هدف بررسی اثر زعفران بر ادم مغزی، حجم ضایعات مغزی و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت (آنزیم سوپر اکسید دیس‌موتاز و گلوتاتیون پراکسید) و غلظت مالون دی آلدیید در بافت ایسکمیک مغز در مدل تجربی سکته مغزی طراحی شد. ***روش بررسی:*** ایسکمی موضعی با مسدود کردن موقتی شریان میانی مغز برای مدت یک ساعت در موش صحرایی ایجاد شد. زعفران با دوز ۱۰۰mg/kg ip در شروع ایسکمی به‌صورت داخل صفاقی تزریق و ۲۴ ساعت بعد ادم و حجم آسیب مغزی اندازه‌گیری شد. غلظت مالون دی آلدیید و میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیس‌موتاز و گلوتاتیون پراکسید در بافت ایسکمیک مغز با استفاده از کیت مخصوص اندازه‌گیری شد. ***یافته‌ها:*** زعفران حجم ضایعات مغزی را ۷۷٪ (P<۰/۰۰۱) و ادم مغزی را ۶۰٪ (P<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه شاهد کاهش داد. همین‌طور زعفران به‌طور معنی‌داری غلظت بافتی مالون دی آلدیید را کاهش داده (P<۰/۰۰۱) و میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیس‌موتاز (P<۰/۰۰۱) و گلوتاتیون پراکسید (P<۰/۰۰۱) در بافت ایسکمیک کورتکس مغز به‌طور معنی‌داری افزایش داد. ***نتیجه‌گیری:*** زعفران اثرات محافظتی در مقابل آسیب اکسیداتیو ایسکمیک و ادم مغزی در مدل ایسکمی مغزی موضعی- موقتی در موش صحرایی دارد. این اثر احتمالا از طریق افزایش ظرفیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اعمال می‌شود.

کلمات کلیدی: زعفران، آسیب اکسیداتیو، ایسکمی مغزی موضعی، ادم مغزی، موش صحرایی.

مقدمه

امروزه مشخص شده است استرس‌های اکسیداتیو نقش محوری در پاتوژنز بیماری‌های نورودژنراتیو و نورولوژیک نظیر، آلزایمر، پارکینسون، تروما و سکته مغزی دارند.[1و2] به‌دنبال سکته مغزی و یا قطع جریان خون به قسمتی از مغز، غلظت اکسیژن و مواد متابولیکی به‌سرعت در نواحی ایسکمیک مغز کاهش یافته و در عرض چند دقیقه به سطوح غیر قابل تشخیص می‌رسند.[3] کاهش اکسیژن بافتی در ناحیه ایسکمیک مغز، سبب اختلال در عملکرد میتوکندری‌ها و تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود.[4] از طرفی برقراری مجدد جریان خون بعد از وقوع سکته مغزی سبب افزایش تولید پرواکسیدانت‌ها، آسیب میتوکندری‌ها و آزاد شدن محتویات آن‌ها و تسریع تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود.[1] کاهش فعالیت و ظرفیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و افزایش رادیکال‌های آزاد منجر به وارد شدن آسیب جدی به اجزای تشکیل‌دهنده سلول نظیر لیپیدها، پروتیین‌ها و اسیدهای نوکلییک شده و در نهایت باعث مرگ سلولی می‌گردد.[1] شواهد پژوهشی نشان می‌دهند، رادیکال‌های آزاد نقش انکارناپذیری در تشکیل، گسترش ادم و ضایعات ثانویه مغزی پس از سکته مغزی دارند.[5-7] بنابراین استفاده از مواد و یا داروهای گیاهی که خاصیت آنتی‌اکسیدان قوی داشته باشد، ممکن است بتواند مغز را در مقابل آسیب‌های ناشی از اکسیدانت‌ها در سکته مغزی تا حدودی محافظت نموده و باعث کاهش مرگ و میر نرونی شود. زعفران با نام عمومی Saffron و نام

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-14]

علمی .Crocus Sativus L از خانواده زنبقیان (Iridaceae) گیاهی علفی، چند ساله، بدون ساقه و پیازدار است و به‌میزان زیاد در مناطقی نظیر سواحل مدیترانه، ایران، هند، تبت، چین، و غیره کشت می‌شود.[۸] زعفران علاوه بر این‌که یک چاشنی غذایی پرمصرف است، اثرات فارماکولوژیکی متعددی نیز دارد.[۹] پژوهش‌های جدید نشان می‌دهند، زعفران و مواد موثره آن، اثرات ضد توموری، آنتی‌اکسیدان، آنتی‌ژنوتوکسیک، تقویت‌کننده حافظه و یادگیری، ضد درد و ضد التهاب، ضد تشنج، ضد افسردگی، پایین‌آورنده فشار خون، افزایش‌دهنده اکسیژن‌رسانی بافت‌ها، گشاد کننده برونش، ضد سرفه و غیره دارد.[۹-۱۱] علاوه بر این، یافته آزمایشگاهی جدید نشان داده است، زعفران و یا مواد موثره آن می‌تواند باعث کاهش قابل توجه آسیب‌های اکسیداتیو در بافت ایسکمیک کلیه،[۱۲] عضله اسکلتی،[۱۳] قلب[۱۴] و مغز[۱۵] می‌شود. مطالعاتی که در رابطه با اثر عصاره تام زعفران در ایسکمی مغزی انجام شده محدود بوده و عمدتا تاثیر ترکیبات فعال آن در ایسکمی مغزی مورد مطالعه قرار گرفته است. یافته‌های جدید نشان می‌دهند، مواد موثره زعفران مثل سافرنال، کروسین، پیکروتوکسین و تری‌کروسین اثرات محافظتی در مقابل آسیب ناشی استرس اکسیداتیو در مدل تجربی ایسکمی گلوبال[۱۶] و موضعی و ایسکمی در شرایط In vitro[۱۵] دارد. تنها یک پژوهش نشان داد، تجویز خوراکی زعفران هفت روز قبل از ایجاد ایسکمی مغزی موضعی باعث کاهش مرگ نرونی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی مغز در موش صحرایی می‌شود.[۱۱]

با توجه به این‌که عصاره زعفران محتوی همه ترکیبات فعال و مواد موثر است، احتمالا اثر محافظتی و آنتی‌اکسیدانتی آن بیشتر از کاربرد مجزای ترکیبات موثر آن در ایسکمی مغزی خواهد بود. از طرفی تاکنون تاثیر زعفران و مواد موثر آن بر ادم مغزی مورد تحقیق و پژوهش قرار نگرفته است. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر زعفران بر ادم، میزان آسیب مغزی و همین‌طور سطح فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو (آنزیم سوپر اکسید دیس‌موتاز و گلوتاتیون پراکسید) و غلظت مالون دی آلدیید در بافت ایسکمیک کورتکس مغزی در مدل تجربی سکته مغزی طراحی شد.

روش بررسی

در ایـن مطالعه تجربی از تعداد ۶۳ سر موش‌های صحرایـی نر نژاد ویستار (۳۲۰-۲۸۰ گرم) استفاده گردید. حیوانات در شرایط استاندارد و دسترسی آزاد به آب و غذا نگه‌داری شده و کلیه آزمایشات مطابق آیین‌نامه کمیته اخلاق پژوهشی در مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان در سال ۱۳۸۹ انجام گردید.

پروتکل و طرح آزمایش: آزمایشات مرحله اول: جهت ارزیابی اثر زعفران (Sigma-Germany) بر ضایعات مغزی، ۲۱ سر موش صحرایی به سه گروه هفت‌تایی به‌ترتیب زیر تقسیم شدند. گروه کنترل کاذب (Sham): در این گروه فقط عمل جراحی صورت گرفته ولی شریان میانی مغز بسته نمی‌شد. گروه کنترل ایسکمیک: در این گروه سالین به‌عنوان حلال دارو بلافاصله بعد از القای ایسکمی به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. گروه درمان: زعفران با دوز ۱۰۰mg/kg به‌صورت داخل صفاقی در شروع ایسکمی تزریق شد. در همه این گروه‌ها ۲۴ ساعت بعد ایسکمی میزان آسیب مغزی بررسی و اندازه‌گیری می‌شد.

آزمایشات مرحله دوم: جهت ارزیابی اثر زعفران بر ادم مغزی ۲۱ سر موش صحرایی به سه گروه هفت‌تایی تقسیم می‌شدند که شامل گروه کنترل کاذب (Sham)، گروه کنترل ایسکمیک و گروه درمان با زعفران بود. این مرحله از آزمایش شبیه مرحله یک بود با این تفاوت که به‌جای ضایعات مغزی، درصد محتوای آب مغز (water%) (content که شاخصی از ادم مغزی است، محاسبه و اندازه‌گیری شد.

آزمایشات مرحله سوم: جهت بررسی اثر آنتی‌اکسیدانتی زعفران ۲۱ سر موش صحرایی به سه گروه هفت‌تایی تقسیم شدند که شامل گروه کنترل کاذب (Sham)، گروه کنترل ایسکمیک و گروه درمان با زعفران بود. این مرحله از آزمایش شبیه مرحله یک بود با این تفاوت که غلظت بافتی مالون دی آلدیید (MDA) Malondialdehyde با استفاده از روش تیوباربیتوریک اسید و سطح فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیس‌موتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسید (GPX) و در بافت ایسکمیک کورتکس مغز با استفاده از کیت مخصوص (Randox Laboratories, Crumlin, UK) اندازه‌گیری شد.

ایجاد ایسکمی مغزی موضعی: جهت ایجاد ایسکمی مغزی موضعی- موقتی، ابتدا موش‌های صحرایی با تزریق کلرال هیدرات (Fluka-Germany) با دوز (۴۰۰mg/kg ip) بیهوش می‌شدند. بعد از اطمینان از عمیق بودن بیهوشی، جهت ثبت جریان خون موضعی مغز، ابتدا پوست ناحیه گیجگاهی زاویه بین چشم و گوش حیوان برش

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-14]

داده و عضله گیجگاهی در محل چسبندگی به استخوان جدا نموده و سپس با کمک میکرودریل حفره‌ای کوچک در سطح استخوان گیجگاهی ایجاد شد. سپس برای ایجاد ایسکمی موضعی مغز، در زیر میکروسکوپ برشی به‌طول دو سانتی‌متر در جلو گردن حیوان ایجاد و عضلات این ناحیه کنار زده شده و شریان‌های کاروتید مشترک و شاخه‌های آن کاروتید خارجی و داخلی را از بافت هم‌بند و عصب جدا و ایزوله شد. شاخه‌های شریان کاروتید خارجی با استفاده از دستگاه کوتری جهت جلوگیری از خون‌ریزی سوزانده و مسدود شد. در ادامه شریان کاروتید خارجی و شریان کاروتید مشترک به‌صورت دایمی و شریان کاروتید داخلی به‌وسیله میکروکلامپ به‌طور موقت مسدود می‌شد. سپس نخ نایلون با شماره ۳/۰ که نوک آن جلو شعله گرده شده بود را از طریق برشی کوچک که در شریان کاروتید خارجی ایجاد گردیده وارد شریان کاروتید داخلی می‌شد. بعد از این مرحله پروب جریان‌سنج لیزری در محل خود در استخوان گیجگاهی ثابت شده و جریان خون پایه مغز برای ۱۵ دقیقه ثبت می‌شد، بعد از تثبیت جریان خون، نخ نایلون داخل شریان کاروتید داخلی به‌آرامی به‌داخل مغز هدایت می‌شد تا جریان خون موضعی به کمتر از ۱۵٪ تا ۲۰٪ میزان پایه کاهش یابد.[۱۷] یک ساعت بعد از ایسکمی نخ نایلون به‌آرامی خارج و جریان خون مجدد برای ۲۳ ساعت در شریان میانی مغز برقرار می‌شد. در طول یک ساعت ایسکمی و تا ۱۵ دقیقه بعد از خارج کردن نخ و برقراری مجدد جریان خون، جریان خون موضعی توسط دستگاه جریان‌سنج لیزری هر پنج دقیقه ثبت و یادداشت می‌شد.[۱۷] در ضمن درجه حرارت حیوان از طریق رکتال کنترل و در تمام طول مدت جراحی تا به‌هوش آمدن کامل حیوان در محدوده فیزیولوژیک نگه داشته می‌شد.

تعیین حجم ضایعه مغزی: تحت بیهوشی عمیق حیوان کشته و سرش جدا و مغز خارج شد. برای برش گیری، مغز را به‌مدت پنج دقیقه در محلول سرم فیزیولوژی چهار درجه قرار داده، سپس به‌کمک Brain matrix هفت برش به‌قطر دو میلی‌متر از مغز تهیه می‌گردید. جهت رنگ‌آمیزی، برش‌ها را به‌مدت ۱۵ دقیقه در محلول دو درصد تری‌فنیل تترازولیوم کلراید (Sigma-Germany) قرار داده شد. در این روش رنگ‌آمیزی منطقه ضایعه دیده به رنگ سفید و منطقه نرمال مغز به رنگ قرمز آجری در می‌آید.[۱۸] در پایان با دوربین دیجیتالی از برش‌ها عکس گرفته و به کامپیوتر منتقل و سطح ناحیه ضایعه دیده با استفاده از نرم‌افزار NIH Image analyzer اندازه‌گیری شد. برای محاسبه حجم، سطح ضایعه مقاطع در ضخامت برش ضرب شد. حجم کل ضایعه مغزی نیز از حاصل جمع ضایعات در هفت برش مغزی به‌دست می‌آمد.[۱۸]

ارزیابی ادم مغزی: حدود ۲۴ ساعت بعد از ایسکمی حیوان کشته شده و مغز به‌دقت خارج می‌گردد. سپس پیاز بویای و پل مغزی را جدا نموده و نیم‌کره ایسکمیک و سالم مغز را با کمک Brain matrix و با دقت بسیار زیاد جدا نموده و وزن مرطوب دو نیم‌کره به‌وسیله ترازوی دقیق به‌دست می‌آید. در ادامه جهت به‌دست آوردن وزن خشک هر نیم‌کره آن‌ها را در داخل Oven با درجه حرارت ۱۱۰ °C برای مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. در نهایت در صد محتوای آب مغز که شاخص میزان ادم مغزی است با فرمول زیر به‌دست آمد.[۱۹]

$$\text{٪ محتوای آب مغز} = \frac{\text{اختلاف وزن مرطوب و خشک نیم‌کره}}{\text{وزن مرطوب نیم‌کره}} \times ۱۰۰$$

اندازه‌گیری سطح فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیس‌موتاز و گلوتاتیون پراکسید و تعیین غلظت مالون دی آلدیید در بافت ایسکمیک مغزی: بیست و چهار ساعت بعد از ایسکمی مغزی، حیوان تحت بیهوشی عمیق کشته و مغز خارج شده و کورتکس از بقیه قسمت‌های مغز با دقت جدا شده و در ظرف مخصوص در دمای ۷۰- °C تا زمان انجام آزمایش نگه‌داری می‌شد. نمونه‌ها در هنگام آزمایش در بافر مخصوص هموژنیزه و در ۲۰۰۰۰ G سانتریفوژ شدند. سپس از محلول رویی (Supernatant) نمونه جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های SOD و GPX، تعیین غلظت MDA و پروتیین استفاده شد.

فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیس‌موتاز و با استفاده از کیت‌های شرکت راندوکس (Randox Laboratories, Crumlin, UK) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده و با کمک دستگاه فتومتر (Stat fax 3300-USA) اندازه‌گیری گردید.[۲۰] برای تعیین غلظت پروتیین از روش برادفورد استفاده شد. ۲۰ برای این منظور دو میلی‌لیتر از محلول برادفورد به ۴۰ میکرولیتر از محلول هموژنیزه نمونه بافتی اضافه شده و به‌مدت پنج دقیقه در دمای آزمایشگاه انکوبه شد. سپس در طول موج ۵۹۵ نانومتر و در برابر بلانک معرف جذب آن قرائت شد. منحنی استاندارد با استفاده از سرم آلبومین گاوی رسم و غلظت پروتیین بافت بر اساس آن اندازه‌گیری گردید.[۲۰] از روش تیوباربیتوریک اسید برای اندازه غلظت بافتی مالون دی آلدیید استفاده

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-14]

شد.[۲۱] برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی آلدیید در بافت ایسکمیک مغز، ۲۵۰ میکرولیتر از محلول رویی نمونه اولیه را با ۱/۵ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۱٪ و نیم میلی‌لیتر محلول آبی تیوباربیتوریک اسید ۰/۶ درصد مخلوط کرده و به‌مدت ۴۵ دقیقه در دستگاه بن ماری قرار داد می‌شد. پس از خنک شدن دو میلی‌لیتر محلول n-butanol به محلول فوق افزوده شده و به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰G سانتریفیوژ گردید. محلول رویی نمونه به یک لوله تازه منتقل گشته و جذب نوری آن در طول موج ۵۳۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید و با منحنی استاندارد که از محلول‌های استاندارد تهیه شده از ۱، ۱، ۳، ۳- تترامتیل پروپان به‌دست آمده بود، خوانده شد. غلظت مالون دی آلدیید بر حسب نانومول بر میلی‌گرم پروتیین بیان شد.[۲۱] نتایج به‌صورت میانگین± انحراف معیار (Mean±SD) بیان شده است. آزمون آماری نشان داد توزیع داده در مورد درصد آب مغز و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان‌ها نرمال بود، بنابراین برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون پارمتریک One Way ANOVA و روش Dennett's به‌عنوان Post-hoc analysis برای آنالیز آماری استفاده گردید. با توجه به این‌که آزمون آماری نشان داد توزیع داده در مورد حجم ضایعات مغزی نرمال نبود، برای مقایسه بین دو گروه از آزمون Mann-Whitney U-test برای آنالیز آماری استفاده شد. در صورتی‌که P<۰/۰۵ بود اختلاف بین گروه معنی‌دار تلقی می‌گردید. از نرم‌افزار (SigmaStat 3.0, Jandel Scientific, Erkrath Germany) برای آنالیز نتایج استفاده شد.

یافته‌ها

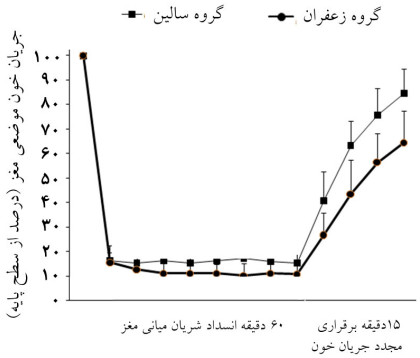
۱- جریان خون موضعی: مسدود کردن شریان میانی مغز باعث شده است تا جریان خون موضعی به کمتر از ۱۵ درصد سطح پایه در هر دو گروه سالین (کنترل ایسکمیک) و زعفران کاهش بیابد. اگرچه جریان خون موضعی در طول ۶۰ دقیقه ایسکمی در گروه زعفران کمتر از گروه سالین بوده است ولی این اختلاف بین دو گروه معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵، نمودار ۱).

۲- تاثیر زعفران بر میزان آسیب و ادم مغزی: تجویز زعفران در شروع سکته مغزی باعث کاهش ۷۷ درصدی حجم آسیب مغزی (۱۱±۴۵ میلی‌متر مکعب) در مقایسه با گروه کنترل ایسکمیک یا سالین (mm^3 ۲۰۱±۲۵) شد (P<۰/۰۰۱، نمودار ۲). علاوه بر این زعفران سطح آسیب مغزی را از برش دو تا پنج سطح قدامی به‌سمت خلفی مغز را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه سالین کاهش داد (P<۰/۰۰۱، نمودار ۳). درصد محتوای آب مغز بیست و چهار ساعت بعد از جراحی در نیم‌کره‌های چپ (غیر ایسکمیک) در گروه کنترل کاذب ۷۸/۲±۰/۳، گروه کنترل سالین ۷۸/۴±۰/۳ و در گروه زعفران ۷۸/۵±۰/۳۲ بود که اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵، نمودار ۳). ایجاد سکته مغزی موضعی به‌طور معنی‌داری باعث افزایش درصد محتوای آب مغز در نیم‌کره ایسکمیک (۸۲/۴±۰/۷۸) و چهار درصدی ادم مغزی شد (P<۰/۰۰۱، نمودار ۴). تجویز زعفران با دوز ۱۰۰mg/kg در شروع ایسکمی باعث کاهش معنی‌دار درصد محتوای آب مغز (۸۰/۱±۰/۴۳) شده و ادم مغزی را به‌میزان ۶۰٪ در مقایسه با گروه کنترل یا سالین کاهش داد (P<۰/۰۰۱، نمودار ۴).

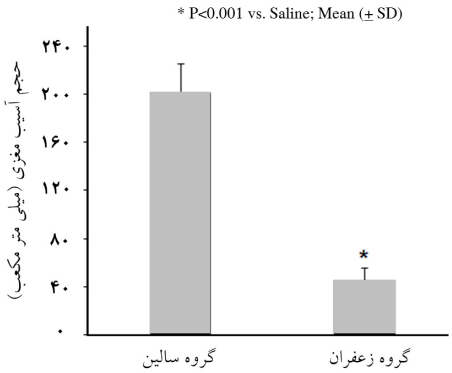
۳- تاثیر زعفران بر غلظت بافتی مالون دی آلدیید در کورتکس مغز: غلظت مالون دی آلدیید در کورتکس بیست و چهار ساعت بعد از جراحی در گروه کنترل کاذب ۲/۲±۰/۳۸nmol/mg Protein بود، ایجاد سکته مغزی موجب افزایش غلظت بافتی مالون دی آلدیید (۳/۶±۰/۲۷nmol/mg Protein) به‌میزان معنی‌دار گردید (P≤۰/۰۰۱). تجویز زعفران در شروع ایسکمی باعث کاهش معنی‌دار غلظت بافتی مالون دی آلدیید (۳/۱±۰/۲۶nmol/mg Protein) شد (P≤۰/۰۰۱).

۴- تاثیر زعفران بر فعالیت بافتی آنزیم سوپر اکسید دیس‌موتاز و گلوتاتیون پراکسید در کورتکس مغز: فعالیت بافتی آنزیم سوپر اکسید دیس‌موتاز در کورتکس مغز، بیست و چهار ساعت بعد از جراحی در گروه کنترل کاذب ۲۲±۰/۳۳U/mg Protein بود، ایجاد سکته مغزی باعث کاهش معنی‌داری فعالیت بافتی آنزیم سوپر اکسید دیس‌موتاز (۱۵/۳±۰/۲۸U/mg Protein) در کورتکس شد (P≤۰/۰۰۱، نمودار ۵). در حالی‌که تزریق زعفران در شروع ایسکمی باعث افزایش معنی‌دار فعالیت بافتی آنزیم سوپر اکسید دیس‌موتاز (Protein ۱۶/۲±۰/۳۷U/mg) در کورتکس مغز شد (P<۰/۰۰۱). فعالیت بافتی آنزیم گلوتاتیون پراکسید در کورتکس مغز بیست و چهار ساعت بعد از جراحی در گروه کنترل کاذب ۰/۳۲±۰/۰۲ U/mg Protein بود، ایجاد سکته مغزی باعث کاهش معنی‌داری فعالیت بافتی آنزیم گلوتاتیون پراکسید (۰/۲۶±۰/۰۲U/mg Protein) در کورتکس شد (P≤۰/۰۰۱، نمودار ۶). در حالی‌که تزریق زعفران در شروع ایسکمی باعث افزایش معنی‌دار فعالیت بافتی آنزیم گلوتاتیون پراکسید (۰/۲۹±۰/۰۱U/mg Protein) در کورتکس مغز شد (P<۰/۰۰۱).

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-14]



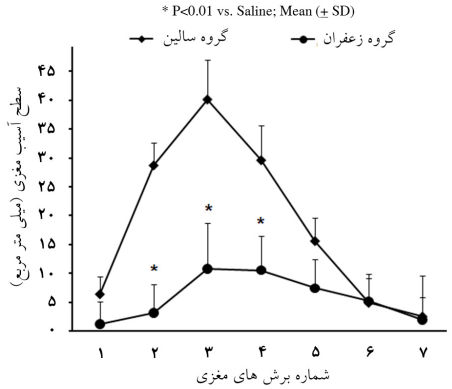
نمودار-۱: جریان خون موضعی مغز قبل و در طول ۶۰ دقیقه انسداد شریان میانی مغز و ۱۵ دقیقه بعد از برقراری جریان خون در گروه سالین (شاهد) و زعفران



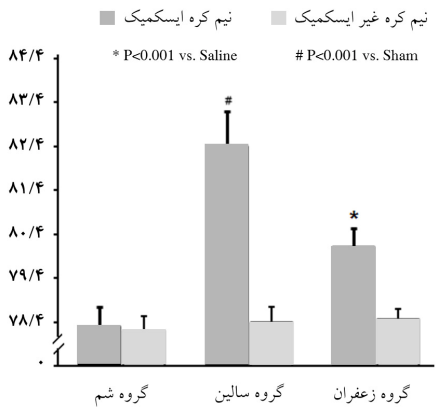
نمودار-۲: حجم آسیب مغزی (mm^3) در گروه‌های سالین (شاهد) و زعفران بیست و چهار ساعت بعد از ایسکمی مغزی موضعی در موش صحرایی

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد، زعفران آسیب ناشی از ایسکمی مغزی موضعی را به‌میزان زیادی در موش صحرایی کاهش می‌دهد. این یافته تا حدودی مشابه مطالعه Saleem است که نشان داد مصرف خوراکی زعفران هفت روز قبل از ایجاد ایسکمی مغزی موضعی می‌تواند از آسیب اکسیداتیو و مرگ نرونی در موش صحرایی پیش‌گیری نماید.[11] همین‌طور یافته ما تا حدودی با نتایج مطالعات دیگران هم‌خوانی دارد، که در آن نشان داده شد، زعفران اثر محافظتی در مقابل آسیب اکسیداتیو در کلیه[12] و عضله اسکلتی[13] ناشی از ایسکمی را در موش صحرایی دارد. Joukar نشان داد، مصرف خوراکی زعفران از طریق تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانتی اثر پیش‌گیری‌کنندگی در مقابل آسیب قلبی القا شده با ایزوپرترانول دارد،



نمودار-۳: سطح آسیب مغزی (mm^2) در هفت برش مغزی از قسمت قدامی به بخش خلفی مغز در گروه‌های سالین (شاهد) و زعفران بیست و چهار ساعت بعد از ایسکمی مغزی موضعی در موش صحرایی



نمودار-۴: درصد محتوای آب مغز در نیم‌کره ایسکمیک (راست) و نیم‌کره غیر ایسکمیک (چپ) در گروه‌های شم (کنترل کاذب) و سالین (شاهد) و زعفران بیست و چهار ساعت بعد از جراحی یا ایسکمی مغزی موضعی در موش

این یافته نیز می‌تواند تاییدی بر نتایج تحقیق حاضر باشد.[14] به‌دنبال کاهش یا قطع جریان خون موضعی مغز، سلول‌های عصبی در مرکز قطع جریان سلول عصبی در همان دقایق اولیه سکته مغزی از بین رفته و آسیب‌های اولیه را ایجاد می‌کنند. ولی سلول‌های عصبی که حاشیه مرکز قطع جریان خون (ناحیه Penumbra) قرار دارند، زنده‌اند ولی فاقد عملکرد طبیعی هستند و به‌تدریج ممکن است از بین رفته و آسیب ثانویه پس از سکته مغزی را به‌وجود آورند.[22] سلول‌های عصبی مستقر در ناحیه Penumbra قابلیت بازیابی به‌وسیله داروهای

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-14]

نروپروتکتیو برای آن‌ها متصور است.[۲۳] کورتکس مغز به‌دلیل وجود جریان خون جانبی زیاد بخش اصلی Penumbra به خود اختصاص می‌دهد.[۲۳و۲۲] در همین راستا، نتایج دیگر این مطالعه نشان داد، اثر محافظتی زعفران عمدتا را در برش دو تا پنج مغزی که بخش اعظم کورتکس مغز و ناحیه Penumbra را تشکیل می‌دهد، مشاهده شده است. هم‌چنین در این تحقیق برای اولین‌بار ما نشان دادیم، زعفران می‌تواند ادم مغزی را که یکی از علت اصلی ایجاد و گسترش آسیب ثانویه پس از سکته مغزی است را به‌میزان قابل ملاحظه‌ای در مدل تجربی ایسکمی مغزی موضعی- موقتی کاهش دهد. اگرچه تاکنون مطالعه مشابه‌ای در این زمینه انجام نشده است ولی برخی شواهد غیر مستقیم نشان داده‌اند کروسین از اجزای موثر زعفران اثر محافظتی در مقابل تخریب سد خونی مغزی بعد از ایسکمی مغزی گلوبال در موش سوری دارد.[۱۶] کاهش نفوذپذیری عروق مغزی در طول ایسکمی می‌تواند شاهدی بر کاهش ادم مغزی باشد که تا حدودی می‌تواند نتایج مطالعه حاضر را تایید نماید.[۱۷] پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند استرس‌های اکسیداتیو در پاتوژنز مرحله حاد سکته مغزی نقش محوری دارند.[۲۲و۱۶] ایجاد ایسکمی مغزی موضعی- موقتی باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، نیتریک اکساید و کاهش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مثل سوپراکسید دیس‌موتاز، گلوتاتیون و کاتالاز می‌شود.[۱۱] رادیکال‌های آزاد به‌وسیله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان داخل سلولی از قبیل آنزیم‌های سوپراکسید دیس‌موتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالازها برداشته و حذف می‌شوند.[۲۴] کاهش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان‌ها در طول ایسکمی مغزی و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و اکسیدان‌ها مسیرهای سیگنالینگ آسیب‌رسان مختلفی از جمله مسیر مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی را فعال کرده و باعث افزایش آسیب و در نهایت مرگ سلولی می‌شود.[۱۶و۱۱] پژوهش قبلی گزارش کرده‌اند، مهارکننده پراکسیداسیون چربی غشا و یا از بین برنده‌های رادیکال آزاد اثر محافظتی در مقابل سکته مغزی دارند.[۲۵و۷و۱] همین‌طور تحریک افزایش بیان آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاز باعث مقاومت بیشتر در برابر ایسکمی و برعکس حذف آن باعث افزایش حجم سکته مغزی در موش سوری می‌شود.[۲۷و۲۶] کاهش سطح فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیس‌موتاز، گلوتاتیون پراکسیداز در طول ایسکمی مغزی موضعی، احتمالا حساسیت سلول‌های عصبی را به‌عوامل آسیب‌رسان از قبیل رادیکال‌های آزاد و شروع مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی افزایش می‌یابد، لذا برگرداندن و یا حفظ فعالیت سطح داخل سلولی این آنزیم‌ها به‌وسیله تحریک افزایش سنتز آن ممکن است سلول‌ها را در مقابل آسیب و مرگ محافظت نماید. شواهد پژوهشی نشان می‌دهند، زعفران و مواد موثره آن سیستم آنتی‌اکسیدانتی را تقویت نموده و تولید رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد.[۱۵و۱۱] نتایج پژوهش حاضر هم نشان داد، زعفران در بافت ایسکمیک کورتکس مغز پراکسیداسیون چربی‌های غشای سلول‌های عصبی را کاهش داده و همین‌طور فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان‌ها از قبیل سوپراکسید دیس‌موتاز، گلوتاتیون پراکسیداز را تقویت می‌نماید. بنابراین به‌نظر می‌آید در مطالعه حاضر زعفران از طریق کاهش تولید رادیکال‌های آزاد و افزایش سطح فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانتی مرگ نرونی و ادم مغزی را در مدل تجربی ایسکمی مغزی موضعی کاهش داده باشد. همین‌طور پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند، TNF-α (فاکتور نکروزدهنده توموری- آلفا) به‌عنوان یک فاکتور پیش‌التهابی نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی ادم و آسیب مغزی پس از تروما و سکته مغزی دارد.[۲۹و۲۸و۱۷] اگرچه مطالعه‌ای وجود ندارد که نشان دهد، زعفران سنتز TNF-α در طول ایسکمی مغزی مهار می‌نماید، اما شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد، کروسین از ترکیبات موثر زعفران می‌تواند در محیط In vitro مرگ نرونی ناشی از TNF-α را مهار نماید.[۳۰] بنابراین ممکن است بخشی از اثرات مفید زعفران از طریق مهار سنتز TNF-α اعمال شده باشد. مطالعات بیشتری برای روشن شدن این ادعا و گمان در سطح سلولی و مدل‌های حیوانی سکته مغزی نیاز است. به‌طور خلاصه نتایج این مطالعه نشان داد، زعفران اثر آنتی‌اکسیدانتی قوی دارد و می‌تواند از طریق کاهش تولید رادیکال‌های آزاد و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانتی سلولی مرگ نرونی و ادم مغزی را در مدل تجربی ایسکمی مغزی موضعی کاهش دهد.

سپاسگزاری: این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی سمنان (طرح تحقیقاتی شماره ۳۱۲) انجام شد. این مقاله بخشی از پایان‌نامه آقای محمد رضا عینعلی دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی است. نویسندگان مقاله از همکاری و مساعدت آقای دکتر عباسعلی وفایی استاد تمام گروه فیزیولوژی و دکتر علی رشیدی پور ریاست محترم مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان قدردانی و تشکر می‌نمایند.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-14]

References

1. Chan PH. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001;21(1):2-14.
2. Tarawneh R, Galvin JE. Potential future neuroprotective therapies for neurodegenerative disorders and stroke. *Clin Geriatr Med* 2010;26(1):125-47.
3. Silver IA, Erecińska M. Extracellular glucose concentration in mammalian brain: continuous monitoring of changes during increased neuronal activity and upon limitation in oxygen supply in normo-, hypo-, and hyperglycemic animals. *J Neurosci* 1994;14(8):5068-76.
4. Wilson JX. Antioxidant defense of the brain: a role for astrocytes. *Can J Physiol Pharmacol* 1997;75(10-11):1149-63.
5. Chen H, Yoshioka H, Kim GS, Jung JE, Okami N, Sakata H, et al. Oxidative stress in ischemic brain damage: mechanisms of cell death and potential molecular targets for neuroprotection. *Antioxid Redox Signal* 2011;14(8):1505-17.
6. Fraser PA. The role of free radical generation in increasing cerebrovascular permeability. *Free Radic Biol Med* 2011;51(5):967-77.
7. Heo JH, Han SW, Lee SK. Free radicals as triggers of brain edema formation after stroke. *Free Radic Biol Med* 2005;39(1):51-70.
8. Rıos JL, Recio MC, Giner RM, Manez S. An update review of saffron and its active constituents. *Phytother Res* 1996;10:189-93.
9. Kianbakht S. A systematic review on pharmacology of saffron and its active constituents. *J Med Plants* 2009;28(4):1-23. [Persian]
10. Schmidt M, Betti G, Hensel A. Saffron in phytotherapy: pharmacology and clinical uses. *Wien Med Wochenschr* 2007;157(13-14):315-9.
11. Saleem S, Ahmad M, Ahmad AS, Yousuf S, Ansari MA, Khan MB, Ishrat T, Islam F. Effect of Saffron (Crocus sativus) on neurobehavioral and neurochemical changes in cerebral ischemia in rats. *J Med Food* 2006;9(2):246-53.
12. 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 Pharm Sci* 2005;8(3):387-93.
13. 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):343-50.
14. Joukar S, Najafipour H, Khaksari M, Sepehri G, Shahrokhi N, Dabiri S, Gholamhoseinian A, Hasanzadeh S. The effect of saffron consumption on biochemical and histopathological heart indices of rats with myocardial infarction. *Cardiovasc Toxicol* 2010;10(1):66-71.
15. Ochiai T, Shimeno H, Mishima K, Iwasaki K, Fujiwara M, Tanaka H, Shoyama Y, Toda A, Eyanagi R, Soeda S. Protective effects of carotenoids from saffron on neuronal injury in vitro and in vivo. *Biochim Biophys Acta* 2007;1770(4):578-84.
16. 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.
17. Vakili A, Mojarrad S, Akhavan MM, Rashidy-Pour A. Pentoxifylline attenuates TNF-α protein levels and brain edema following temporary focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res* 2011;1377:119-25.
18. Vakili A, Zahedi khorasani M. Post-ischemic treatment of pentoxifylline reduces cortical not striatal infarct volume in transient model of focal cerebral ischemia in rat. *Brain Res* 2007;1144:186-91.
19. Vakili A, Kataoka H, Plesnila N. Role of arginine vasopressin V1 and V2 receptors for brain damage after transient focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005;25(8):1012-9.
20. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976;72:248-54.
21. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1978;86(1):271-8.
22. Doyle KP, Simon RP, Stenzel-Poore MP. Mechanisms of ischemic brain damage. *Neuropharmacology* 2008;55(3):310-8.
23. Segura T, Calleja S, Jordan J. Recommendations and treatment strategies for the management of acute ischemic stroke. *Expert Opin Pharmacother* 2008;9(7):1071-85.
24. Kakita T, Suzuki M, Takeuchi H, Unno M, Matsuno S. Significance of xanthine oxidase in the production of intracellular oxygen radicals in an in-vitro hypoxia-reoxygenation model. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2002;9(2):249-55.
25. Kontos HA. Oxygen radicals in cerebral ischemia: the 2001 Willis lecture. *Stroke* 2001;32:2712-6.
26. Kim GW, Kondo T, Noshita N, Chan PH. Manganese superoxide dismutase deficiency exacerbates cerebral infarction after focal cerebral ischemia/reperfusion in mice: implications for the production and role of superoxide radicals. *Stroke* 2002;33(3):809-15.
27. Kondo T, Reaume AG, Huang TT, Murakami K, Carlson E, Chen S, et al. Edema formation exacerbates neurological and histological outcomes after focal cerebral ischemia in CuZn-superoxide dismutase gene knockout mutant mice. *Acta Neurochir Suppl* 1997;70:62-4.
28. Hosomi N, Ban CR, Naya T, Takahashi T, Guo P, Song XY, et al. Tumor necrosis factor-alpha neutralization reduced cerebral edema through inhibition of matrix metalloproteinase production after transient focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005;25(8):959-67.
29. Sriram K, O'Callaghan JP. Divergent roles for tumor necrosis factor-alpha in the brain. *J Neuroimmune Pharmacol* 2007;2(2):140-53.
30. Soeda S, Ochiai T, Paopong L, Tanaka H, Shoyama Y, Shimeno H. Crocin suppresses tumor necrosis factor-alpha-induced cell death of neuronally differentiated PC-12 cells. *Life Sci* 2001;69(24):2887-98.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-14]

Tehran University Medical Journal; Vol. 69, No. 7, October 2011: 405-412

The protective effects of Saffron against the oxidative damage in a transient model of focal cerebral ischemia in rats

Abedin Vakili Ph.D.[1*]
Mohammad Reza Eianali M.Sc.[1]
Ahmad Reza Bandegi Ph.D.[2]

1- Department and Research Center of Physiology, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran.
2- Department of Biochemistry, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran.

Received: July 12, 2011 Accepted: July 25, 2011

Abstract

Background: Numerous studies have shown the protective effects of saffron against oxidative damage in a global model of cerebral ischemia, but its effects on brain edema and oxidative ischemic injury in focal ischemic stroke are not completely understood. Therefore, this study was designed to investigate the effects of saffron on brain edema, infarct volume, antioxidant enzyme activity (glutathione peroxidase and superoxide dismutase) and concentration of malondialdehyde (MDA) in ischemic brain tissue in an experimental model of stroke.

Methods: Focal brain ischemia was established with the temporary occlusion of the middle cerebral artery for one hour in rats. Saffron (100 mg/kg) was given intra-peritoneally at the onset of ischemia. 24 hours later, brain edema and infarct volume were evaluated and glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities and MDA concentration were measured in the ischemic brain tissue using a specific kit.

Results: The results showed that saffron reduced infarct volume by 77% ($P<0.001$) and brain edema by 60% ($P<0.001$) compared with the control group in 24 hours following ischemia. Moreover, saffron significantly reduced the content of MDA ($P<0.001$) and increased the activity of superoxide dismutase ($P<0.001$) and glutathione peroxidase ($P<0.001$) in the cortex of the ischemic brain tissue.

Conclusion: Saffron has protective effects against oxidative ischemic damage and brain edema in a transient model of focal cerebral ischemia in rats. This protective effect is probably induced by increasing the capacity of antioxidant enzymes and decreasing the production of free radicals.

Keywords: Brain edema, focal cerebral ischemia, oxidative damage, rat, saffron.

* Corresponding author: Km 5 Road Damghan, Faculty of Medicine, Dept. and Research Center of Physiology, Semnan, Iran.
Tel: +98-231-3354161
E-mail: Abvakili@yahoo.com

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-14]