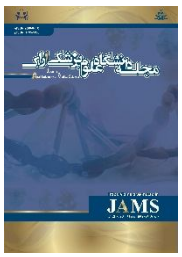
JAMS
مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک
دوره بیست و یک، شماره پنج، مهر و آبان ۱۳۹۷
journal homepage: http://jams.arakmu.ac.ir



مقاله پژوهشی

بررسی اثر عصاره آبی زعفران بر پارامترهای استرس اکسیداتیو و آنزیم‌های بیوشیمیایی مهم بافت کبد در موش‌های صحرایی دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین

فرزانه روشناس[۱]، محبوبه اشرافی[۱]، سعید نظیفی[۲*]، محمود امین لاری[۱]، سارا طالبان‌زاده[۱]

۱. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

۲. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۲۴

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۰۶

تاریخ انتشار: ۹۷/۰۸/۱۵

واژگان کلیدی

آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و بیوشیمیایی

استرپتوزوسین

دیابت قندی

عصاره آبی زعفران

کبد

***نویسنده مسئول:**

سعید نظیفی

آدرس پستی: ایران، شیراز، دانشگاه شیراز، گروه علوم درمانگاهی.

تلفن: +98 917 702 3010

نمابر: +98 71 3228 6950

E-mail:
nazifi@shirazu.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: گیاهان دارویی به واسطه داشتن خواص آنتی اکسیدانی ممکن است با کاهش استرس اکسیداتیو باعث بهبود عملکرد ارگان‌های مختلف متاثر از هیپرگلیسمی گردند. هدف از تحقیق حاضر، ارزیابی اثرات تجویز عصاره آبی زعفران به موش‌های دیابتی با تکیه بر اندازه‌گیری پارامترهای استرس اکسیداتیو و آنزیم‌های بیوشیمیایی مهم بافت کبد بود.

مواد و روش‌ها: ۷۲ ساعت بعد از تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (STZ) (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، حیوانات با قند خون ناشتای بیش از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان موش‌های دیابتی در نظر گرفته شدند و گروه‌های آزمایشگاهی شامل: ۱) کنترل، ۲) کنترل دارو، ۳) دیابتی و ۴) دیابتی دارو بودند. تیمار از روز هفتم بعد از تجویز STZ با تزریق درون صفاقی عصاره آبی زعفران (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، ۵ دوز و هفته‌ای یک بار در گروه‌های ۲ و ۴ آغاز شد. در انتهای دوره آزمایش، بعد از خون‌گیری و برداشت بافت‌ها، اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی انجام گرفت.

یافته‌ها: نتایج بیان‌گر اختلال در فعالیت آنزیم‌های مهم کبدی در گروه دیابتی است و عصاره آبی زعفران باعث تنظیم و طبیعی شدن میزان فعالیت آن‌ها گردید. علاوه بر این، عصاره آبی زعفران با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی باعث کم‌کردن استرس اکسیداتیو القایی با دیابت و بنابراین کاهش میزان MDA در گروه ۴ نسبت به گروه ۳ گردید.

نتیجه‌گیری: عصاره آبی زعفران علاوه بر موثربودن در کنترل قند خون با داشتن توانایی آنتی اکسیدانی باعث حفاظت بافت کبد موش‌های دیابتی از آسیب به واسطه هیپرگلیسمی نیز می‌شود.

تمامی حقوق انتشار این اثر، متعلق به دانشگاه علوم پزشکی اراک می‌باشد.

www.SID.ir

۱. مقدمه

دیابت قندی یکی از بیماری‌های متابولیکی مزمن و اپیدمی اصلی این قرن است که میزان بروز آن در خلال ۱۰ سال گذشته ۵۰ درصد افزایش یافته است. این اپیدمی جدید در عین حال یکی از قدیمی‌ترین بیماری‌های جهان است و در یادداشت‌های ثبت شده از تمدن‌های ایران، مصر و هند باستان توصیف شده است. دو شکل اصلی از این بیماری وجود دارد (نوع ۱ و ۲) و مشخصه بالینی این بیماری هیپرگلیسمی به دلیل نقص در ترشح و یا عملکرد انسولین است (۱). در این بیماری هیپرگلیسمی مزمن سبب بروز عوارض زیادی از جمله نقص در بینایی، بیماری‌های کلیوی، آسیب‌های عصبی، بیماری‌های قلبی- عروقی و غیره می‌شود (۲).

کبد از اندام‌هایی است که در بیماری دیابت تحت تاثیر قرار می‌گیرد. این بیماران با گذشت زمان دچار بیماری کبد چرب می‌شوند.

اخیرا مطالعات آزمایشگاهی و بالینی نشان داده است که پیش از بروز کبد چرب در این بیماران، این اندام دچار استرس اکسیداتیو و در نتیجه آسیب هپاتوسلولار شده است (۳). در افراد سالم، سلول‌های مرده کبدی سبب تحریک همانندسازی هپاتوسیت‌ها و در نتیجه بازسازی بافت آسیب دیده کبدی می‌شوند. اما در افراد دیابتی واجد کبد چرب با وجود استرس اکسیداتیو این همانندسازی سلولی مهار شده و زمینه برای بروز فیبروز کبدی و سایر مشکلات دیگر کبدی مهیا می‌شود (۴). در این بیماری تشکیل محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته (AGE) و اتواکسیداسیون گلوکز با تولید رادیکال‌های آزاد در ایجاد استرس اکسیداتیو و در نتیجه شروع و پیشرفت آسیب‌های بافتی نقش به‌سزایی دارند (۵).

درمان‌های بنیادی مورد استفاده برای دیابت، استفاده از انسولین و داروهای آنتی هیپرگلیسمیک است. هر چند ممکن است استفاده از آن‌ها اثرات زیان‌آور مهمی داشته و همیشه قادر به حفظ حالت گلیسمی و جلوگیری از بروز عوارض این بیماری نباشند (۲). بنابراین جایگزین کردن درمان‌های موثر طبیعی به جای درمان‌های شیمیایی و دارویی که نقش مهمی در پیشگیری از بروز و یا پیشرفت یک بیماری داشته باشند، ارجح است.

گیاهان دارویی از زمان‌های قدیم در مصر، یونان، چین، هند و ایران باستان در درمان بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گرفتند. در این راستا، گیاه زعفران (کروکوس ساتیووس) علاوه بر این‌که به عنوان یک ادویه در رنگ، طعم و عطردادن به غذا مورد استفاده قرار می‌گرفته، در درمان بیماری‌های مختلف نیز مورد به‌کار می‌رفته است.

از اجزای مهم تشکیل‌دهنده زعفران می‌توان به کروسین(ها)، کروستین، پیکروکروسین و سافرانال اشاره کرد (۶). این اجزا علاوه بر خواص آنتی اکسیدانی (۶، ۷) واجد خواص متفاوتی چون کاهنده لیپیدهای سرمی (۸)، محافظت کننده قلب، اعصاب و کبد (۱۱-۹)، اثرات ضد سرطانی، افزایش‌دهنده حساسیت به انسولین و ضد التهابی هستند (۱۲). تاثیر عصاره آبی زعفران بر فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون موش‌های دیابتی بررسی شده است (۱۳).

بر اساس تحقیقاتی که در سال‌های اخیر انجام شده، این گیاه واجد خواص درمانی فراوانی به ویژه خاصیت آنتی اکسیدانی می‌باشد (۶، ۷).

بنابراین با توجه به خاصیت آنتی اکسیدانی بالای زعفران و از طرف دیگر وجود استرس اکسیداتیو در بافت کبد موش‌های دیابتی و نقش موثر آن در بروز اختلالات کبدی، در تحقیق حاضر تاثیر عصاره آبی زعفران بر پارامترهای استرس اکسیداتیو (SOD، CAT، MDA، GPx) و بهبود عملکرد این بافت با ارزیابی فعالیت آنزیم‌های AST، ALT، ALP، GGT و ChE بررسی گردید.

تاکنون تحقیقی در رابطه با تاثیر عصاره آبی زعفران بر پارامترهای ذکر شده در بافت کبد انجام نشده است.

۲. ملاحظات اخلاقی

این مطالعه با کد اخلاقی EC/ ۶۰۹/ ۸۶ توسط کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه شیراز به تصویب رسیده است.

Archive of SID
www.SID.ir

۳. مواد و روش‌ها

تهیه عصاره آبی زعفران

در هر مرحله، یک گرم پودر کلاله خشک زعفران (Crocus Sativus L.) با ۲۵ سی‌سی آب مقطر دو بار یونیزه مخلوط شده و با استفاده از شیکر به مدت سه روز در محیطی تاریک خیسانده شد. بعد از صاف کردن با کاغذ صافی و انجام سانتریفیوژ، حجم‌های ۵ سی‌سی از عصاره رویی در شیشه‌های یونیورسال فریز شدند. سپس به وسیله دستگاه Freeze drier به پودر تبدیل شد و پودرهای حاصل تا زمان استفاده در فریزر نگهداری شدند. در زمان تزریق، بعد از وزن کردن موش‌ها و محاسبه میزان عصاره مورد نیاز، عصاره در آب مقطر استریل حل شد و تجویز گردید.

القای دیابت و تیمار با عصاره آبی زعفران

تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار آلبینو (۷ تا ۸ هفته) با متوسط وزن ۲۰۰ گرم خریداری شد. بعد از گذشت یک هفته و سازگاری آن‌ها با محیط، به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند شامل: ۱) کنترل (۷ سر): موش‌های سالم بدون دریافت STZ و عصاره آبی زعفران، ۲) کنترل دارو (۷ سر): موش‌های سالم دریافت‌کننده عصاره آبی زعفران (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ۳) دیابتی (۹ سر): موش‌های دریافت کننده STZ و ۴) دیابتی دارو (۹ سر): موش‌های دریافت کننده STZ و عصاره آبی زعفران (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم). دیابت با تزریق استرپتوزوتوسین (تک دوز ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به صورت درون صفاقی القا شد. به منظور القای دیابت، در ابتدا یک محلول ذخیره از STZ با غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در بافر سدیم سیترات تهیه و حجم‌های تزریقی برای هر موش محاسبه گردید. در سایر گروه‌ها، با محاسبه حجم مورد نیاز، تنها بافر سدیم سیترات تزریق شد. ۷۲ ساعت بعد از القای دیابت، قند خون ناشتای موش‌ها بررسی و موش‌های واجد قند خون بالای ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان موش‌های دیابتی در نظر گرفته شدند.

یک هفته بعد از القای دیابت، تیمار در گروه‌های کنترل دارو و دیابتی دارو با عصاره آبی زعفران با دوز ذکر شده به صورت درون صفاقی و هفته‌ای یک بار انجام شد که تا ۵ هفته نیز ادامه داشت. موش‌ها در تمام طول دوره به صورت مداوم به آب و غذا دسترسی داشتند. به منظور پیشگیری از ابتلا به بیماری‌ها، قبل از ورود موش‌ها و در تمام طول دوره شرایط کامل امنیت زیستی اعمال گردید. ضمن این‌که در رفتار با این حیوانات، از آیین‌نامه اخلاق زیستی مصوب دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز تبعیت گردید.

بعد از اتمام دوره آزمایش، بافت‌های موش‌ها در شرایط بیهوشی برداشته شده و بعد از انجماد در ازت مایع، برای انجام آزمایشات بیوشیمیایی و اندازه‌گیری پارامترهای استرس اکسیداتیو در ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی

برای تهیه هموژن بافتی، میزان ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت کبد هر موش در ۱ سی‌سی بافر سدیم فسفات ۰/۱ مولار با pH ۷/۴ با استفاده از دستگاه سونیکاتور روی یخ هموژن گردید. سپس عصاره بافتی، با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با شرایط ۱۴۰۰۰ گرم به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. عصاره رویی استخراج و در میکروتیوب‌های ۰/۵ با حجم‌های کم تقسیم شده، در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آنزیم‌های بیوشیمیایی و پارامترهای استرس اکسیداتیو بافت کبد از جمله آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، کولین استراز (ChE) و گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT) با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالیزور آلفا کلاسیک ساخت ایران اندازه‌گیری شدند. آنزیم کاتالاز با روش آنزیمی واکنش رنگی آمونیوم هیپتومولیبدات با H_2O_2 اندازه‌گیری شد. میزان مالون دی آلدئید (MDA) و فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) با استفاده از کیت‌های شرکت زلبیو ساخت آلمان و دستگاه الیزا ریدر کانورجنت ساخت آلمان اندازه‌گیری شدند. در نهایت به منظور محاسبه میزان فعالیت ویژه آنزیم‌های ذکر شده، غلظت پروتئین نمونه‌ها با روش لوری اندازه‌گیری شد.

Archive of SID

www.SID.ir

تحلیل آماری

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید و سپس مقایسه بین گروه‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ و تست آماری آنووای یک‌طرفه و استفاده از تست تعقیبی توکی انجام گرفت. ضمن این که سطح معنی‌داری کم‌تر از ۰/۰۵ ($p < ۰/۰۵$) در نظر گرفته شد.

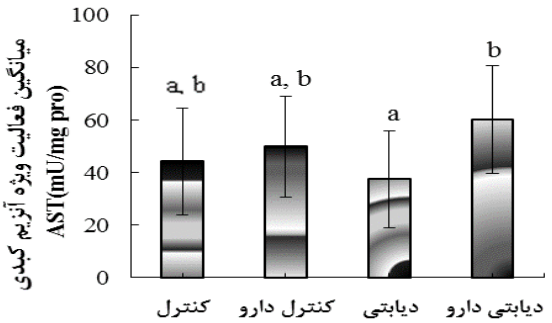
۴. یافته‌ها

ارزیابی قند خون ناشتا در گروه‌ها قبل و بعد از اتمام دوره تیمار نشان داد که میزان قند خون ناشتا، ۷۲ ساعت بعد از تجویز STZ در گروه‌های دیابتی افزایش معنی‌داری را نسبت به موش‌های سالم گروه ۱ و ۲ نشان می‌دهد.

میزان قند خون در گروه‌های ۱ تا ۴ قبل از شروع تیمار با عصاره آبی زعفران به ترتیب شامل: ۹۷±۱۰/۷۲، ۳/۷۸ ± ۷۷/۸۳، ۶۳/۱۴± ۳۹۰/۸۳ و ۵۵/۶۶ ± ۴۰۴/۸۶ می‌باشد. در انتهای دوره و بعد از تیمار با عصاره زعفران میزان آن در گروه‌های فوق به ترتیب: ۱۲۱/۱۷±۱۷/۲۲، ۱۱۶/۷±۳۳/۸۱، ۵/۳۳ ± ۵۵۶ و ۸/۷± ۳۰۵/۱۴ می‌باشد.

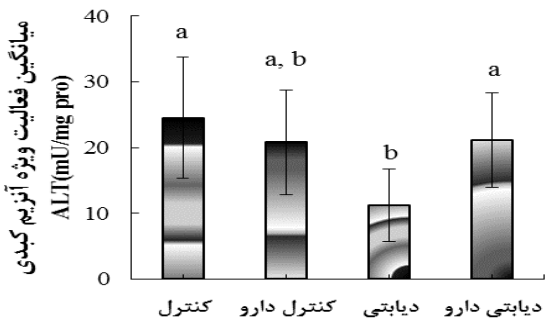
تاثیر عصاره آبی زعفران بر فاکتورهای بیوشیمیایی و پارامترهای استرس اکسیداتیو بافت کبد موش‌های صحرایی در شکل‌های ۱ تا ۹ نشان داده شده است.

آنالیز آماری مربوط به میزان فعالیت ویژه آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) در بافت کبد گروه‌های مختلف نشان داد که کاهش فعالیت این آنزیم در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل از لحاظ آماری معنی‌دار نیست ($p < ۰/۰۵$). ولیکن فعالیت این آنزیم در گروه دیابتی دارو و دریافت‌کننده عصاره آبی زعفران نه تنها کاهش نیافت، بلکه افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه دیابتی نیز نشان داد ($p < ۰/۰۵$) (شکل ۱).



شکل ۱. میانگین فعالیت ویژه آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) بافت کبد را در تمامی گروه‌ها نشان می‌دهد. نتایج بیان‌گر کاهش غیرمعنی‌دار فعالیت در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل است. در حالی که فعالیت در گروه دیابتی دارو طبیعی است. حروف غیر متشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف است ($p < ۰/۰۵$).

آنالیز آماری مربوط به میزان فعالیت ویژه آنزیم آلانین آمینوتراسفراز (ALT) در بافت کبد گروه‌های مختلف نشان داد که کاهش میزان فعالیت این آنزیم در بافت کبد موش‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم از لحاظ آماری معنی‌دار است ($p < ۰/۰۵$). در حالی که در گروه دیابتی دارو تحت تجویز عصاره آبی زعفران، میزان فعالیت این آنزیم نه تنها کاهش نیافت، بلکه تفاوت معنی‌داری را نیز نسبت به گروه کنترل نشان نداد ($p < ۰/۰۵$) (شکل ۲).

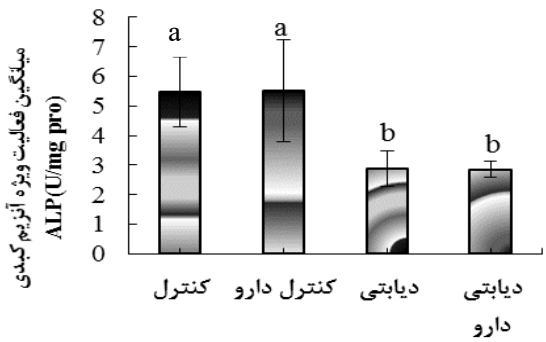


شکل ۲. میانگین فعالیت ویژه آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) بافت کبد را در تمامی گروه‌ها نشان می‌دهد. نتایج بیان‌گر کاهش معنی‌دار فعالیت در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل است. در حالی که در گروه دیابتی دارو، میزان فعالیت طبیعی است. حروف غیر متشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف است ($p < ۰/۰۵$).

آنالیز آماری مربوط به میزان فعالیت ویژه آنزیم ALP در بافت کبد گروه‌های مختلف نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم در موش‌های دیابتی گروه ۳ از لحاظ آماری کاهش معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل و کنترل دارو دارد ($p < ۰/۰۵$).

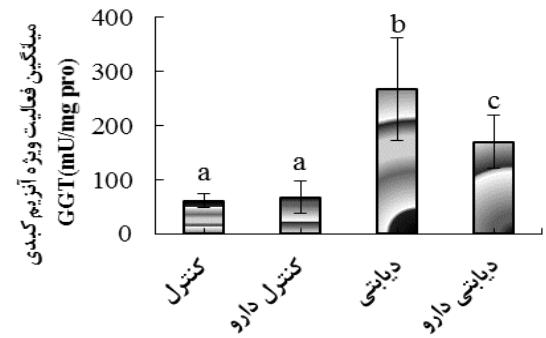
Archive of SID
www.SID.ir

ضمن این که در گروه دیابتی دارو تحت تجویز عصاره آبی زعفران، میزان فعالیت این آنزیم تغییر معنی‌داری را نسبت به گروه دیابتی نشان نداد ($p > ۰/۰۵$) (شکل ۳).



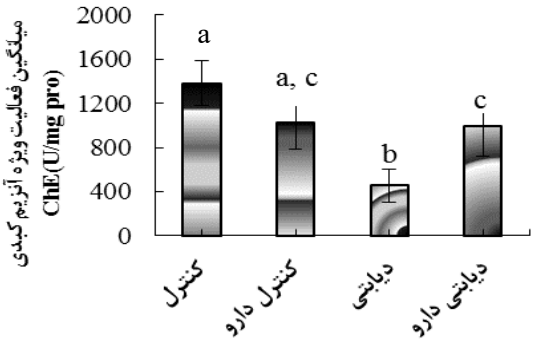
شکل ۳. میانگین فعالیت ویژه آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) بافت کبد را در تمامی گروه‌ها نشان می‌دهد. نتایج بیان‌گر کاهش معنی‌دار فعالیت در گروه دیابتی و دیابتی دارو نسبت به گروه کنترل است. حروف غیر متشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف است ($p < ۰/۰۵$).

آنالیز آماری مربوط به میزان فعالیت ویژه آنزیم GGT در بافت کبد گروه‌های مختلف نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم در موش‌های دیابتی گروه ۳ به طور معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها افزایش یافت ($p < ۰/۰۵$). در حالی که در گروه دیابتی دارو تحت تجویز عصاره آبی زعفران، میزان فعالیت این آنزیم نسبت به گروه دیابتی کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p < ۰/۰۵$) (شکل ۴).



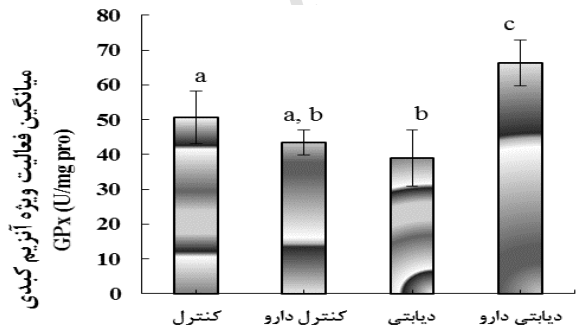
شکل ۴. میانگین فعالیت ویژه آنزیم گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT) بافت کبد را در تمامی گروه‌ها نشان می‌دهد. نتایج بیان‌گر افزایش معنی‌دار فعالیت در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل است. در گروه دیابتی دارو کاهش معنی‌دار فعالیت نسبت به گروه دیابتی دیده می‌شود. حروف غیر متشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف است ($p < ۰/۰۵$).

آنالیز آماری مربوط به میزان فعالیت ویژه آنزیم ChE در بافت کبد گروه‌های مختلف نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم در موش‌های دیابتی گروه ۳ نسبت به سایر گروه‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < ۰/۰۵$). در حالی که در گروه دیابتی دارو تحت تجویز عصاره آبی زعفران، میزان فعالیت این آنزیم تقریبا نرمالیز شد (شکل ۵).



شکل ۵. میانگین فعالیت ویژه آنزیم کولین استراز (ChE) بافت کبد را در تمامی گروه‌ها نشان می‌دهد. نتایج بیان‌گر کاهش معنی‌دار فعالیت در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل است. در گروه دیابتی دارو میزان فعالیت تقریبا طبیعی شده است. حروف غیر متشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف است ($p < ۰/۰۵$).

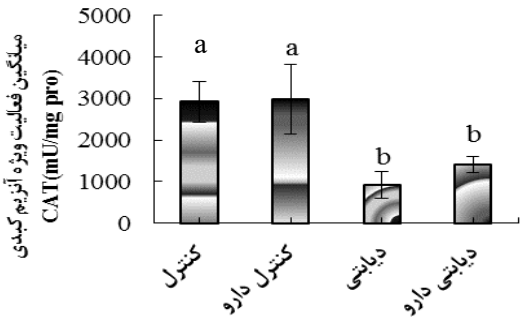
آنالیز آماری مربوط به میزان فعالیت ویژه آنزیم GPx در بافت کبد گروه‌های مختلف نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم در موش‌های دیابتی گروه ۳ نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < ۰/۰۵$). در حالی که در گروه دیابتی دارو تحت تجویز عصاره آبی زعفران، نه تنها میزان فعالیت این آنزیم نسبت به گروه‌های دیگر کاهش نیافت، بلکه افزایش معنی‌داری را نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد ($p< ۰/۰۵$) (شکل ۶).



شکل ۶. میانگین فعالیت ویژه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بافت کبد را در تمامی گروه‌ها نشان می‌دهد. حروف غیر متشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف است ($p < ۰/۰۵$).

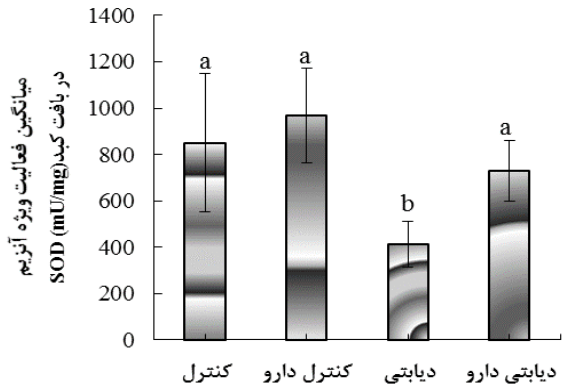
Archive of SID
www.SID.ir

شکل ۶ میانگین فعالیت ویژه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) بافت کبد را در تمامی گروه‌ها نشان می‌دهد. نتایج بیان‌گر کاهش معنی‌دار فعالیت در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل است. در گروه دیابتی دارو میزان فعالیت افزایش معنی‌داری را نسبت به سایر گروه‌ها نشان می‌دهد. حروف غیرمتشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف است ($p < ۰/۰۵$). آنالیز آماری مربوط به میزان فعالیت ویژه آنزیم CAT در بافت کبد گروه‌های مختلف نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم در موش‌های دیابتی گروه ۳ نسبت به سایر گروه‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < ۰/۰۵$). در گروه دیابتی دارو تحت تجویز عصاره آبی زعفران، میزان فعالیت این آنزیم نسبت به گروه دیابت افزایش اندکی یافت که از لحاظ آماری معنی دار نبود ($p < ۰/۰۵$) (شکل ۷).



شکل ۷. میانگین فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز (CAT) بافت کبد را در تمامی گروه‌ها نشان می‌دهد. نتایج بیان‌گر کاهش معنی‌دار فعالیت در گروه دیابتی و دیابتی دارو نسبت به گروه کنترل است. حروف غیر متشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف است ($p < ۰/۰۵$).

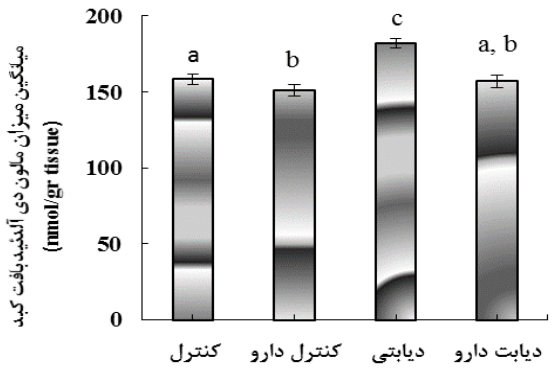
آنالیز آماری مربوط به میزان فعالیت ویژه آنزیم SOD در بافت کبد گروه‌های مختلف نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم در بافت کبد موش‌های دیابتی گروه ۳ کاهش معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها یافت ($p < ۰/۰۵$). در حالی که در گروه دیابتی دارو تحت تجویز عصاره آبی زعفران، میزان فعالیت این آنزیم تفاوت معنی داری را نسبت به این گروه کنترل نشان نداد ($p < ۰/۰۵$) (شکل ۸).



شکل ۸. میانگین فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) بافت کبد را در تمامی گروه‌ها نشان می‌دهد. نتایج بیان‌گر کاهش معنی‌دار فعالیت در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل است. در حالی که در گروه دیابتی دارو فعالیت تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان نداد. حروف غیر متشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار بین گروه‌های مختلف است ($p < ۰/۰۵$).

آنالیز آماری مربوط به میزان MDA در بافت کبد گروه‌های مختلف نشان داد که میزان این ماده در بافت کبد موش‌های دیابتی گروه ۳ نسبت به سایر گروه‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < ۰/۰۵$). در حالی که در گروه دیابتی دارو تحت تجویز عصاره آبی زعفران، میزان این ماده تقریبا طبیعی شد (شکل ۹).

نتایج هم‌چنین نشان داد که فعالیت هیچ‌کدام از فاکتورهای ذکرشده در گروه کنترل دارو تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل ندارد.



شکل ۹. میانگین میزان مالون دی آلدئید (MDA) بافت کبد را در تمامی گروه‌ها نشان می‌دهد. نتایج بیان‌گر افزایش معنی‌دار میزان MDA در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل است. در حالی‌که در گروه دیابتی دارو میزان آن تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان نداد. حروف غیر متشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مختلف است ($p<۰/۰۵$).

www.SID.ir

۵. بحث

از آن‌جایی که زعفران، کروسین، کروستین و سافرانال اثرات از بین برنده رادیکال‌های آزاد و خاصیت آنتی اکسیدانی دارند، این احتمال وجود دارد که به واسطه مکمل‌سازی زعفران بتوان از افزایش استرس اکسیداتیو و پیشرفت دیابت پیشگیری کرد (۱۴). در تحقیق حاضر، میزان فعالیت آنزیم‌های ALT، ALP، GGT و ChE در موش‌های گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل تغییر یافت و این امر ممکن است به علت آسیب بافتی باشد. در مطالعه انجام شده توسط آرکیلا و همکارانش ذکر شد که فعالیت‌های بالای آمینوترانسفرازهای سرم یک نشانه شایع در بیماری‌های کبدی است که غالباً در افراد مبتلا به دیابت مشاهده شده است. در نمونه‌های سرم یا پلاسما، اختلالات التهابی سلول‌های کبدی منجر به افزایش حاد در میزان ترانس آمینازها می‌شود. در واقع بافت کبد در حیوانات دیابتی نکروزه می‌گردد و احتمالاً افزایش فعالیت آنزیم‌ها در سرم در نتیجه نشت آن‌ها از سیتوزول کبدی به داخل جریان خون است (۱۵).

در مطالعه انجام شده توسط شیرالی و همکاران، مقادیر سرمی ALT، AST، ALP و بیلی روبین تام در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت (۱۳). هم‌چنین، در سال ۱۹۹۶، افزایش فعالیت سرمی کولین استراز و تری گلیسرید در بیماران دیابتی گزارش شد (۱۶).

به‌علاوه، در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۱ توسط کریشناکوماری و همکاران انجام شده تغییر در فعالیت آنزیم‌های مهم بافت کبد در موش‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل گزارش شده است. درحالی‌که میزان فعالیت آنزیم ALT بافت کبد تغییر معنی‌داری را با گروه کنترل نشان نداد. تغییر در فعالیت آنزیم‌های مهم بافتی که بیان‌گر آسیب بافتی است ممکن است به علت بیماری و یا حضور مواد سمی باشد. در دیابت آسیب به غشاهای میتوکندری و سلولی به واسطه استرس اکسیداتیو ایجاد شده می‌تواند باعث نشت این آنزیم‌ها به سیتوپلاسم و یا جریان خون و در نتیجه کاهش میزان بافتی آن‌ها گردد (۱۷، ۱۸). در این تحقیق، فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و GPx در بافت کبد موش‌های گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش یافت. ضمن این که کاهش فعالیت آنزیم‌های ذکر شده ممکن است به دلیل کاهش بیان این آنزیم‌ها باشد، از طرف دیگر احتمال دارد این کاهش به واسطه تغییر در ساختار و عملکرد این آنزیم‌ها به علت اثرات نابجای استرس اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد تولیدی و یا گلیکوزیله شدن آن‌ها باشد. به‌علاوه، افزایش میزان مالون دی آلدئید (شاخص پراکسیداسیون لیپیدی) در کبد موش‌های گروه دیابتی نیز تأییدکننده وجود استرس اکسیداتیو در این بافت است.

در سال ۲۰۱۰ طی مطالعه‌ای، عمواوغلی تبریزی و مهاجری، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را در کبد موش‌های صحرایی دیابتی‌شده با آلوکسان بررسی کردند. در این مطالعه نشان داده شده که میزان مالون دی آلدئید این بافت در موش‌های گروه دیابتی افزایش یافته‌است و میزان فعالیت آنزیم SOD به دلیل تولید زیاد آنیون‌های سوپر اکسید نیز در این گروه در مقایسه با گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری کاهش یافته است. ضمن این‌که در این مطالعه فعالیت آنزیم‌های زداینده پراکسید هیدروژن یعنی کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز نیز در گروه موش‌های دیابتی به طور معنی‌دار کاهش یافته است (۱۹).

در تحقیق حاضر، تحت تأثیر عصاره آبی زعفران، در گروه دیابتی دارو فعالیت آنزیم‌های AST، ALT، GGT و ChE تا حدودی طبیعی شده، اما میزان فعالیت آنزیم ALP در گروه دیابتی دارو نسبت به گروه دیابتی تغییری پیدا نکرد.

در تحقیقی که در سال ۲۰۰۸ منتشر شده است، بولکنت و همکاران گزارش کردند که تجویز ویتامین B_6 یک اثر حفاظتی در برابر آسیب‌های کبدی در موش‌های دیابتی دارد (۲۰). هم‌چنین در مطالعه‌ی دیگری، فرناندز و همکاران گزارش کردند تیمار موش‌های صحرایی با نارینجرین (فلاونوئید موجود در گریپ فروت) به واسطه خواص آنتی اکسیدانی خود سبب افزایش و طبیعی‌شدن فعالیت این آنزیم‌ها در گروه دیابت دارو نسبت به گروه کنترل دیابت می‌شود (۲۱). بنابراین طبق نتایج این تحقیق تیمار موش‌های

Archive of SID

www.SID.ir

صحرایی مبتلا به دیابت به وسیله عصاره زعفران، آسیب بافت کبدی و پارامترهای بیوشیمیایی این بافت را به طور معنی‌داری بهبود بخشید. درواقع، خاصیت آنتی اکسیدانی این عصاره، سیستم‌های آنتی اکسیدانی بافت کبد موش‌های صحرایی را برای مقابله با استرس اکسیداتیو ایجادشده در نتیجه دیابت، تقویت نموده و به‌دنبال آن آسیب کبدی کاهش یافته است.

در مطالعه ما، تحت تاثیر عصاره آبی زعفران، هم‌چنین فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گروه دیابتی دارو نسبت به گروه دیابتی یا سایر گروه‌ها افزایش یافت و به‌طور کلی به نظر می‌رسد که استرس اکسیداتیو القایی به واسطه دیابت تعدیل یافته است. علت افزایش در فعالیت آنزیم‌های ذکر شده، خواص آنتی اکسیدانی این عصاره است که سبب محافظت سلول‌ها از استرس اکسیداتیو القایی به وسیله هیپرگلیسمی می‌شود و این عصاره با حذف رادیکال‌های آزاد توسط اجزای فعال خود، از ایجاد آسیب اکسیداتیو به این آنزیم‌ها جلوگیری می‌کند (۲۱).

از طرف دیگر، این عصاره با کاهش مقادیر گلوکز (افزایش برداشت گلوکز توسط بافت‌های محیطی، کاهش جذب روده‌ای گلوکز و غیره) سبب کاهش گلیکوزیله شدن این آنزیم‌ها و در نتیجه افزایش فعالیت آن‌ها می‌شود. ضمن این‌که این عصاره به واسطه خواص آنتی اکسیدانی خود سبب مهار تولید لیپید پراکسیدها نیز می‌شود. در مطالعه‌ای منتشر شده، نشان داده شد که در دیابت فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کبد کاهش می‌یابد و تیمار با انسولین یا آنتی اکسیدان‌ها با افزایش فعالیت این آنزیم‌ها سبب بهبود وضعیت می‌شود (۲۲).

۶. نتیجه‌گیری

القای دیابت در موش‌های صحرایی همراه با بروز استرس اکسیداتیو در بافت کبد بوده که کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی SOD، GPx و CAT نیز در بروز آن موثر است. این استرس اکسیداتیو زمینه‌ساز بروز آسیب به کبد و تغییر در فعالیت آنزیم‌های بیوشیمیایی کبد است. تجویز عصاره آبی زعفران به واسطه خواص آنتی اکسیدانی قابل توجه خود، با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و کاهش استرس اکسیداتیو اثر موثری در کاهش آسیب‌های کبدی موش‌های دیابتی دارد.

۷. تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد بیوشیمی خانم فرزانه روشناس می‌باشد و هیچ‌گونه حمایت مالی در خصوص انجام آن صورت نگرفته است. بدین وسیله از معاونت‌های پژوهشی دانشکده دامپزشکی شیراز و دانشگاه شیراز و کلیه عزیزانی که در انجام مراحل مختلف پایان نامه با کمک‌های علمی و معنوی خود یاری رساندند تشکر و قدردانی می‌شود.

۸. سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان معیارهای استاندارد نویسندگی بر اساس پیشنهادات کمیته بین المللی ناشران مجلات پزشکی را دارا بودند.

۹. تضاد منافع

بدین‌وسیله نویسندگان تصریح می‌نمایند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

Archive of SID
www.SID.ir

References

1. Forbes, J. M., & Cooper, M. E. Mechanisms of diabetic complications. Physiological reviews. 2013; 93(1): 137-188.
2. Elgazar, A. F., Rezq, A. A., & Bukhari, H. M. Anti-hyperglycemic effect of saffron extract in alloxan-induced diabetic rats. Eur J Biol Sci. 2013; 5(1): 14-22.
3. Lucchesi, A. N., Freitas, N. T. D., Cassettari, L. L., Marques, S. F. G., & Spadella, C. T. Diabetes mellitus triggers oxidative stress in the liver of alloxan-treated rats: a mechanism for diabetic chronic liver disease. Acta Cirurgica Brasileira. 2013; 28(7): 502-508.
4. Roskams, T., Yang, S. Q., Koteish, A., Durnez, A., DeVos, R., Huang, X., & Diehl, A. M. Oxidative stress and oval cell accumulation in mice and humans with alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. The American journal of pathology. 2003; 163(4): 1301-1311.
5. Aly, H. F., & Mantawy, M. M. Comparative effects of zinc, selenium and vitamin E or their combination on carbohydrate metabolizing enzymes and oxidative stress in streptozotocine-induced diabetic rats. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2012; 16: 66-78.
6. Bathaie, S. Z., & Mousavi, S. Z. New applications and mechanisms of action of saffron and its important ingredients. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2010; 50(8): 761-786.
7. Mousavi, S. Z., & Bathaie, S. Z. Historical uses of saffron: Identifying potential new avenues for modern research. Avicenna Journal of Phytomedicine. 2011; 1(2): 57-66.
8. Iliass Lahmass, L., Ouahhoud, S., Sabouni, A., Elyoubi, M., Benabbas, R., Elmoussaoui, R., Choukri, M., Saalaoui, E. Antihyperlipidemic effect of crude extract of saffron (Crocus sativus) stigma in healthy male rats. J Med Allied Sci. 2017; 7(1): 20-25.
9. Mehdizadeh, R, Parizadeh, M.R., Khooei, A.R., Mehri, S., Hosseinzadeh, H. Cardioprotective effect of saffron extract and safranal in isoproterenol-induced myocardial infarction in wistar rats. Iran J Basic Med Sci. 2013; 16(1):56-63.
10. Ahmad, A.S., Ansari, M.A., Ahmad, M. Neuroprotection by crocetin in a hemi-parkinsonian rat model. Pharmaco lBiochem Behav. 2005; 81: 805-13.
11. Riaz, H. Hepatoprotective effect of crocus sativuse on amiodarone induced liver toxicity. BJPR. 2016; 12(4): 1-11.
12. Bathaie, S.Z., Ashrafi, M, Azizian M., Tamanoi, F. Recent progress in saffron and its constituents: crocin, crocetin, picrocrocin and safranal. Recent Progress in Medicinal Plants. 2016; 43: 1-29.
13. Shirali, S., Bathaei, S. Z., Nakhjavani, M., & Ashoori, M. R. Effects of saffron (Crocus Sativus L.) aqueous extract on serum biochemical factors in streptozotocin-induced diabetic rats. 2012; 293-308.
14. Peeri, M., Haghigh, M. M., Azarbayjani, M. A., Atashak, S., & Behrouzi, G. Effect of aqueous extract of saffron and aerobic training on hepatic non-enzymatic antioxidant levels in streptozotocin-diabetic rats. Archives Des Sciences. 2012; 65(10): 525-32.
15. Arkkila, P. E., Koskinen, P. J., Kantola, I. M., Rönnemaa, T., Seppänen, E., & Viikari, J. S. Diabetic complications are associated with liver enzyme activities in people with type 1 diabetes. Diabetes Research and Clinical Practice. 2001; 52(2): 113-118.
16. Song, R. H., Singh, A. K., & Leehey, D. J. Decresead glomerular proteinase activity in the STZ-diabetic rats. Am. J. Nephrol. 1996; 19(3): 441-6.
17. Krishnakumari, S., Bhuvaneswari P., and Rajeswari P. Ameliorative potential of Coccinia grandis extract on serum and liver marker enzymes and lipid profile in streptozotocin induced diabetic rats. Anc Sci Life. 2011; 31(1):26-30.
18. Rogers, K.S., Edwin, S., Higgers E.S. Experimental diabetes causes mitochondrial loss and cytoplasmic enrichment of pyridoxal phosphate and aspartate aminotransferase activity. Bioch Met Biol. 1986; 36(1): 91-97.
19. Amouoghli Tabrizi, B., & Mohajeri, D. Protective effect of edible turmeric

Archive of SID

www.SID.ir

(Curcuma longa Linn.) powder on early hepatic injury in diabetic rats. Kaums Journal (Feyz). 2010; 14(3): 190-199.

20. Bolkent, S., Sacan, O., Karatug, A., & Yanardag, R. The effects of vitamin B6 on the liver of diabetic rats: A morphological and biochemical study. Iufs J Biol. 2008; 67(1): 1-7.
21. Fernandez, A. A. H., Novelli, E. L. B., Fernandes Junior, A., & Galhardi, C. M. Effect of naringerin on biochemical parameters in the streptozotocin-induced diabetic rats. Brazilian Archives of Biology and Technology. 2009; 52(1): 51-59.
22. Mohammad, R., Daryoush, M., Ali, R., Yousef, D., & Mehrdad, N. Attenuation of oxidative stress of hepatic tissue by ethanolic extract of saffron (dried stigmas of Crocus sativus L.) in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2011; 5(19): 2166-2173.

Archive of SID

www.SID.ir

JAMS
Journal of Arak University of Medical Sciences
2018; 21(5)
Journal Homepage: http://jams.arakmu.ac.ir

ORIGINAL RESEARCH

Evaluation the Effect of Saffron Aqueous Extract on Oxidative Stress Parameters and Important Biochemical Enzymes of Liver Tissue in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Farzaneh Rooshenas [1], Mahboobe Ashrafi [1], Saeed Nazifi [2*], Mahmoud Aminlari [1], Sara Talebanzadeh [1]

1. Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.
2. Department of Clinical Studies, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.

ARTICLE INFORMATION

Article history
Received: *15 March 2018*
Accepted: *27 May 2018*
Published online: *06 November 2018*

Keywords
Biochemical and antioxidant enzymes
Diabetes mellitus
Liver
Saffron aqueous extract
Streptozotocin

**** Corresponding Author:***
Saeed Nazifi; Department of Clinical Studies, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.
Tel: *+98 917 702 3010*
Fax: *+98 71 3228 6950*
Email: *nazifi@shirazu.ac.ir*

ABSTRACT

Background and Aim: Medicinal plants possessing antioxidant activity may reduce oxidative stress and improve the functions of various organs that affected by hyperglycemia. The aim of the present study was to evaluate the effects of saffron aqueous extract (SAE) administration to diabetic rats by measuring the oxidative stress parameters and important biochemical enzymes in liver tissue.

Materials and Methods: 72 hours after STZ administration (60 mg/kg body weight), the animals with fasting blood glucose over of 250 mg/dl were considered to be diabetic rats and experimental groups were: control (1), control drug (2), diabetes (3) and diabetes drug (4). The treatment was started on the 7th day after STZ injection with i.p injection of SAE (200mg/kg body weight), five doses and weekly to groups 2 and 4. At the end of the experimental period, biochemical factors were measured after bleeding and harvesting of tissues.

Findings: Results indicated the perturbation in the activity of important liver enzymes in diabetic group (3) and SAE adjusted and normalized their levels activity. In addition, SAE with increases in the activity of antioxidant enzymes alleviated diabetes induced oxidative stress and thus reduced MDA levels in group 4 compared to group 3.

Conclusion: SAE is not only useful in the controlling of blood glucose, but also has antioxidant potential to protect the liver tissue of diabetic rats against damage caused by hyperglycemia-induced oxidative stress.

© Copyright (2018) Arak University of Medical Sciences

Cite this article as: Rooshenas F., Ashrafi M., Nazifi S., et al. Evaluation the Effect of Saffron Aqueous Extract on Oxidative Stress Parameters and Important Biochemical Enzymes of Liver Tissue in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. J Arak Uni Med Sci. 2018; 21(5): 77-87

This open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution NonCommercial 4.0 License (CC BY-NC 4.0).

www.SID.ir