Research Paper

The effect of Safranal on lipid peroxidation and hippocampal tissue damage following intracerebroventricular injection of colchicine in the rat

Farzane Fereidouni[1], Zahra Kiasalari[2*], Ensie Azadi-Ahmadabadi[1], Shahram Jalalzade-Ojour[1], Mehrdad Roghani[2]

1. Department of Physiology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
2. Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

*** Corresponding author e-mail:** kiasalari@shahed.ac.ir

Citation: Fereidouni F, Kiasalari Z, Azadi-Ahmadabadi E, Jalalzade-Ojour Sh, Roghani M. The effect of Safranal on lipid peroxidation and hippocampal tissue damage following intracerebroventricular injection of colchicine in the rat. Daneshvar Medicine 2020; 28(2):76-84.

Abstract

Background and Objective: Safranal is the main component of crocus sativus. It has wide variety of properties. Until now, many studies have been performed to determine the effect of safranal on CNS. In this study, we investigated the effect of safranal in lipid peroxidation and histological changes of the hippocampus following intracerebroventricular injection of colchicine in the rat.

Materials and Methods: 40 male rats were randomly divided into 5 groups as follows: 1-Sham, 2-Sham+Safranal at a dose of 50 mg/kg, 3-Colchicine, 4-Colchicine+Safranal at a dose of 10 mg/kg, and 5-Colchicine+Safranal at a dose of 50 mg/kg. Model of injury was created by injection of colchicine bilaterally into the brain ventricles through stereotaxic surgery. Then, safranal was administered 2 days before till 7 days after the surgery. In the third week after surgery, malondialdehyde (MDA) was evaluated in hippocampal homogenate. The number of neurons was also evaluated by nissl staining in CA1 and CA3 regions.

Results: The results showed safranal treatment at a dose of 50 mg/kg significantly reduces hippocampal MDA versus untreated colchicine group. However, histopathological assessment of the hippocampus did not show any significant changes between the groups.

Conclusion: The findings of this study indicate the effect of safranal in reduction of hippocampal MDA as a lipid peroxidation by-product following intracerebroventricular colchicine.

Keywords: Safranal, Colchicine, Malondialdehyde, CA1

Received: 29 Feb 2020
Last revised: 7 June 2020
Accepted: 14 June 2020

مقاله پژوهشی

اثر سافرانال بر پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب بافتی هیپوکمپ به دنبال تزریق داخل بطنی کلشی سین در موش بزرگ آزمایشگاهی

نویسندگان: فرزانه فریدونی[۱]، زهرا کیاسالاری[۲*]، انسیه آزادی احمدآبادی[۱]، شهرام جلال زاده اوجور[۱]، مهرداد روغنی[۲]

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲. مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: زهرا کیاسالاری **Email: kiasalari@yahoo.com**

چکیده

مقدمه و هدف: سافرانال جزء اصلی گیاه زعفران است که دارای طیف وسیعی از خواص است. تاکنون پژوهش های مختلفی جهت بررسی فواید سافرانال بر سیستم عصبی مرکزی صورت گرفته است. این مطالعه جهت بررسی اثر سافرانال بر پراکسیداسیون لیپیدی و تغییرات بافتی هیپوکمپ به دنبال تزریق داخل بطنی کلشی سین در موش صحرایی صورت پذیرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه ۴۰ موش سفید بزرگ آزمایشگاهی به ۵ گروه شامل ۱- شم، ۲- شم + سافرانال با دوز mg/kg50، 3- کلشی سین، ٤- کلشی سین + سافرانال با دوز mg/kg10 و ٥- کلشی سین + سافرانال با دوز mg/kg50 تقسیم شدند. مدل آسیب بافتی در موش ها به‌وسیله‌ی تزریق دو طرفه کلشی سین به داخل بطن های جانبی مغز، از طریق جراحی استریوتاکس ایجاد شد. سپس حیوانات از دو روز قبل از جراحی تا روز هفتم پس از جراحی، تحت تیمار خوراکی سافرانال قرار گرفتند. پس از القای مدل اختلال، بر روی هموژنه‌ی بافتی هیپوکمپ، شاخص پراکسیداسیون لیپیدی مالون دی آلدئید اندازه گیری گردید. بعلاوه، تعداد نورون‌ها در دو ناحیه CA1 و CA3 به وسیله رنگ آمیزی نیسل مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: درمان با سافرانال به صورت خوراکی با دوز mg/kg50 سبب کاهش میزان مالون دی آلدئید هیپوکمپ نسبت به گروه کلشی سین گردید. بررسی بافتی حاکی از عدم تغییر معنادار در میزان شمارش نورونی ناحیه هیپوکمپ در بین گروه‌ها بود.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه حاکی از اثر سافرانال در کاهش تولید مالون دی آلدئید هیپوکمپ بعنوان یک محصول ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی به دنبال تزریق داخل مغزی کلشی سین است.

واژه های کلیدی: سافرانال، کلشی سین، مالون دی آلدئید، CA1

دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۰
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۹/۰۳/۱۸
پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۵

مقدمه

زعفران با نام علمی *Crocus sativus* از خانواده زنبقیان است و با نام سافرن شناخته می‌شود. اثرات درمانی عصاره‌ی آبی و الکلی کلاله زعفران به وفور در مقالات علمی به چاپ رسیده است. بیش از ۱۵۰ ماده شیمیایی در کلاله‌ی سافرن موجود است که در میان آن‌ها می‌توان به کروسین، پیکروکروسین و سافرانال اشاره کرد که مواد شیمیایی اصلی سافرن و دارای اثرات دارویی فراوان هستند (۱). سافرانال با ترکیب شیمیایی ۲،٦،٦-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-carboxaldehyde یک آلدئید حلقوی است که از پیکروکروسین به دست می‌آید. پیکروکروسین علت اصلی رنگ و طعم بی نظیر زعفران است (۲). سافرانال به عنوان عامل خوشبوکننده سافرن زمانی کشف شد که کلاله به تنهایی چیده و در مرحله‌ی ذخیره مورد تجزیه آنزیمی و گرمایی قرار گرفت (۳). بررسی‌های جغرافیایی نشان می‌دهد که در مناطق مختلف میزان سافرانال موجود در سافرن بسیار متفاوت است (٤). تحقیقات بسیاری به بررسی اثر سافرانال بر سیستم عصبی مرکزی پرداخته اند. در این میان اثرات ضد اضطراب، ضد تشنج و آنتی اکسیدانی سافرانال بسیار بارز است (٥). زعفران و ترکیبات اصلی آن به عنوان ماده ای مؤثر در بهبود حافظه استفاده می‌گردد (٦). در بسیاری از پژوهش‌ها بیان شده است که زعفران و ترکیبات اصلی آن شامل سافرانال، کروسین و پیکروکروسین به واسطه اثرات آنتی اکسیدانی و ضد آپپتوزی خود دارای فعالیت محافظت نورونی هستند (۷). در دیگر مطالعات از زعفران و اجزای اصلی آن به عنوان آنتی اکسیدانی یاد می‌کنند که توانایی حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن را دارد (۸). از دیگر اثرات سافرانال می توان به اثر ضد صرعی، ضد تشنجی، خواب آوری (۹)، ضد التهابی و ضد دردی (٤) اشاره کرد.

کلشی سن یک آلکالوئید سه حلقه ای قابل حل در چربی، مشتق از گونه‌ی گیاهی زعفران مرغزار با نام علمی Autumn crocus از سرده‌ی سورنجان است. تاکنون اثرات درمانی متعددی از کلشی سین به ثبت رسیده است که از آن جمله می‌توان در درمان نقرس، تب خانوادگی مدیترانه‌ای، بیماری بهجت، پریکاردیتیس، بیماری شریان کرونری و دیگر بیماری‌های التهابی و فیبروتیک نام برد. اگرچه این اثرات درمانی کلشی سین قرن‌هاست که شناخته شده است اما نخستین بار در سال ۲۰۰۹ توسط FDA به عنوان دارو به تصویب رسید. در حال حاضر تحقیقات فراوانی در مورد مکانیسم اثر کلشی سین در حال انجام است تا اطلاعات بیشتری از اثرات درمانی و عوارض جانبی آن در اختیار محققین قرار دهد (۱۰). تحقیقات صورت گرفته در مورد مکانیسم اثر کلشی سین بر روی توبولین‌ها نشان می‌دهد که این ماده با اتصال به توبولین‌ها از پلیمریزه شدن میکروتوبول‌ها جلوگیری می‌کند (۱۱). میکروتوبول‌ها از اجزای مهم اسکلت سلولی نورون‌ها هستند و نقش حیاتی را در تمایز سلول و رشد و انتقال آکسونی و دندریتی ایفا می‌کنند. در بسیاری از مطالعات گزارش شده است که استفاده از کلشی سین، به صورت مرکزی، سبب تخریب حافظه در جوندگان می‌گردد. این اثر به واسطه تأثیر تحلیل برنده عصبی و استرس اکسیداتیو این ماده، همچنین مهار انتقال آکسونی و ایجاد ضایعه در هیپوکمپ روی می‌دهد. تخریب مسیرهای کولینرژیک که به واسطه‌ی این ماده ایجاد می‌شود نیز عامل دیگری ست که سبب تخریب حافظه و ایجاد سمیت نورونی می‌گردد. نبود نورون‌های کولینرژیک و کاهش تبادلات کولینرژیک به صورت عمده در ناحیه هیپوکمپ مغز رخ می‌دهد. این ماده همچنین سبب پروکسیداسیون کربونیل پروتئین‌ها می‌گردد و با افزایش بیان سیکلواکسیژناز ۱ و ۲، تولید رادیکال های آزاد اکسیژن (ROS) را افزایش می‌دهد (۱۲). بررسی‌های بسیاری در مورد افزایش شاخص‌های استرس اکسیداتیو به دنبال تزریق داخل بطن مغزی کلشی سین در مدل‌های اختلال شناختی صورت گرفته است. تعدادی از مطالعات حاکی از افزایش میزان مالون دی آلدئید و کاهش مقاومت آنتی اکسیدانی بدن به دنبال تزریق داخل بطن

مغزی کلشی سین است (۱۳). مکانیسم ایجاد استرس اکسیداتیو به دنبال تزریق مرکزی کلشی سین به واسطه تخریب میکروتوبول‌ها در نورون‌های کولینرژیک صورت می‌گیرد که موجب ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن در سیستم عصبی مرکزی شده و اختلال شناختی ایجاد می‌کند (۱٤). بنابراین با توجه به اثرات مطلوب سافرانال بر روی سیستم عصبی مرکزی و اثرات مخرب تزریق داخل بطن مغزی کلشی سین، در این مطالعه به بررسی اثر سافرانال بر پراکسیداسیون لیپیدی و تغییر بافتی هیپوکمپ به دنبال تزریق داخل بطن مغزی کلشی سین در موش سفید بزرگ آزمایشگاهی پرداختیم.

مواد و روش ها

در این مطالعه از ٤۰ سر موش سفید بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات مذکور از حیوان خانه مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی خریداری شدند و در حیوان خانه دانشگاه شاهد نگهداری شدند. در طول مدت مطالعه حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی طبیعی، در قفس‌های مخصوص نگهداری حیوانات آزمایشگاهی از جنس پلکسی گلاس و در دمای ۲۲ تا ۲٤ درجه سلسیوس و با دسترسی کافی و آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. تمامی آزمایش‌ها بر اساس دستورالعمل‌های جهانی نگهداری حیوانات آزمایشگاهی و بین ساعات ۸ صبح تا ٤ بعد از ظهر انجام گردید.

در این تحقیق حیوانات به صورت تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند که عبارتند از:

گروه شم: در این گروه موش‌های سالمی قرار دارند که بر روی آن‌ها جراحی استریوتاکسیک با تزریق داخل بطنی مایع مغزی-نخاعی انجام شد.

گروه شم دریافت کننده سافرانال با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم: که داروی سافرانال را به میزان ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم از دو روز قبل جراحی تا روز هفتم پس از جراحی بطور روزانه و به شکل خوراکی دریافت نمود.

گروه کلشی سین: در این گروه برای ایجاد اختلال، ماده کلشی سین با دوز ۱۵ میکروگرم به فرم داخل بطنی و دو طرفه تزریق شد. تزریق بدین صورت انجام گردید که به هر طرف از مغز با مختصات Anteroposterior: -0.8، Lateral: ±1.2 و Deep: 3.4-3.6، 2 µl از کلشی سین حل شده در مایع مغزی نخاعی مصنوعی تزریق شد.

٤ و ۵- گروه‌های کلشی سین دریافت کننده سافرانال با دوزهای ۱۰ یا ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم: که دارو را به میزان ۱۰ یا ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم از دو روز قبل جراحی تا روز هفتم پس از جراحی بطور روزانه و به شکل خوراکی دریافت نمودند.

در این پژوهش برای القای مدل آسیب، از داروی کلشی سین به فرم تزریق داخل بطن مغزی به صورت دو طرفه با دوز ۱۵ میکروگرم در 4 µl مایع مغزی نخاعی (aCSF) از طریق جراحی استریوتاکس در موش‌های بی‌هوش شده با مخلوط کتامین و زایلازین استفاده شد (۱۵).

پس از اندازه گیری وزن، القای بیهوشی با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین 100 mg/kg و زایلازین 10 mg/kg صورت گرفت. تزریق داخل بطنی کلشی سین به صورت دوطرفه با مختصات Anteroposterior: -0.8، Lateral: ±1.2 و Deep: 3.4-3.6، 2 µl انجام شد. به منظور حداکثر توزیع بافتی محلول و جلوگیری از پس زدن، سرنگ به مدت ۲ دقیقه پس از اتمام تزریق در محل باقی مانده، سپس به آرامی خارج شد. در نهایت حیوانات تا به هوش آمدن کامل به قفس‌های انفرادی و سپس به قفس‌های گروهی جهت طی کردن دوره بهبودی انتقال داده شدند (۱٦).

در هفته سوم پس از جراحی، پس از کشتن حیوان به تعداد ۸ عدد در هر گروه، با استفاده از کتامین با دوز 150 mg/kg بافت مغز از بدن جدا شده و بلوک هیپوکمپ تهیه گردید. پس از شستشوی مغز با محلول نرمال سالین سرد و خشک نمودن، سریعاً توزین شده و سپس بافت جداگانه

به همراه بافر لایزیس به غلظت ۵ درصد به مدت ۲ دقیقه با دستگاه هموژنایزر با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه ٪۵ گردید و محلول هموژنیزه شده، در دمای ٤ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شد تا از تخریب آنزیم ها و پروتئین ها جلوگیری شود. پس از انجام سانتریفوژ، محلول رویی شفاف از بقیه محلول جدا شده، بخش رسوب زیرین دور ریخته شده و از محلول شفاف رویی برای سنجش‌های بعدی استفاده گردید (۱۷).

اندازه گیری سطح مالون دی آلدئید بر اساس روشی است که اساس آن واکنش تیوباربیتوریک اسید است که این واکنش در دمای جوش انجام گرفت.

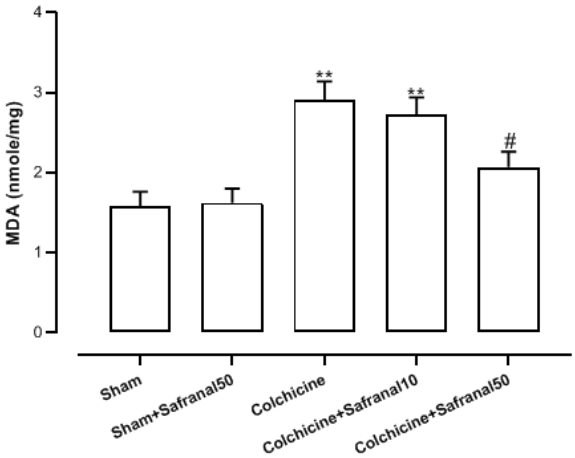
در پایان هفته سوم پس از تزریق کلشی سین، حیوانات با استفاده از تزریق داخل صفاقی کتامین با دوز mg/kg150 بطور عمیق بی‌هوش شدند. بلوک هیپوکمپ سمت راست مغز در محلول فیکساتیو شامل پارافرمالدهید ٤ درصد در بافرفسفات ۰/۱ مولار pH=7.2 قرار گرفت. پس از طی مراحل پردازش بافتی، قالبهای پارافینی از بلوک هیپوکمپ تهیه شد و با دستگاه میکروتوم لایکا آلمان مقاطع بافتی به قطر ۵ میکرون تهیه گردید. مقاطع به فرم سریال بر روی لام برده شد و تحت رنگ آمیزی کرزیل ویوله قرار گرفتند. تعداد نورون پیرامیدال در نواحی CA1 و CA3 هیپوکمپ در واحد سطح مورد بررسی قرار گرفت. برای شمارش نورونی در مورد هر موش، حداقل چهار برش از ناحیه مرکزی هیپوکمپ طبق اطلس پاکسینوس و واتسون انتخاب شده و تعداد نورون هرمی با محدوده سیتوپلاسمی مشخص واقع در این نواحی در بزرگنمایی ۲۰۰ شمارش شد.

آنالیز آماری

نتایج در تحقیق حاضر به صورت mean ± SEM گزارش شده است. پس از تأثیر نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف–اسمیرونوف برای مقایسه بین گروه‌ها، از آزمون آنووای یک طرفه و در صورت معنی دار شدن برای مقایسه گروه‌ها از آزمون توکی استفاده شده است، بعلاوه سطح معنی دار کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. جهت آنالیز آماری داده‌ها و رسم نمودار از برنامه پریسم نسخه ۷ استفاده گردید.

نتایج

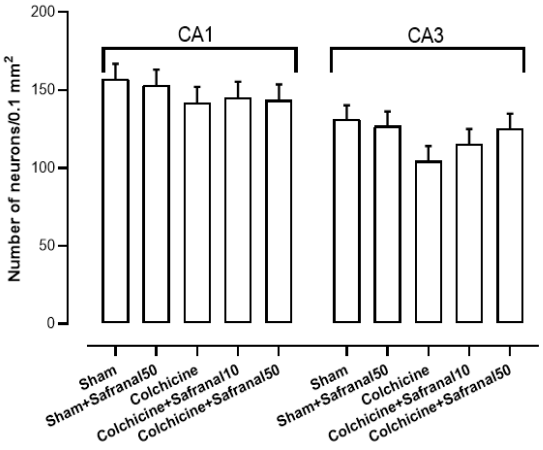
نمودار ۱ نتایج مربوط به میزان فاکتور استرس اکسیداتیو MDA را در هموژنه بافت هیپوکمپ در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. در این خصوص تجویز خوراکی سافرانال به گروه شم تغییری در میزان MDA نسبت به گروه شم ایجاد نکرد. در حالی که در گروه کلشی سین افزایش بارزی در میزان MDA در مقایسه با گروه شم مشاهده شد (P<0.01). در گروه کلشی سین دریافت کننده سافرانال با دوز 10 mg/kg نسبت به گروه کلشی سین تغییر قابل ملاحظه ای دیده نشد، در حالی که در این گروه در مقایسه با گروه شم افزایش معناداری در میزان MDA مشاهده شد (P<0.01). در گروه کلشی سین دریافت کننده سافرانال با دوز 50 mg/kg نسبت به گروه کلشی سین کاهش معناداری در میزان MDA مشاهده گردید (P<0.05)، همین گروه در مقایسه با گروه شم افزایش غیرمعناداری را در میزان مالون دی آلدئید نشان داد.



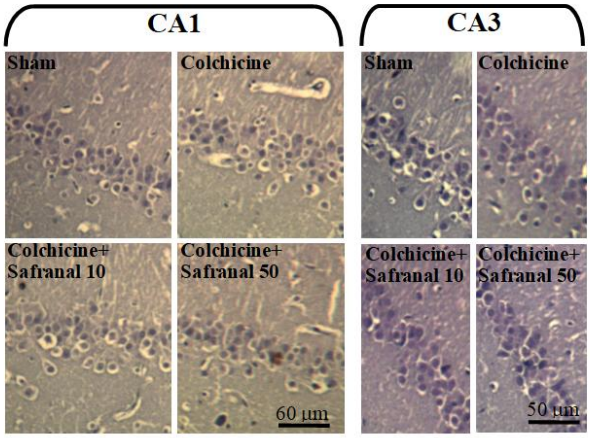
نمودار ۱. نتایج مربوط به سنجش میزان MDA به عنوان یک شاخص استرس اکسیداتیو در هموژنه هیپوکمپ موش‌های سفید آزمایشگاهی در گروه‌های مختلف. برای القا استرس اکسیداتیو در بافت مغز، از کلشی سین به فرم داخل بطنی و دو طرفه استفاده شد و درمان با سافرانال در دوزهای ۱۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به فرم خوراکی از دو روز قبل از جراحی تا روز هفتم پس از جراحی انجام شد.

**:P<0.01 (در مقایسه با گروه شم)

#:P<0.05 (در مقایسه با گروه کلشی سین)



نمودار ۲. نتایج مربوط به شمارش نورونی در نمونه بافتی ناحیه CA1 و CA3 هیپوکمپ مغز در گروه‌های مختلف



شکل ۱. عکس های میکروسکوپ نوری از نمونه های بافتی ناحیه CA1 و CA3 هیپوکمپ مغز در گروه‌های مختلف

در این رابطه تعداد نورون‌های در ناحیه CA1 و CA3 در گروه شم دریافت کننده‌ی سافرانال در مقایسه با گروه سافرانال تغییر قابل ملاحظه ای را نشان نمی دهد. همچنین در گروه کلشی سین در مقایسه با گروه شم تغییری مشاهده نشد. در گروه‌های دریافت کننده سافرانال با دوز ۱۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کلشی سین در تعداد نورون‌های ناحیه CA1 و CA3 تغییر قابل ملاحظه و معنی دار مشاهده نگردید. نتایج مربوط به مربوط به شمارش نورونی در نمونه بافتی هیپوکمپ مغز موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی در گروه‌های مختلف. برای القا استرس اکسیداتیو و آسیب احتمالی در بافت مغز، از کلشی سین به فرم داخل بطنی و دو طرفه استفاده شد و درمان با سافرانال در دوزهای ۱۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به فرم خوراکی از دو روز قبل از جراحی تا روز هفتم پس از جراحی انجام شد

بحث

سافرانال ماده مؤثره مهم زعفران است که دارای اثرات دارویی فراوان می باشد (۱). تحقیقات بسیاری به بررسی اثر سافرانال بر سیستم عصبی مرکزی پرداخته اند. در این میان اثرات ضد اضطراب، ضد تشنج، آنتی اکسیدانی و محافظ نورونی سافرانال بسیار بارز است (۵). زعفران و ترکیبات اصلی آن به عنوان ماده ای مؤثر در بهبود حافظه استفاده می‌گردد (٦). در بسیاری از پژوهش‌ها بیان شده است که زعفران وترکیبات اصلی آن شامل سافرانال، کروسین و پیکروکروسین به واسطه اثرات آنتی اکسیدانی و ضد آپپتوزی خود دارای فعالیت محافظت نورونی هستند (۷). بنابراین به دلیل تأثیرات گسترده، مفید و متنوع سافرانال لذا در این پژوهش به بررسی اثر سافرانال در مدل اختلال شناختی ایجاد شده توسط کلشی سین پرداختیم.

کلشی سن یک آلکالوئید سه حلقه ای قابل حل در چربی، مشتق از گونه‌ی گیاهی زعفران مرغزار با نام علمی Autumn crocus از سرده‌ی سورنجان است (۱۸). تحقیقات صورت گرفته در مورد مکانیسم اثر کلشی سین بر روی توبولین‌ها نشان می‌دهد که این ماده با اتصال به توبولین‌ها از پلیمریزه شدن میکروتوبول‌ها جلوگیری می‌کند (۱۱).

میکروتوبول‌ها از اجزای مهم اسکلت سلولی نورون‌ها هستند و نقش حیاتی را در تمایز سلول و رشد و انتقال آکسونی و دندریتی ایفا می‌کنند. در بسیاری از مطالعات گزارش شده است که استفاده از کلشی سین، به صورت مرکزی، سبب تخریب حافظه در جوندگان می‌گردد. این اثر به واسطه تاثیر تحلیل برنده عصبی و استرس اکسیداتیو این ماده، همچنین مهار انتقال آکسونی و ایجاد ضایعه در هیپوکمپ روی می‌دهد. تخریب مسیرهای کولینرژیک که به واسطه‌ی این ماده ایجاد می‌شود نیز عامل دیگری ست

که سبب تخریب حافظه و ایجاد سمیت نورونی می‌گردد (۱۲). مدل اختلال که توسط کلشی سین ایجاد می‌شود بسیار به بیماری آلزایمر نوع پراکنده (اسپورادیک) شبیه است (۱۹).

فاکتوری که در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفت، شاخص پراکسیداسیون لیپید (مالون دی آلدئید) در بافت هیپوکمپ در گروه‌های کلشی سین و کلشی سین تحت تیمار با سافرانال و قیاس آن با سطح پایه‌ی این مقادیر در موش‌های سالم بود. در بیماری‌های تحلیل برنده‌ی عصبی عدم تعادل میان سیستم آنتی اکسیدانی و تولید عوامل اکسیداتیو دیده می‌شود. در نتیجه افزایش عوامل اکسیداتیو موجب آسیب به ماکروملکول‌ها از طریق پراکسیداسیون لیپیدها، اکسیداسیون پروتئین‌ها و DNA، اختلال در عملکرد و تخریب آنزیم‌ها و غشای سلولی روی می‌دهد (۲۰). MDA که در فرایند پراکسیداسیون لیپیدها تولید می‌شود، در این پژوهش مورد سنجش قرار گرفت. تجویز سافرانال با دوز 50 mg/kg، کاهش در میزان مالون دی آلدئید را در مقایسه با گروه کلشی سین نشان می‌دهد. در مطالعه ای که سمرقندیان و همکاران در سال ۲۰۱۷ بر روی اثر آنتی اکسیدانی سافرانال در مدل استرس اکسیداتیو ناشی از محدودیت حرکتی در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی انجام دادند، به این نتیجه دست یافتند که تجویز سافرانال با دوز ۰/۷۵ mg/kg به صورت داخل صفاقی سبب کاهش سطح مالون دی آلدئید و بهبود سیستم آنتی اکسیدانی می‌گردد (۷). در پژوهش دیگری صادق نیا و همکاران در سال ۲۰۱۷ به بررسی اثر محافظ نورونی سافرانال بر روی ایسکمی مغزی در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی پرداختند، نتایج حاصل از بررسی‌های این مطالعه نشان می‌دهد که سافرانال با بهبود سیستم آنتی اکسیدانی و کاهش سطح مارکرهای استرس اکسیداتیو از جمله MDA سبب کاهش اثرات ناشی از آسیب ایسکمیک می‌گردد (۸). بنابراین نتایج حاصل از این دو پژوهش با بررسی های حاصل از این مطالعه هم راستا است.

در این مطالعه به تغییرات تعداد نورونی در ناحیه CA1 و CA3 در بافت هیپوکمپ با استفاده از رنگ آمیزی نیسل پرداختیم. نتایج حاصل نشان می‌دهد که القای مدل اختلال با کلشی سین سبب کاهش غیر معنی دار این شاخصه در هر دو ناحیه می‌گردد و درمان با سافرانال سبب افزایش غیرمعناداری در تعداد نورون‌ها خصوصاً در ناحیه CA3 می‌شود. در مطالعه ای Zhang و همکاران در سال ۲۰۱۸ به بررسی اثر ضدالتهابی و ضد آپپتوزی سافرانال در مدل آسیب ترومایی نخاعی در موش‌های سفید آزمایشگاهی پرداختند. در این مطالعه سافرانال با دوز 100 mg/kg به صورت خوراکی مورد استفاده قرار گرفت. تغییرات هیستوشیمیایی با استفاده از رنگ آمیزی نیسل بررسی شد. نتایج حاصل نشان می‌دهد که سافرانال با اثر ضدآپپتوزی و ضد التهابی سبب بهبود فعالیت و تغییرات بافتی در نورون‌ها می‌گردد (۲۱). بنابراین می توان گفت که احتمالاً تجویز سافرانال با دوز بالاتر می تواند سبب بهبود تغییرات بافتی گردد.

در این مطالعه سافرانال در دوز های ۱۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم استفاده شد در حالی که در برخی مطالعات سافرانال در دوز های پایین تر یا بالاتر مورد استفاده قرار گرفته است. لازم به ذکر است سافرانال در این مطالعه به فرم مایع از شرکت سازنده (سیگما آلدریچ) تهیه شده است و مورد توزین قرار گرفته است، در حالی که در مطالعاتی که از دوز پایین‌تر دارو استفاده شده است احتمالاً دارو به فرم پودر بوده است. یکی از محدودیت های تحقیق حاضر عدم انجام بررسی رفتاری از جمله بررسی یادگیری و حافظه حیوانات است که انجام چنین بررسی هایی در این زمینه در آینده توصیه می شود. محدودیت دیگر بررسی حاضر اینکه فقط تعداد نورون مورد بررسی قرار گرفته است و تغییرات نکروتیک یا آپوپتوتیک مد نظر نبوده است که انجام چنین بررسی هایی نیز توصیه می شود.

بطور خلاصه، بررسی های حاصل از این مطالعه نشان داد که سافرانال با اثرات آنتی اکسیدانی خود سبب کاهش

محصولات ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی مالون دی آلدئید در مدل تجربی اختلال القا شده توسط کلشی سین می‌گردد.

منابع

1. Heitmar R, Brown J, Kyrou I. Saffron (Crocus sativus L.) in Ocular Diseases: A Narrative Review of the Existing Evidence from Clinical Studies. Nutrients 2019;11(3).
2. Giaccio M. Crocetin from saffron: an active component of an ancient spice. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 2004;44(3):155-72.
3. Schmidt M, Betti G, Hensel A. Saffron in phytotherapy: pharmacology and clinical uses. Wiener medizinische Wochenschrift 2007;157(13-14):315-9.
4. Rezaee R, Hosseinzadeh H. Safranal: From an Aromatic Natural Product to a Rewarding Pharmacological Agent. Iranian Journal of Basic Medical Sciences 2013;16(1):12-26.
5. Sadeghnia HR, Kamkar M, Assadpour E, Boroushaki MT, Ghorbani A. Protective Effect of Safranal, a Constituent of Crocus sativus, on Quinolinic Acid-induced Oxidative Damage in Rat Hippocampus. Iranian Journal of Basic Medical Sciences 2013;16(1):73-82.
6. Hosseini A, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Pharmacokinetic Properties of Saffron and its Active Components. European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics 2018;43(4):383-90.
7. Samarghandian S, Samini F, Azimi-Nezhad M, Farkhondeh T. Anti-oxidative effects of safranal on immobilization-induced oxidative damage in rat brain. Neuroscience Letters 2017;659:26-32.
8. Sadeghnia HR, Shaterzadeh H, Forouzanfar F, Hosseinzadeh H. Neuroprotective effect of safranal, an active ingredient of Crocus sativus, in a rat model of transient cerebral ischemia. Folia Neuropathologica 2017;55(3):206-13.
9. Bo-Qiang L, Si-Tong Z, Zu-Yuan L, Wan-Yun N, Bin C, Yuan L, et al. Safranal carried by nanostructured lipid vehicles inhibits generalized epilepsy in mice. Die Pharmazie 2018;73(4):207-12.
10. Slobodnick A, Shah B, Krasnokutsky S, Pillinger MH. Update on colchicine, 2017. Rheumatology (Oxford, England) 2018;57:i4-i11.
11. Naaz F, Haider MR, Shafi S, Yar MS. Anti-tubulin agents of natural origin: Targeting taxol, vinca, and colchicine binding domains. European Journal of Medicinal Chemistry 2019;171:310-31.
12. Kumar A, Seghal N, Naidu PS, Padi SS, Goyal R. Colchicines-induced neurotoxicity as an animal model of sporadic dementia of Alzheimer's type. Pharmacological Reports 2007;59(3):274-83.
13. Veerendra Kumar MH, Gupta YK. Intracerebroventricular administration of colchicine produces cognitive impairment associated with oxidative stress in rats. Pharmacology, Biochemistry, and Behavior 2002;73(3):565-71.

14. Kumar A, Seghal N, Padi SV, Naidu PS. Differential effects of cyclooxygenase inhibitors on intracerebroventricular colchicine-induced dysfunction and oxidative stress in rats. European Journal of Pharmacology 2006;551(1):58-66.

15. Pourkhodadad S, Alirezaei M, Moghaddasi M, Ahmadvand H, Karami M, Delfan B, et al. Neuroprotective effects of oleuropein against cognitive dysfunction induced by colchicine in hippocampal CA1 area in rats. The Journal of Physiological Sciences 2016;66(5):397-405.

16. Poole EI, McGavin JJ, Cochkanoff NL, Crosby KM. Stereotaxic surgery for implantation of guide cannulas for microinjection into the dorsomedial hypothalamus in young rats. Methods 2019;6:1652-9.

17. Doaee P, Rajaei Z, Roghani M, Alaei H, Kamalinejad M. Effects of Boswellia serrata resin extract on motor dysfunction and brain oxidative stress in an experimental model of Parkinson's disease. Avicenna Journal of Phytomedicine 2019;9(3):281-90.

18. Slobodnick A, Shah B, Pillinger MH, Krasnokutsky S. Colchicine: old and new. The American Journal of Medicine 2015;128(5):461-70.

19. Ganguly R, Guha D. Alteration of brain monoamines & EEG wave pattern in rat model of Alzheimer's disease & protection by Moringa oleifera. The Indian Journal of Medical Research 2008;128(6):744-51.

20. Lloret A, Esteve D, Monllor P, Cervera-Ferri A, Lloret A. The Effectiveness of Vitamin E Treatment in Alzheimer's Disease. International Journal of Molecular Sciences 2019;20(4).

21. Zhang Y, Zhao Y, Guo J, Cui H, Liu S. Anticancer Activity of Safranal Against Colon Carcinoma Is Due to Induction of Apoptosis and G2/M Cell Cycle Arrest Mediated by Suppression of mTOR/PI3K/Akt Pathway. Journal of the Balkan Union of Oncology 2018;23(3):574-8.