BRIEF REPORT

Effects of Crocin on Oxidative Stress Indices in Rat Brain Demylated with Ethidium Bromide

Hadi Fathi-Moghadam[1],
Yagoub Farbod[2],
Ata A. Ghadiri[3],
Rohallah Fatemi[4]

[1] Professor, Physiology Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
[2] Assistant Professor, Physiology Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
[3] Associate Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
[4] PhD in Physiology, Physiology Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

(Received September 29, 2018 ; Accepted December 31, 2018)

Abstract

Background and purpose: The purpose of this study was to investigate the effects of crocin (Cr) on brain oxidative stress indices in animal model demyelinated with intracerebroventricular ethidium bromide (EB).

Materials and methods: In an interventional study, female Wistar rats were randomly divided into 7 groups. Crocin administration was done 1 day after EB injection for 21 days. The values for Glutathione peroxidase (GPx), Superoxide dismutase (SOD), and Malondialdehyde (MDA) were measured before and after receiving Cr and analyzed using Paired t test and ANOVA.

Results: The levels of GPx, SOD, and MDA significantly reduced in the group that received Cr100 mg/kg ($P<0.05$). The effects of crocin were dose-dependent and other doses did not demonstrate significant effects on oxidative stress indices ($P< 0.05$).

Conclusion: The antioxidant effects of Crocin were dose-dependent, and it could be used as a strong antioxidant in management of patients with multiple sclerosis.

Keywords: demyelination, oxidative stress, crocin, malondialdehyde, superoxide dismutase

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (172): 121-126 (Persian).

* **Corresponding Author: Rohallah Fatemi** - Physiology Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran (E-mail: r.fatemi61@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-04]

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و نهم شماره ۱۷۲ اردیبهشت سال ۱۳۹۸ (۱۲۶-۱۲۱)

تاثیر کروسین بر شاخص های استرس اکسیداتیو مغز موش صحرایی دمیلینه شده با اتیدیوم بروماید

هادی فتحی مقدم[۱]
یعقوب فربود[۲]
عطاالله غدیری[۳]
روح اله فاطمی[۴]

چکیده

سابقه و هدف: هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات کروسین (Cr) بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو مغز، در مدل حیوانی دمیلینه شده با ترزیق اتیدیوم بروماید (EB) داخل بطن چهارم مغز بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه به صورت مداخله ای و با طرح تجربی انجام گرفت. حیوانات به طور تصادفی به ۷ گروه تقسیم شدند. تجویز Cr بلافاصله روز بعد از تزریق EB به مدت ۲۱ روز انجام شد. مقادیر متغیرهای گلوتاتیون پرکسیداز (GPx)، سوپراکسیدیسموتاز (SOD) و مالون دی آلدئید (MDA) مغزی در دو مرحله قبل و بعد از دریافت Cr اندازه گیری و با استفاده از آزمون های تی مستقل و آنوا تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که پس از تیمار باCr سطوح GPx، SOD و MDA در گروه دریافت کننده Cr۱۰۰ mg/kg به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). اثرات Cr وابسته به دوز بود به‌طوری که گروه Cr۱۰۰ بهترین نتیجه را نشان داد و دوزهای دیگر تاثیر معنی‌داری بر شاخص‌ها نداشتند($p<۰/۰۵$).

استنتاج: بر اساس نتایج حاضر، تاثیرات آنتی اکسیدانی Cr وابسته به دوز بوده و می‌توان از Cr به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در ملاحظات و مدیریت درمانی بیماران MS استفاده کرد.

واژه های کلیدی: دمیلیناسیون، استرس اکسیداتیو، کروسین، مالون دی آلدئید، سوپراکسید دیسموتاز

مقدمه

مالتیپل اسکلروزیس (MS- Multiple sclerosis) یک بیماری التهابی خودایمنی مزمن است که بر سیستم عصبی مرکزی تاثیر می‌گذارد و منجر به پلاک‌های دمیلیناسیون و تخریب اکسونی می‌شود. این مناطق به علت تخریب ایمونولوژیک پروتئین‌های پایه میلین (MBP-Myelin Basic Protein) توسعه یافته و در نهایت منجر به از دست رفتن اکسون‌ها و آتروفی ماده خاکستری مغز و نخاع می‌شود. بر خلاف بسیاری از اختلالات دیگر عصبی که استرس اکسیداتیو نقش ثانویه را در بروز و پیشرفت بیماری دارد، مالتیپل اسکلروزیس و انسفالومیلیت خودایمن تجربی (Experimental autoimmune EAE- encephalomyelitis) به طور هم‌زمان با ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو و نیتروژنیکی ظهور و پیشرفت می‌کنند(۱). دندرو و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که در

مولف مسئول: روح الله فاطمی– اهواز: مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران E-mail: r.fatemi61@gmail.com
۱. استاد، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
۲. استادیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
۳. دانشیار، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
۴. دکتری فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۷/۷/۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۷/۷/۹ تاریخ تصویب : ۱۳۹۷/۱۰/۱۰

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-04]

جریان پیشرفت بیماری، عواملی مانند اینترلوکین‌ها، سلول‌های پیش‌التهابی و پراکسیداسیون لیپیدی سبب آسیب سلولی و دژنراسیون اکسون در بافت مغزی بیماران MS می‌شوند(۲). مطالعات بر روی بیماران MS نشان می‌دهد که نشان گرهای استرس اکسیداتیو در این بیماران به طور معنی‌داری بیش‌تر از افراد سالم است(۳). هم‌چنین مشاهده شد که در حیوانات مبتلا به مدل MS فعالیت پراکسیداسیون لیپیدی مانند مالون دی‌آلدهید (MDA) افزایش یافته است اما سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، کاتالاز (Cat) و گلوتاتیون (Glu) به طور معنی‌داری کاهش قابل توجهی دارند(۲،۱). کروسین از مواد موثره زعفران می‌باشد که هم به صورت خالص و هم به صورت عصاره آبی در مطالعات مورد استفاده قرار گرفته است(۴،۱). مطالعات نشان دادند که با تزریق مستقیم عصاره آبی زعفران به هیپوکامپ موش‌های دمیلینه شده با اتیدیوم بروماید، این عصاره از طریق نقش آنتی اکسیدانی خود و با خنثی کردن گونه‌های بازفعال اکسیژن و حذف رادیکال‌های آزاد باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های GPx و MDA و افزایش فعالیت cat می‌شود(۵،۱). هم‌چنین مطالعات نشان دادند که تجویز عصاره آبی زعفران موجب تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی کبد موش‌های نژاد ویستار شده و از تغییرات معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی بافت مغز در نتیجه فعالیت تا مرز خستگی جلوگیری می‌کند(۶). هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی اثر کروسین روی مکانیسم پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشد و این‌که کروسین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی، تا چه اندازه می‌تواند اثرات مشابه آنتی‌اکسیدانی تکفیدرا (Tecfidera) به عنوان یک داروی متداول ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدان قوی در درمان بیماری MS) را نشان دهد.

مواد و روش‌ها

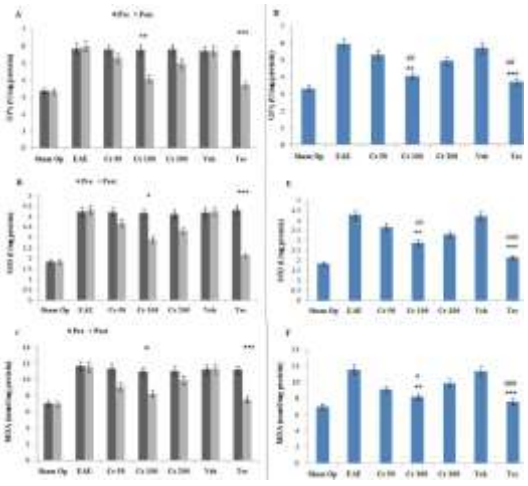
مطالعه حاضر بصورت مداخله‌ای و با طرح تجربی پیش درمان- پس درمان انجام گرفت. برای انجام مطالعه از موش‌های صحرایی ماده، نژاد ویستار مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور استفاده شد. کلیه آزمایشات و مداخلات با تایید کمیته اخلاق دانشگاه جندی شاپور و بر اساس دستورالعمل‌های اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق معاهده هلسینکی انجام گرفت. حیوانات به طور تصادفی ساده به هفت گروه تقسیم شدند که شامل:

۱- شاهد جراحی (Sham Op) با دریافت حلال و بدون تزریق EB، ۲- تزریق EB بدون درمان (EAE)، ۳و۴و۵- تزریق EB و دریافت Cr ۵۰، ۱۰۰و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (Cr50, Cr100, Cr200)، ۶-تزریق EB و دریافت تکفیدرا (Tec) و ۷-تزریق EB و دریافت حلال نرمال سالین (Veh) (۷). جهت ایجاد مدل MS، یک وهله ۵ میکرولیتر EB ۰/۱ درصد با استفاده از سرنگ همیلتون به آرامی داخل بطن چهارم سمت راست مغز تزریق شد. ۵ میکرولیتر EB ۰/۱ درصد نیز به طرف دیگر بطن تزریق شد(۱). سپس جهت درمان، یک روز بعد از القای مدل، ۳ دوز متفاوت کروسین (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و هم‌چنین داروی تکفیدرا (تهیه شده از Sigma Aldrich Co, USA) با هدف کنترل مثبت با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۱ روز، یک بار در روز به هر حیوان به صورت خوراکی تجویز شد. پس از این دوره، حیوان کشته شده و مغز آن جهت ارزیابی پارامترهای GPx، SOD و MDA در دو مرحله پیش و پس از تیمار با کروسین با استفاده از کیت های استاندارد مخصوص هر آیتم تهیه شده از شرکت (RANDOX RANSOD, UK) براساس دستورالعمل‌های مخصوص که در کیت لحاظ شده اندازه‌گیری شدند. مقادیر متغیرها در گروه های مختلف به وسیله آزمون‌های آماری t مستقل و آنالیز واریانس (ANOVA) به صورت یک طرفه با اندازه‌گیری مکرر توکی تجزیه و تحلیل شدند.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-04]

یافته ها و بحث

تصویر شماره ۱ آنالیز مقادیر متغیرهای مطالعه را با استفاده از آزمون t مستقل (A,B,C) و ANOVA (D,E,F) نشان می‌دهد. نتایج t مستقل نشان داد که بین مقادیر پیش و پس از تیمار باکروسین، متغیرهای GPx,SOD و MDA تنها در گروه‌های Cr۱۰۰ ($p <$ ۰/۰۱) و تکفیدرا ($p <$ ۰/۰۰۱) تفاوت معنی‌داری دارند. تصویر شماره ۱- D نتایج آزمون ANOVA نشان داد که در مقایسه با گروه EAE، تفاوت معنی‌داری در مقادیر پس از تیمار هرسه متغیر، با گروه‌های Cr۱۰۰ ($p =$ ۰/۰۱) و تکفیدرا ($p =$ ۰/۰۱) وجود دارد و هم‌چنین تفاوت معنی‌داری بین گروه Veh با گروه‌های Cr۱۰۰ ($p =$ ۰/۰۱) و تکفیدرا ($p =$ ۰/۰۱) وجود دارد.



تصویر شماره ۱: سمت چپ تصویر مقایسه پیش آزمون و پس آزمون متغیرها را در هر گروه با استفاده از آزمون تی زوجی نشان می دهد و سمت راست تصویر مقایسه مقادیر پس درمان را بین تمام گروه ها با استفاده از ANOVA نشان می دهد.
*: $p <$ ۰/۰۵، **: $p <$ ۰/۰۱، ***: $p <$ ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه EAE،
#: $p <$ ۰/۰۵، ##: $p <$ ۰/۰۱، ###: $p <$ ۰/۰۰۱ درمقایسه با Vehicle

نتایج نشان داد که اگر چه هرسه دوز کروسین منجر به بهبود سطوح شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی شده ولی دوز Cr۱۰۰ بهترین نتیجه را در بهبود هرسه متغیر دارد هم‌چنین نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های درمان و کنترل و سالین وجود دارد. کروسین باعث بهبود معنی‌دار سطوح متغیرها شده و آن را تا نزدیک به سطوح گروه شاهد جراحی و گروه تکفیدرا تنظیم کرد. یافته قابل توجه مطالعه حاضر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کروسین در روندی به نسبت مشابه تکفیدرا (به عنوان یک داروی استاندارد در درمان بیماری MS) و با قابلیت ۶۰ تا ۷۰ درصدی آن می‌باشد. این نتیجه با نتایج، Sheng و همکاران که نقش آنتی‌اکسیدانی کروسین و عصاره زعفران را اثبات کردند هم خوان می باشد(۸-۱۰). یکی از دلایل تاثیر آنتی‌اکسیدانی کروسین، خنثی کردن گونه‌های بازفعال اکسیژن و حذف رادیکال‌های آزاد بوده که منجر به کاهش معنادار فعالیت آنزیم‌های GPx و MDA و افزایش فعالیت Cat می‌شود(۷،۱۰). غفاری و همکاران (۲۰۱۵) اثرات درمانی عصاره زعفران را بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو مغز موش مبتلا به مدل MS را بررسی کردند و نتایج مشابهی با مطالعه حاضر مشاهده کردند. عصاره زعفران و ترکیبات فعال آن مانند کروسین از طریق نقش آنتی اکسیدانی خود با خنثی کردن گونه‌های بازفعال اکسیژن و حذف رادیکال‌های آزاد منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های GPx و MDA و افزایش فعالیت Cat می‌شود(۱).

وکیلی و همکاران (۱۳۹۰) نشان دادند که تجویز عصاره زعفران، غلظت آنزیم‌های GPx، SOD و MDA در بافت ایسکمیک مغز را افزایش می‌دهد که نتایج هم‌سو با یافته‌های حاضر می‌باشد(۱۱). هم‌چنین در راستای یافته‌های هم‌سو با نتایج مطالعه حاضر، مطالعه He و همکاران ۲۰۰۷ غلظت‌های (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰) میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کروسین را بر شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی بررسی‌کرده و کاهش سطح MDA و افزایش کلسترول تام را مشاهده کردند(۱۲). Sheng و همکاران (۲۰۰۶) اثرات مثبت Cr۱۰۰ را بر کاهش پراکسیداسیون لیپیدی موش‌های صحرایی گزارش کردند(۸). هرچند تزریق داخل بطنی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-04]

پیکروکروسین در مطالعه مشابهی توسط Abe و همکاران (۲۰۰۰) این اثرات را نشان نداد(۱۳).

نتایج دوز- پاسخ مطالعه حاضر نشان داد که از بین تجویز کروسین ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، هر سه دوز منجر به پاسخ مثبت شدند ولی بهترین پاسخ با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن مشاهده شد. به طوری که دوز Cr۱۰۰ در هر سه شاخص GPx، SOD و MDA به بیش‌ترین تاثیر منتهی شده است. این اثر می‌تواند در نتیجه کم اثر بودن دوز Cr۵۰ و Cr۲۰۰ در سلول‌ها باشد. فعالیت گیرنده‌های بتا آدرنرژیک یکی دیگر از مکانیسم‌هایی است که با تغییرات سطوح میانجی‌های التهابی توسط کروسین ثابت شده است. فعالیت گیرنده‌های آدیپوسیت بتا آدرنرژیک ترشح سیتوکاین‌های التهابی را افزایش می‌دهد و کروسین ممکن است تعداد گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک را از طریق خودتنظیمی منفی (down-regulation) کاهش دهد(۱۴). از یافته‌های فوق می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کروسین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی از طریق کاهش فعالیت پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌های درگیر در مکانیزم اکسیدانی می‌تواند در مدیریت و درمان بیماران مالتیپل اسکلروزیس استفاده شود.

سپاسگزاری

این مطالعه باحمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز در قالب پایان‌نامه دکتری فیزیولوژی با کد اخلاق IR.AJUMS.REC.1395.11 انجام شده است.

References

1. Ghaffari S, Hatami H, Dehghan G. Saffron ethanolic extract attenuates oxidative stress, spatial learning, and memory impairments induced by local injection of ethidium bromide. Res Pharm Sci 2015; 10(3): 222-232.
2. Dendrou C A, Fugger L, Friese M A. Immuno pathology of multiple sclerosis. Nat Rev Immunol 2015; 15(9): 545-558.
3. Wang S-w, Yang S-g, Liu W, Zhang Y-x, Xu P-x,Wang T, et al. Alpha-tocopherol quinine ameliorates spatial memory deficits by reducing beta-amyloid oligomers, neuroinflammation and oxidative stress in transgenic mice with Alzheimer's disease. Behav Brain Res 2016; 296: 109-117.
4. Vakili A, Ainali MR, Bandagi AR. The protective effects of Saffron against the oxidative damage in a transient model of focal cerebral ischemia in rats. Tehran Univ Med J 2011; 69(7): 405-412 (Persian).
5. Bakhtiari Z, Shahrooz R, Ahmadi A, Soltanali F. Protective Effect of Crocin on DNA Damage of Sperm and in Vitro Fertilization (IVF) in Adult Male Mice Treated with Cyclophosphamide. J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(118): 45-59 (Persian).
6. 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 (Persian).
7. 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 Pharmaceut Sci 2005; 8(3): 387-393.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-04]

8. Sheng L, Qian Z, Zheng S, Xi L. Mechanism of hypolipidemic effect of crocin in rats: crocin inhibits pancreatic lipase. Euro J pharmacol. 2006; 543(1):116-122.
9. Raouf Sarshoori J, Asadi MH, Mohammadi MT. Neuroprotective effects of crocin on the histopathological alterations following brain ischemia-reperfusion injury in rat. Iran J Basic Med Sci 2014; 17(11): 895-902 (Persian).
10. Hosseinzadeh H, Sadeghnia HR, Ghaeni FA, Motamedshariaty VS, Mohajeri SA. Effects of saffron (Crocus sativus L.) and its active constituent, crocin, on recognition and spatial memory after chronic cerebral hypoperfusion in rats. Phytother Res 2012; 26(3): 381-386.
11. Vakili A, Ainali MR, Bandagi AR. The protective effects of Saffron against the oxidative damage in a transient model of focal cerebral ischemia in rats. Tehran Univ Med J 2011; 69(7): 405-412 (Persian).
12. He S-Y, Qian Z-Y, Wen N, Tang F-T, Xu G-L, Zhou C-H. Influence of crocetin on experimental atherosclerosis in hyperlipidamic-diet quails. Euro J Pharmacol 2007; 554(2-3): 191-195.
13. Abe KH. Saito. Effects of saffron extract and its constituent crocin on learning behavior and long-term potentiating. Phytother Res 2000; 14(3):149-152.
14. Amani Shalamzari S, Agha Alinejad H, Gharakhanlou R, Molanouri Shamsi M, Talebi Badrabadi K. The effect of body composition and physical activity on basal levels of insulin, glucose, IL-18, IL-6 & CRP and their relationship with insulin resistance. Iran J Endocrinol Metab 2009; 11(6): 699-706.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-04]