Journal of North Khorasan
University of Medical Sciences
Vol.1, No: 1, P: 1-8
Autumn 2008

مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
شماره ۱، سال اول
پاییز ۱۳۸۷ ، صفحه ۸-۱

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی خراسان شمالی

بررسی اثر سافرانال، یکی از مواد موثره زعفران (Crocus sativus)، بر روی آسیب اکسیداتیو ناشی از ایسکمی فراگیر مغزی در ناحیه هیپوکامپ رت

*** حمیدرضا صادق نیا [۱] ، حسین حسین زاده [۲]**

[۱] گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، [۲] گروه فارماکودینامی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

تاریخ دریافت: ۸۷/۳/۲۰ – تاریخ پذیرش: ۸۷/۶/۱۳

خلاصه

مقدمه: ایسکمی فراگیر مغزی در رت منجر به آسیب اختصاصی نورونها در هیپو کامپ و استریاتوم می گردد. تولید رادیکالهای آزاد اکسیزن و متعاقب آن اکسیداسیون ماکرومولکول های سلولی همانند چربی های غیر اشباع موجود در غشاءهای سلولی، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک از وقایع کلیدی در جریان فرآیند ایسکمیک/ رپرفیوژن و آسیب اکسیداتیو می باشند. در این مطالعه اثر سافرانال (ماده موثره موجود در کلاله زعفران) بر روی آسیب اکسیداتیو ناشی از ایسکمی فراگیر مغزی در هیپوکامپ رت بررسی گردید و نمونه های هیپوکامپ از نظر میزان لیپد پراکسیداسیون، میزان تام گروههای تیول (SH) و قدرت آنتی اکسیدانتی مورد بررسی قرار گرفتند. ایسکمی فراگیر مغزی به روش انسداد چهار رگ، به مدت ۲۰دقیقه ، ایجاد گردید. به منظور سنجش میزان لیپد پراسیداسیون، سطح مالون دی آلدئید بافتی (MDA) در هیپو کامپ رت با استفاده از آزمون تیوبار بیتوریک اسید اندازه گیری گردید. جهت سنجش قدرت آنتی اکسیدانتی نمونه های هیپو کامپ نیز از آزمونFARP(Ferric Reducing/Antioxidant Power) استفاده گردید. سافرانال با دوزهای mg/kg ۷۲/۷۵ ،۱۴۵/۵mg/kg ، mg/kg ۳۶۳/۷۵ و mg/kg ۷۲۷/۵ به صورت داخل صفاقی و نرمال سالین (به عنوان کنترل ، mg/kg ۱۰به صورت داخل صفاقی) ۱۵دقیقه پس از القاء ایسکمی به حیوانات تجویز شده و تجویز آنها به مدت ۲روز (هر ۲۴ ساعت یکبار) ادامه یافت. در گروه نرمال سالین در مقایسه با گروه sham افزایش معنی داری در میزان لیپید پراکسیداسیون و همچنین کاهش معنی داری در قدرت آنتی اکسیدانتی نمونه های هیپو کامپ مشاهده گردید. سافرانال با دوز mg/kg۷۲۷/۵ در مقایسه با گروه نرمال سالین، به صورت معنی داری سطوح MDA بافتی را کاهش داد (nmol/g۵۲/۳۱ در مقابل nmol/g۱۵۹/۷۰ ،P<۰.۰۰۱) . همچنین افزایش معنی داری را در قدرت آنتی اکسیدانتی نمونه های هیپو کامپ (µmol/g۴/۱۲ در مقابل µmol/g۱/۱۶، P<۰.۰۰۱) ایجاد نمود. نتایج این مطالعه نشان می دهد که سافرانال دارای اثرات محافظتی بر روی استرس اکسیداتیو ناشی از آسیب ایسکمیک / رپرفیوژن می باشد.

کلمات کلیدی: لیپد پراکسیداسیون، استرس اکسیداتیو، ایسکمی فراگیر مغزی، سافرانال، زعفران

* مشهد- دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، گروه فارماکولوژی

تلفن: ۰۵۱۱-۸۰۰۲۲۷۵ ، email: Sadeghniah@mums.ac.ir

مقدمه

سکته مغزی (stroke) که مهمترین دلیل ایسکمی مغزی است، شایعترین بیماری استحاله عصبی در افراد مسن می باشد. نشان داده شده است که نورون های پیرامیدال ناحیه CA ۱ هیپوکامپ نسبت به آسیب ناشی از ایسکمی گذرای مغزی دارای حساسیت ویژه می باشند و مرگ نورونی در مدت چندین روز بعد از فرایند ایسکمی / رپرفیوژن رخ می دهد. این پدیده مرگ تاخیری نورونی DND (delayed neuronal death) نامیده می شود (۱). مرگ تاخیری نورون ها ناشی از یکسری حوادث بیوشیمیائی می باشد که با آزاد شدن اسیدهای آمینه تحریکی آغاز شده(۳و۲) و منجر به دپلاریزاسیون غشاء، افزایش کلسیم داخل سلولی و تولید گونه های فعال اکسیژن ROS می گردد (۴). افزایش کلسیم داخل سلولی موجب فعال شدن آنزیم های کاتالیتیک مختلف (پروتئازها، فسفولیپازها، اندونوکلئازها و غیره)، اختلال در عمل میتو کندری، تحریک تولید نیتریک اکساید و سایر رادیکال های آزاد و تغییر در بیان ژن می گردد (۶و۵). گونه های فعال اکسیژن نیز موجب آسیب اکسیداتیو لیپیدها، پروتئین ها و DNA می شوند (۹-۷). پراکسیداسیون چربیهای غشاء بوسیله رادیکال های آزاد منجر به تولید آلدئیدهای سمی همچون مالون دی آلدئید (MDA)، ۴-هیدرو کسی نونال(۴-hydroxynoneal) وآکرولئین می شوند (۱۰).

زعفران (Saffron) با نام علمی Crocus sativus در طب سنتی به عنوان آنتی اسپاسمودیک، مسکن لثه، ضد زکام (anticatarrhal)، مسکن عصبی، ضد نفخ و بادشکن (carminative)، عرق آور یا معرق (diaphoretic)، خلط آور (expectorant)، محرک و شادی بخش، اشتها آور (stomachic) و مقوی باء (aphordiasiac) استفاده می گردد (۱۱).

مطالعات فارماکولوژیک نشان داده است که عصاره زعفران دارای اثرات آنتی توموری (۱۳و۱۲) جاروب کنندگی رادیکالهای آزاد (free redical scavenger) و کاهنده چربی خون بوده (۱۱) و بر روی قدرت حافظه و یادگیری هم موثر است(۱۵و۱۴).

عصاره زعفران دارای اثرات محافظت شیمیایی (chemopreventive) و محافظتی در برابر ترکیبات ژنوتوکسیک نیز می باشد و می تواند استرس اکسیداتیو القاء شده بوسیله ترکیبات ژنوتوکسیک را مهار نماید (۱۹-۱۶).

مهمترین ترکیبات موجود در عصاره زعفران عبارتند از کروسین ها(crocins) با ساختار کارتنوئیدی(که استرهای گلیکوزیله کروستین (crocetin) می باشند)، پیکروکروسین (picrocrocin) و مشتقات آن با ساختار مونوترپنوئیدی و ترکیبات فلاوونوئیدی همانند کامفرول(kamferol)، سافرانال (safranal) فرم دهیدراته آگلیکون پیکروکروسین بوده و عامل بودار زعفران می باشد(۲۰).

نشان داده شده است که زعفران اکسیژن رسانی بافتی را افزایش می دهد(۱۱) و هماهنگونه که ذکر گردید دارای اثرات جاروب کنندگی رادیکال های آزاد است و می تواند استرس اکسیداتیو ناشی از ترکیبات ژنوتوکسیک را مهار نماید، بنابراین در این مطالعه سعی شد اثر سافرانال (ماده موثر موجود در کلاله زعفران) بر روی استرس اکسیداتیو القاء شده بوسیله ایسکمی فراگیر مغزی در هیپوکامپ رت بررسی گردد.

روش کار

۱) حیوانات

در این مطالعه از رت های نر نژاد NMRI که در اتاق حیوانات مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی دانشگاه علوم پزشکی مشهد پرورش یافته بودند، استفاده گردید. حیوانات با دسترسی آزاد به آب و غذا، در درجه حرارت ۲±۲۲ درجه سانتیگراد و در سیکل روشنایی: تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند.

۲) مواد شیمیایی

TPTZ (۲ - pyridal) -۱ ,۳, ۵ - triazine)، (۲, ۴, ۶ – tr i)، TBA(۲-thiobarbituric acid) ، n- بوتانول، اسید استیک گلاسیال، اسید فسفریک، پتاسیم کلرید، تترامتوکسی پروپان (TMP) ، کلرور آهن III ($FeCl_3.6H_2O$)، سلوفات آهن II و اسید کلریدریک از شرکت Merck و سافرانال از شرکت Fluka خریداری گردید. سافرانال مایعی است به رنگ زرد روشن با بوی خاص و محرک (شبیه تنباکو)، با جرم مولکولی ۱۵۰/۲۲ g/mol و جرم حجمی ۰/۹۷ g/ml.

۳) القاء ایسکمی گلوبال به روش انسداد چهار رگ (۴-VO)

به منظور ایجاد ایسکمی فراگیر مغزی از روش انسداد چهار رگ (شرح داده شده به وسیله Pulsinelli و Brieeley) استفاده گردید(۲۱). رت های نر با نژاد NMRI به وسیله تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین(۶۰mg/kg) و گزیلازین(۶ mg/kg) بیهوش شدند. بعد از ایجاد شکاف در پشت و سر و گردن حیوان، هر دو شریان مهره ای از طریق وارد کردن الکترو کوتر به داخل سوراخهای آلار بر روی استخوان مهره اول به طور دائم سوزانده و مسدود شدند. سپس محل جراحی بخیه زده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت حیوانات مجدداً بیهوش شده و با عمل جراحی دو شریان کاروتید با استفاده از کلامپ به مدت ۲۰ دقیقه مسدود شدند و سپس جریان خون مجدداً برقرار گردید.

حیوانات گروه sham متحمل روند جراحی در هر دو روز گردیدند بدون اینکه شریانهای مهره ای و کاروتید آنها مسدود گردد.

به منظور انجام آزمایشات حیوانات به صورت تصادفی به ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه اول عبارت بودند از حیوانات گروه sham ، به گروه دوم نرمال سالین ۰/۹٪ (۱۰ml/kg به صورت داخل صفاقی) و به گروههای سوم تا ششم سافرانال به ترتیب با دوز های ۷۲/۷۵mg/kg، ۱۴۵/۵mg/kg ، ۳۶۳/۷۵mg/kg، ۷۲۷/۵mg/kg تجویز گردید.

سافرانال ۱۵ دقیقه بعد از انسداد شریانهای کاروتید به صورت داخل صفاقی تزریق شد و تجویز آن به مدت ۲ روز(هر ۲۴ ساعت یکبار) ادامه یافت. پس از نگهداری حیوانات در شرایط مناسب به مدت ۷۲ ساعت، سر حیوانات از بدن جدا شده و ناحیه هیپوکامپ به منظور بررسی میزان استرس اکسیداتیو متعاقب آسیب ایسکمیک/ رپرفیوژن جداسازی گردید و بلافاصله پس از توزین با محلول کلرید پتاسیم ۱/۵٪ سرد هموژن گردید تا یک مخلوط هموژن ۱۰٪ بدست آید.

۴) سنجش ترکیبات واکنش دهنده با تیوباربیتوریک اسید (TBARS)

۰/۵ میلی لیتر از مخلوط هموژن حاصل به لوله سانتریفوژ ۱۰ میلی لیتری منتقل شده و سپس به آن ۳ میلی لیتر اسید فسفریک ۱٪ و یک میلی لیتر محلول تیوباربیتوریک اسید ۰/۶٪ (TBA) اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۴۵ دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده شد. بعد از خنک شدن به مخلوط فوق، ۴ میلی لیتر n- بوتانل اضافه شد و پس از vortex به مدت یک دقیقه، به کمک سانتریفوژ (با سرعت ۲۰۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه) فاز رنگی بوتانلی جداسازی شده و جذب آن در طول موج ۵۳۲nm خوانده شد. از ترکیب ۱،۱،۳،۳- تترامتوکسی پروپان (TMP) به عنوان استاندارد مالون دی آلدئید استفاده گردید(۲۲). TMP در محیط اسیدی و با نسبت استوکیومتری MDA،۱:۱ آزاد می نماید. MDA با TBA واکنش داده و کمپلکس رنگی تولید می کند که در طول موج حدود ۵۳۲nm دارای پیک جذبی است(۲۳).

5) تست FRAP(Ferric Reducing/Antioxidant Power)

اساس این تست احیاء کمپلکس Fe^{+3}-۲،۴،۶-tripyridl-S-triazine به فرم فرو Fe^{+2} می باشد که کمپلکس مزبور آبی رنگ بوده و در طول موج ۵۹۳nm دارای پیک جذبی است. میزان Fe^{+3} و در نتیجه شدت رنگ متناسب با غلظت احیاء کننده/ آنتی اکسیدانت (قدرت آنتی اکسیدانتی نمونه) می باشد(۲۴).

معرف FRAP تشکیل شد است از بافر استات ۳۰۰mM (۳/۱g استات سدیم +۱۶ml اسید استیک گلاسیال، PH=۳/۶)، محلول ۱۰mM TPTZ در اسید کلریدریک ۴۰mM و محلول کلرید آهن III ۲۰mM به نسبت ۱:۱:۱۰(به صورت حجمی).

به طور مختصر ۱/۵ میلی لیتر از معرف FRAP تازه تهیه شده به لوله آزمایش اضافه شده و در درجه حرارت ۳۷°C به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد. سپس به لوله آزمایش ۵۰µl از نمونه هیپوکامپ هموژنه اضافه شده و مجدداً به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت ۳۷°C انکوبه گردید. در نهایت جذب نمونه حاصل در طول موج ۵۹۳nm در مقابل بلانک (۱/۵ میلی لیتر از معرف FARP+۵۰µl آب مقطر) خوانده شد. از محلول فروس سولفات با غلظت های ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی مولار جهت رسم منحنی استاندارد استفاده گردید(۲۵).

نتایج به صورت ارزش FARP(FARP value) گزارش شد. ارزش FARP عبارتست از میلی مول یون فریک احیاء شده به فرو در لیتر (۲۶و ۲۵).

۶) آنالیز آماری

کلیه نتایج به صورت میانگین ± میانگین خطای معیار (SEM) ذکر گردیده اند. برای آنالیز داده ها از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و برای مقایسه بین گروهی از آزمون Turkey - Karmer استفاده گردید. مقادیر $P<0.05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد.

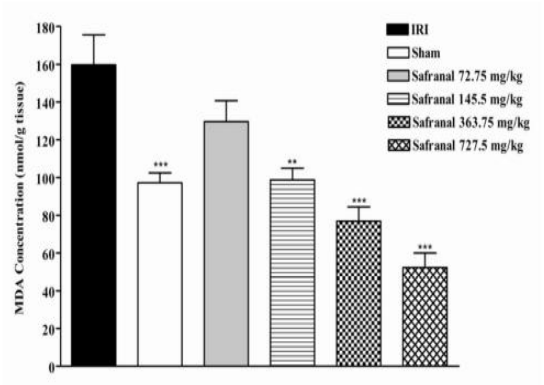
نتایج

تمام حیوانات گروه sham به مدت ۷۲ ساعت زنده مانده و هیچگونه ختلال حرکتی در آنها مشاهده نگردید. سافرانال به صورت معنی داری درصد زنده ماندن حیوانات را متعاقب ایجاد ایسکمی افزایش داد.

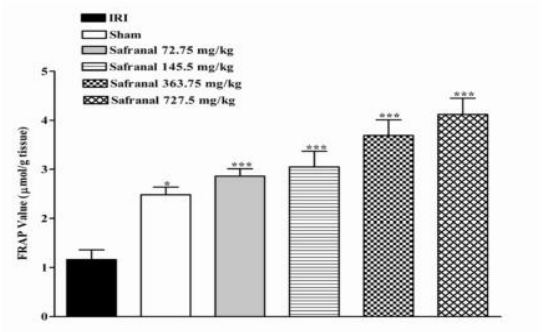
افزایش معنی داری (۶۴/۲٪، P<۰.۰۰۱) در میزان لیپید پراکسیداسیون به دنبال افزایش ایجاد آسیب ایسکمیک مشاهده شد(که به صورت افزایش در TBARS نشان داده می شود). متوسط میزان MDA(±SEM) در گروههای ایسکمیک و sham به ترتیب عبارتست از ۱۵/۹۰ ±۱۵۹/۷۰و ۵/۱۸± ۹۷/۲۵ (nmol/g tissue) (شکل ۱). FARP value به صورت معنی داری در گروه ایسکمیک در مقایسه با گروه sham پایین بود (۵۳/۳٪، P<۰.۰۵). این مقادیر به ترتیب عبارتست از ۰/۲۰ ± ۱/۱۶ و ۰/۱۶ ± ۲/۴۸ (µmol/g tissue) (شکل۲).

سافرانال به صورت معنی دار و وابسته به دوز میزان لیپید پراکسیداسیون را متعاقب ایجاد ایسکمی کاهش داد. سطح TBARS با دوزهای ۷۲۷/۵mg/kg، ۳۶۳/۷۵mg/kg و ۱۴۵/۵mg/kg به ترتیب ۵۲/۳۱، ۷۶/۸۵ و ۹۸/۷۴ (nmol/g tissue) بود. کاهش در سطح MDA با دوز ۷۲/۷۵mg/kg معنی دار نبود(P<۰.۰۵)(شکل۱).

سافرانال همچنین FARP value را به صورت معنی داری در نمونه های هیپوکامپ متعاقب ایجاد ایسکمی در مقایسه با گروه ایسکمی افزایش داد. سطح FARP با دوزهای ۷۲۷/۵mg/kg، ۳۶۳/۷۵mg/kg و ۱۴۵/۵mg/kg به ترتیب ۴/۱۲، ۳/۶۹، ۳/۰۶ و ۲/۸۶ (µmol/g tissue) بود. اگرچه بین سطوح مختلف دوز از نظر افزایش FARP value تفاوت معنی داری مشاهده نگردید(شکل۲).



شکل ۱ : اثر سافرانال بر روی میزان لیپیدپراکسیداسیون در نمونه های هموژن هیپوکامپ به دنبال ایسکمی فراگیر مغزی. میزان MDA در بافت هموژن (۱۰٪) هیپوکامپ رت هایی که متحمل ایسکمی مغزی به مدت ۲۰ دقیقه شدند، اندازه گیری شده است. تمام داروها به صورت داخل صفاقی ۵ دقیقه قبل از رپرفیوژن تزریق شدند. مقادیر به صورت میانگین + SEM برای ۸ رت گزارش شده اند. $p<0/01$ **، $p<0/001$ *** در مقایسه با گروه کنترل (نرمال سالین، Ischemia-reperfusion injury (IRI)). برای آنالیز داده‌ها از آزمون ANOVA یک طرفه و برای مقایسه بین گروهی از آزمون Tukey-Kramer استفاده گردید.



شکل ۲ : اثر سافرانال بر روی قدرت آنتی اکسیدانتی نمونه های هموژن هیپوکامپ به دنبال ایسکمی فراگیر مغزی. ارزش FRAP در بافت هموژن (۱۰٪) هیپوکامپ رت هایی که متحمل ایسکمی مغزی به مدت ۲۰ دقیقه شدند، اندازه گیری شده است. تمام داروها به صورت داخل صفاقی ۵ دقیقه قبل از ریرفیوژن تزریق شدند. مقادیر به صورت میانگین + SEM برای ۸ رت گزارش شده اند. $p < ۰/۰۵$ *، $p < ۰/۰۰۱$ *** در مقایسه با گروه کنترل (نرمال سالین، Ischemia-reperfusion (injury (IRI). برای آنالیز داده‌ها از آزمون ANOVA یک طرفه و برای مقایسه بین گروهی از آزمون Tukey-Kramer استفاده گردید.

بحث

نشان داده شده است که سیستم عصبی مرکزی احتمالاً به علت نقص در سیستم های دفاعی در برابر رادیکال های آزاد و مصرف بالای اکسیژن (حدود ۲۰ درصد وزن بدن) دارای حساسیت ویژه به آسیب اکسیداتیو ناشی از رادیکال های آزاد می باشد(۲۸).

شواهد زیادی وجود دارد که نشان می دهد استرس اکسیداتیو در مغز مسیر مشترک آسیب سلولی در حوادث نورولوژیک حاد همانند ایسکمی/ رپرفیوژن و فعالیت تشنجی مغز و همچنین در حالت های بیماری مزمن همچون پارکینسون و آلزایمر می باشد(۳۱-۲۹).

عقیده عمومی بر این است که نورونهای پیرامیدال ناحیه CA۱ هیپوکامپ و نورونهای hilar در dentate gyrus دارای آسیب پذیری انتخابی (selective vulnerability) بوده و چندین روز (۷۲ساعت) پس از آسیب ایسکمیک، دچار دژنراسیون می گردند که به این فرآیند مرگ تاخیر نورونی یا DNA (delayed neuronal cell death) گفته می شود. در مقابل سلولهای دانه دار (granule cell) در dentate gyrus نسبت به آسیب ایسکمیک مقاوم تر می باشند (۳۲و۱).

شان داده شده است که هم رادیکال های آزاد و هم اسیدهای آمینه تحریکی (که در جریان فرآیند ایسکمی/ رپرفیوژن به میزان زیاد آزاد می شوند) ، در آسیب مغزی متعاقب ایسکمی گذاری مغزی دارای نقش کلیدی هستند (۳۳). شواهدی نیز وجود دارد که نشان می دهد اسیدهای آمینه تحریکی در تولید رادیکالهای آزاد نقش دارند (۳۴و۳۳). این رادیکالهای آزاد، همانگونه که ذکر گردید موجب آسیب اکسیداتیو اسیدهای نوکلئیک و پروتئین ها، پراکسیداسیون چربیهای غیر اشباع در غشاءهای سلولی، افزایش نفوذ پذیری عروق ریز (که منجر به ایجاد ادم می گردد)، اختلال در عملکرد میتوکندری و غیره شده و لذا بالقوه سمی هستند (۳۵ و۶).

Monyer و همکاران نشان دادند که ترکیبات آنتی اکسیدانتی همانند ۲۱-آمینو استروئیدها می توانند آسیب نورونی ناشی از اسیدهای آمینه تحریکی و لیپید پراکسیداسیون القاء شده به وسیله ء رادیکالهای آزاد را مهار نمایند (۳۶). لذا امروزه استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدانت و جاروب کننده رادیکالهای آزاد (free radical scavengers) به منظور به حداقل رساندن ضایعات نورونی متعاقب آسیب های ایسکمیک بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۳۷و۳۸).

زعفران دارای اثرات محافظت شیمیایی (chemopreventive) می باشد و عصاره آن می تواند رشد سلولهای توموری را هم به صورت درون تن (in vivo) و هم به صورت برون تن (in vitro) مهار نماید(۴۰و۳۹و۱۷و۱۶).

Escribana و همکاران نشان دادند که عصاره الکلی زعفران، کروسین، پیکروسین و سافرانال قادر هستند که رشد سلولهای توموری انسانی (Hella cells) را در برون تن مهار نمایند(۱۲). همچنین نشان داده است که عصاره زعفران دارای خواص جاروب کنندگی رادیکال های آزاد بوده(۱۳) و می تواند استرس اکسیداتیو ناشی از ترکیبات ژنوتوکسیک را مهار نماید(۱۹). در این مطالعه سافرانال توانست به صورت وابسته ب دوز میزان لیپید پراکسیداسیون را متعاقب آسیب ایسکمیک کاهش دهد به طوریکه با دوز ۷۲/۷۵mg/kg کاهش معنی داری در سطح TBARSدر هیپوکامپ مشاهده نگردید(جدول۱).

Calapai و همکاران وهمچنین Lazzarino و همکاران نشان دادند که افزایش سطح MDAمغز ناشی از لیپید پراکسیداسیون القاء شده بر اثر رهایش رادیکالهای آزاد، متعاقب آسیب ایسکمیک/ رپرفیوژن می باشد(۴۲و۴۱).

تحت شرایط پاتولوژیک همانند ایسکمی (و البته بسیاری از بیماری های مزمن و حاد و مسمومیت ها) حالت تعادل بین سیستم های اکسیدانت و آنتی اکسیدانتی از بین می رود(۴۴و۴۳). جهت بررسی وضعیت آنتی اکسیدانتی (antioxidant status) نمونه های هیپوکامپ از آزمون FRAPاستفاده گردید. سافرانال (در تمام سطوح دوز) افزایش معنی داری را در ظرفیت آنتی اکسیدانتی مغز ایجاد نمود.

گزارشاتی مبنی بر فعالیت انتی اکسیدانتی بعضی از مونوترپنوتیدها وجود دارد(۴۵). همچنین مونوترپنوئیدهایی مانند α –pinene دارای اثرات ضد التهابی (از طریق مهار آنزیم سیکلواکسیژناز) نیز می باشند(۴۵). مطالعات مقدماتی نیز نشان داده است که سافرانال در محیط های in vitro دارای اثرات آنتی اکسیدانتی می باشد(حسین زاده و همکاران، مطالعه منتشر نشده). این احتمال وجود دارد که حداقل بخشی از اثرات محافظتی سافرانال بر روی ایسکمی ناشی از مکانیسم های فوق باشد. هرچند که نیاز به مطالعات بیشتری در این زمینه وجود دارد.

نشان داده است که مونوترپنوئیدهایی همانند linalool و teripineol به صورت in vivo باعث تضعیف سیستم عصبی مرکزی می شوند(۴۶) و linalool به صورت رقابتی گیرنده های گلوتامات را مهار می نماید(۴۷). لذا مطالعات آینده می تواند برروی این زمینه نیز متمرکز گردد.

به طور خلاصه نتایج این مطالعه نشان داده است که سافرانال دارای اثرات محافظتی بر روی استرس اکسیداتیو ناشی از آسیب ایسکمیک / رپرفیوژن می باشد.

References:

1. Schemidt-Kastner R, Freund T.F. Slective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia. Neuroscience 1991; 40: 599-636.
2. Crews F.T, Steck J.C, Chandler L.J. Ethanol, stroke, brain damage and excitotoxicity. Pharmacol. Biochem. Behav. 1998; 59: 981-991.
3. Ikemune K, Mitani A, Namba K, Katoka K. Arai T. Functional changes of N-methyl-D-aspartic acid and alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionate channels in gerbil hippocampal CA1, in relation to post ischemic enhancement of glutamate receptor-mediated responses. Neurosci. Lett. 1999; 275: 125-128.

4. Nakamura T, Minamisawa H, Katayama Y, Ueda M, Terashi A, Nakamura K, Kudo Y. Increased intracellular Ca^{2+} concentration in hippocampal CA1 area during global ischemia and reperfusion in rat: a possible cause of delayed neuronal death. Neuroscience 1999; 88: 57-67.
5. Block F. Global ischemia and behavioral deficits. Prog. Neuro. 1999; 58: 279-295.
6. Fisher M. Stroke therapy. 2nd ed. Butter worth-Heinemann 2001: 25-50.
7. Chan P.H, Reavtive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. J. Cereb. Blood Flow Metab. 2000; 21: 2-14.
8. Love S, Oxidative stress in brain ischemia. Brain Pathol. 1999; 9: 119-131.
9. Sun A.Y, Chen Y.M. Oxidative stress and neurodegenerative disorders. J. Biomed. Sci. 1998; 401-414.
10. Rao M.A, Hatcher J.T, Dempsey RJ. Lipid metabolism in ischemic neuronal death. Recent Res. Dev. Neurochem. 1999; 2: 533-549.
11. Rios j.l, Recio M.C, Ginger R.M, Manz S. An update review of saffron and it's active constituents. Phytother. Res. 1996; 10: 189-193.
12. Abdullaev J, Caballero-Ortega H, Riveron-Nigrete L, Pereda-miranda R, Rivera-Luna R, Manuel Hernandez J, Perez-Lopez I, Espinosa-Aguirre J.J. In vitro evaluation of chemopreventive potential of saffron. Rev. Inves. Clin. 2002; 54(5): 430-436.
13. Escribano J, Alonso GL, Coca-Prados M, Fernandez J.A. Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (Crocus sativus L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. Cancer Lett. 1996; 100(1-2): 23-30.
14. Zhang Y.X, Sugiura M, Saito H, Shoyama Y. Acute effects of Crocus sativus L. on passive avoidance performance in mice. Biol. Pharmacolo. Bull. 1994; 17: 217-221.
15. Abe K, Sugiura M, Ymaguchi S, Shoyama Y, Saito H. Safrron extract prevents acetaldehyde-induced inhibition of long-term potentiation in the rat dentate gyrus in vivo. Brain Research 1999; 851: 287-289.
16. Nair S.C, Kurumboor S.K, Hasegawa J.H. Saffron chemoprevention in biology and medicine: a review. Cancer Biother. 1995; 10: 257-264.
17. Abdullaev F.J. Biological effects of saffron. Biofactors. 1993; 4: 83-86.
18. Premkumar K, Abraham S.K, Santhiya S.T, Gopinath P.M, Ramesh A. Inhibition of genotoxicity by saffron (Crocus sativus L.) in mice. Drug Chem. Toxicol. 2001; 24(4): 421-428.
19. Premkumar K, Abraham S.K, Santhiya S.T, Ramesh A. Protective effects of saffron (Crocus sativus L.) on genotoxins-induced oxidative stress in swiss albino mice. Phytother. Res. 2003; 17: 614-617.
20. Tarantilis P.A, Tsoupras G, Polissiou M. Determination of saffron (Crocus sativus L.) components in crude plant extract using high-performance liquid chromatography-UV-visible photodiode-array detection-mass spectrometry. J. Chromatog. A 1995; 699: 107-118.
21. Pulsinelli W.A, Brierley J.B. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. Stroke 1979; 10: 268-272.
22. Uchiama M, Miahara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. Anal. Biochem. 1978; 86: 279-286.
23. Fernandez J, Perez-Alvarez JA, Fernandez-lopez JA. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. Food Chem. 1997; 99: 345-353.
24. Benzie I.F.F, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. Analytical Biochem 1996; 239: 70-76.
25. Benzie I.F.F, Strain J.J. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods Enzymol. 1999; 299: 15-27.
26. Xu J.Z, Yeung S.Y.V, Chang Q, Huang Y, Chen Z.Y. Comparison of antioxidant activity and bioavailability of tea epicatechins with their epimers. Br. J. Nutr. 2004; 91: 873–881
27. Ellman G. Tissue sulfhydryl groups. Arch. Biochem. Biophys. 1959; 82:70–77.
28. Olanow C.W. An introduction to the free radical hypothesis in Parkinson's disease. Ann. Neurol. (1992) 32: 52–59

29. Beal M.F. Oxidative damage in neurodegenerative diseases. Neuroscientist (1997) 3: 21–27.
30. Coyle J.T, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate and neurodegenerative disorders. Science 1993; 262: 689–695.
31. Law A, Gauthier S, Quirion R. Say NO to Alzheimer's disease: the putative links between nitric oxide and dementia of the Alzheimer's type. Brain Res. Rev. 2001; 35: 73–96.
32. Nitatori T, Sato N, Waguri S, Karasawa Y, Araki H, Shibanai K, Kominami E, Uchiyama Y. Delayed neuronal death in the CA1 pyramidal cell layer of the gerbil hippocampus following transient ischemia is apoptosis. J. Neurosci. 1995; 15: 1001-1011.
33. Moon S, Betz A.L. Interaction between free radicals and excitatory amino acids in the formation of ischemic brain edema in rats. Stroke 1991 22: 915-921.
34. Dykens J.A, Stern A, Trenkner E. Mechanism of kainate toxicity to cerebral neurons in vitro is analogous to reperfusion tissue injury. J. Neurochem. 1987; 49: 1222-1228.
35. Traystman R.J, Kirsch R.C, Koehler R.C. Oxygen radical mechanisms of brain injury following ischemia and reperfusion. J. Appl. Physiol. 1991; 71: 1185-1195.
36. Monyer H, Hartley D.M, Choi D.M. 21-Aminosteroids attenuate excitotoxic neuronal injury in cortical cell cultures. Neuron 1990; 5: 121-126.
37. Wang Q, Xu J, Rottinghaus GE. Simonyi A, Lubahn D, Sun G.Y, Sun A.Y. Resveratrol protects against global cerebral ischemic injury in gerbils. Brain Res. 2002; 958: 439-447.
38. Alapai G, Crupi A, Firenzuoli F, Marciano M.C, Squadrito F, Inferrera G, Parisi A, Rizzo A, Crisafulli C, Fiore A, Caputi A.P. Neuroprotective effects of Ginko biloba extract in brain ischemia are mediated by inhibition of nitricoxide synthesis. Life Sci. 2000; 67: 2673-2683.
39. Abdullaev FJ, Frenkel GD. Effects of saffron on cell colony formation and cellular nucleic acid and protein synthesis. Biofactors 1992; 3: 201-204.
40. Solami M.J, Nair S.C, Panikar K.R. Inhibitory effects of Nigella sativa and saffron (Crocus sativus) on chemical carcinogenesis in mice. Nutr. Cancer 1992; 16: 67-72.
41. Calapai G, Squadrito F, Rizzo A, Crisafulli C, Campo GM, Marciano M.C, Mazzaglia G, Caputi A.P. A new antioxidant drug limits brain damage induced by transient cerebral ischemia. Drugs under Exp. Clin. Res. 1993; 19(4): 159-164.
42. Lazzarino G, Tavazzi B, Dipierro D, Vagnozzi R, Penco M, Giardina B. The relevance of malondialdehyde as a biochemical index of lipid peroxidation of post ischemic tissues in the rat and human beings. Biolog. Trace Elem. Res. 1995; 47: 165-170.
43. Parihar M.S, Hemnani T. Phenolic antioxidants attenuate hippocampal neuronal cell damage against kainic acid induced excitotoxicity. J. Biosci. 2003; 28: 121–128.
44. Abdollahi M, Ranjbar R, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress: a review. Med. Sci. Monit. 2004; 10(6): 141-147.
45. Perry N.S.L, Bollen C, Perry E.K, Ballard C. Salvia for dementia therapy: review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. Pharmacol. Biochem. Behav. 2003; 75: 651-659.
46. Atanasovo-Shopova, Rusinov K.S, Boicheva I. Central neurotropic effects of lavender essential oil: Effects of linalool and terpineol. Chem. Abstr. 1974; 81: 58351.
47. Silva Brum L.F, Elisabetsky E, Souza D. Effect of linalool on [^{3}H] MK801 and [^{3}H] muscimol binding in mouse cortical membranes. Phytother. Res. 2001; 15: 422–425.