



## Protective Effects of Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.) Against Oxidative Damage Caused by Benzopyrene in Mice

Pourua Riazi <sup>1</sup>, Maryam Karimi-Dehkordi <sup>1\*</sup>, Mohsen Jafarian Dehkord <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

\*Corresponding author: Maryam Karimi-Dehkordi, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran. Email: ma\_karimivet58@yahoo.com

Received: 27 January 2024 Revised: 23 June 2024 Accepted: 23 June 2024

### Abstract

**Background and Aim:** Benzopyrene is a well-known environmental carcinogen that induces oxidative stress, inflammation, and other metabolic complications. This study aimed to investigate the protective effects of chia seeds against oxidative damage caused by benzopyrene in mice.

**Methods:** In this experimental study, 55 male mice were divided into 11 groups of 5 each. The first three groups served as negative control (normal food), olive oil (benzopyrene solvent), and positive control (benzopyrene), respectively. Benzopyrene (75 mg/kg) was administered by gavage with olive oil. The fourth group received vitamin E (250 mg/kg via gavage) alone, while the fifth group received vitamin E and benzopyrene. The remaining three groups were given chia seeds orally at doses of 10%, 20%, and 30% w/w, respectively. The three intervention groups received high doses of chia seeds along with benzopyrene. All treatments were carried out for four weeks. After one month, blood was collected from the heart, and oxidative stress parameters, including TAC (total antioxidant capacity), SOD (superoxide dismutase), GPx (glutathione peroxidase), and MDA (malondialdehyde) were measured in serum using a colorimetric method.

**Results:** Administration of benzopyrene in rats induced oxidative toxicity and significantly decreased TAC, SOD, and GPx while significantly increased MDA (caused by lipid peroxidation) ( $P < 0.05$ ). These changes were significantly improved in groups treated with high doses of chia seeds ( $P < 0.05$ ). However, treatment with vitamin E could not correct the oxidative stress caused by benzopyrene.

**Conclusion:** The present findings suggest that chia seeds play a significant protective role against oxidative toxicity caused by benzopyrene by increasing antioxidant capacity, which can be more effective than vitamin E in benzopyrene poisoning.

**Keywords:** Chia seed, Antioxidant, Oxidative Stress, Benzopyrene, Vitamin E



## اثر محافظتی دانه چیا (*Salvia hispanica* L.) در آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از بنزوپیرن در موش سوری

پوریا ریاضی<sup>۱</sup>، مریم کریمی دهکردی<sup>۱\*</sup>، محسن جعفریان دهکردی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۱۱/۷ اصلاح مقاله: ۱۴۰۳/۴/۳ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۴/۳

### چکیده

**زمینه و هدف:** بنزوپیرن یک ماده سرطان‌زای محیطی شناخته شده است که باعث القای استرس اکسیداتیو، التهاب و سایر عوارض متابولیک می‌شود. در مطالعه حاضر، اثرات محافظتی دانه چیا در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از بنزوپیرن در موش بررسی گردید.

**روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۵۵ موش سوری نر به ۱۱ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. گروه اول تا سوم به‌عنوان کنترل منفی (غذای عادی)، روغن زیتون (حلال بنزوپیرن) و کنترل مثبت (بنزوپیرن) استفاده شد. بنزوپیرن (۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از طریق گاواژ با روغن زیتون خوراند. گروه چهارم، مربوط به مصرف ویتامین E (۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق گاواژ) به تنهایی و گروه پنجم مربوط به مصرف ویتامین E همراه با بنزوپیرن بود. سه گروه دیگر به‌ترتیب روزانه دانه چیا در دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد وزنی/وزنی به صورت خوراکی دریافت کردند. به سه گروه مداخله، دانه چیا در دوزهای بالا به همراه بنزوپیرن داده شد. همه تیمارها ۴ هفته انجام شد. بعد از ۱ ماه، خونگیری از قلب انجام و پارامترهای استرس اکسیداتیو شامل TAC، SOD، GPx و MDA در سرم به روش کالریمتری سنجش گردید.

**یافته‌ها:** تجویز بنزوپیرن در موشها باعث القای سمیت اکسیداتیو و کاهش معنی دار TAC، SOD و GPx و افزایش معنی دار MDA (ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی) گردید ( $P < 0.05$ ). این تغییرات به طور معنی داری در گروه‌های تحت درمان با دوزهای بالای دانه چیا بهبود یافت ( $P < 0.05$ ). درحالی‌که تیمار با ویتامین E قادر به اصلاح استرس اکسیداتیو ناشی از بنزوپیرن نبود.

**نتیجه‌گیری:** طبق یافته‌های مطالعه حاضر، دانه چیا با افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی، نقش حفاظتی مهمی در برابر سمیت اکسیداتیو ناشی از بنزوپیرن دارد که در مسمومیت با بنزوپیرن می‌تواند بهتر از ویتامین E عمل کند.

**کلیدواژه‌ها:** دانه چیا، آنتی اکسیدان، استرس اکسیداتیو، بنزوپیرن، ویتامین E

\*نویسنده مسئول: مریم کریمی دهکردی. پست الکترونیک: ma\_karimivet58@yahoo.com

آدرس: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

## مقدمه

بنزوپیرن (B[a]P)، یک هیدروکربن آروماتیک چند حلقه‌ای است که در طی فرآیند احتراق ناقص مواد آلی مانند سوخته‌های فسیلی، زباله و پوسیدگی گیاهان تشکیل می‌شود. این ترکیب در دود سیگار، گوشت‌های کبابی و محصولات جانبی احتراق صنعتی نیز یافت می‌شود [۱]. بنزوپیرن در ارگانوسم‌ها تجمع می‌یابد و با روش‌های خاص فرآوری مواد غذایی مانند پختن در دمای بالا و کشیدن سیگار، از ابتدا یا De Novo تشکیل می‌شود. به این معنی که بنزوپیرن به عنوان یک ترکیب شیمیایی جدید و بدون نیاز به وجود مولکولهای پیشین در فرآیند فرآوری مواد غذایی تولید می‌شود [۲، ۳]. منابع اصلی برای قرار گرفتن انسان در معرض بنزوپیرن مواد غذایی آلوده، آب و هوا [۴] هستند.

مکانیسم‌های اصلی عمل بنزوپیرن، ایجاد رادیکال آزاد است که منجر به القای استرس اکسیداتیو در سلول می‌شود [۵]. بنزوپیرن از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، اختلال در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی و همچنین تولید سیتوکین، استرس اکسیداتیو را القا می‌کند [۵]. متابولیت‌های حاصل از متابولیسم بنزوپیرن، ROS را تولید می‌کنند و ترکیبات افزایشی DNA را در سلول تشکیل می‌دهند. این متابولیت‌ها با DNA ارتباط برقرار کرده و این ارتباط ممکن است منجر به ایجاد اداکت با DNA شود. این اتصال‌ها به تغییرات ژنتیکی (جهش‌زایی) و اثرات سرطان‌زایی منجر می‌شوند. بنزوپیرن به عنوان یک کارسینوژن ژنوتوکسیک انسانی شناخته شده است. تبدیل زیستی بنزوپیرن ممکن است با تولید محصولات بسیار واکنش پذیرتر همراه باشد. همچنین، در حضور اسیدهای چرب غیراشباع، بنزوپیرن ممکن است دچار دگرگونی‌های اکسیداتیو شود که به تشکیل محصولات پراکسیداسیون لیپیدی با پتانسیل جهش‌زایی منجر می‌شود. بنابراین، اثر اکسیداتیو بنزوپیرن و ترکیبات افزایشی آن با DNA ممکن است عامل بیماری‌زایی باشند [۴].

مطالعات متعددی تغییرات اکسیداتیو ناشی از بنزوپیرن را هم در شرایط آزمایشگاهی [۶-۷] و هم در داخل بدن [۸] نشان داده‌اند. محققان بر استفاده از گیاهان و عوامل غذایی مانند فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و پلی‌فنل‌ها در پیشگیری از انواع مختلف اختلالات محیطی از جمله سرطان تمرکز کرده‌اند. بسیاری از محصولات طبیعی با بین بردن رادیکال‌های آزاد و تعدیل سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و سم‌زدایی عوامل سرطان‌زا اثرات محافظتی خود را اعمال می‌کنند. اثرات سمی بنزوپیرن، از جمله مواردی که سرطان‌زا هستند، ممکن است با استفاده از آنتی‌اکسیدان کاهش یابد. طبق مطالعات اخیر، موادی مانند ویتامین E [۸] و دیگر ترکیبات شیمیایی مثل کورکومین (curcumin)، کورستین (quercetin) و میریستین (myricetin) استرس اکسیداتیو ناشی از بنزوپیرن را کاهش می‌دهد. این ترکیبات بیان ژن‌های دخیل

در استرس اکسیداتیو و التهاب را تنظیم می‌کنند و بنابراین با کاهش یا حذف ROS، سطح پراکسیداسیون لیپید و پروتئین، تشکیل اداکت با DNA و سطح سائتوکین‌های پیش التهابی را کاهش می‌دهند. همچنین سبب افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی می‌شوند [۴].

چیا با نام علمی *Salvia hispanica L.* گیاهی از خانواده نعناعیان است. دانه‌های چیا سرشار از اسیدهای چرب امگا ۳ است. اسیدهای چرب اشباع نشده از خانواده امگا به عنوان لیپیدهای ضروری برای سلامت نقش حیاتی دارند. از آنجایی که بدن انسان این اسیدهای چرب را به صورت خودکار سنتز نمی‌کند، لازم است که آنها را از طریق یک رژیم غذایی غنی از ماهی و دانه‌های روغنی تأمین کند. مصرف بالای امگا-۳ به دلیل قابلیت آن بر تنظیم عملکردهای متابولیک و سلولی اثرات مفیدی بر سلامتی دارد. امگا-۳ مکانیسم‌های عمل متفاوتی در سلول‌های نئوپلاستیک دارد، مانند تعدیل التهاب، تکثیر سلولی، آپوپتوز و متاستاز و افزایش یا کاهش تولید رادیکال‌های آزاد. بنابراین برای مهار سرطان‌زایی و جلوگیری از رشد سلول‌های توموری ضروری است و اثربخشی داروهای شیمی‌درمانی را ارتقا می‌دهد [۹].

دانه چیا به دلیل داشتن میزان زیادی اسیدهای چرب امگا، پروتئین، فیبر، ویتامین و مواد معدنی ارزش غذایی بالایی دارد [۱۰]. دانه چیا دارای ترکیبات فنلی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی است که قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد، اهدای هیدروژن و کلاته کردن یون‌های فلزی می‌باشد و به مبارزه با رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو در بدن کمک می‌کند. ترکیبات فنولی دانه چیا از جمله میریستین، کوئرستین، کامفرول، اسیدکافئیک و کلروژنیک اسید توانایی آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند و به کاهش سطح اتواکسیداسیون لیپیدی کمک می‌کنند. ترکیبات فنولیک و آنتی‌اکسیدان‌ها از بیماری‌های مرتبط با رادیکال‌های آزاد مانند سرطان، دیابت یا بیماری‌های قلبی عروقی محافظت می‌کنند [۱۱]. مطالعات متعددی در سراسر جهان در مورد ارزیابی ارزش غذایی و دارویی دانه چیا انجام شده است. اثرات محافظتی دانه چیا در اختلالات متابولیک در کبد موش صحرایی در مقالات اثبات شده است [۱۲]. بررسی پروفایل فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی گیاه چیا را نشان داد [۱۳].

اسیدهای آلفا لینولنیک موجود در دانه چیا در کاهش وزن بدن، کلسترول تام و لیپوپروتئین با چگالی کم در انسان گزارش شده است [۱۴]. یک مطالعه نشان داد که گنجاندن دانه چیا در رژیم غذایی در موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب اثرات قابل توجهی بر افزایش قند خون پس از غذا و برخی پارامترهای خونی دارد [۱۵]. خواص ترمیم زخم و نقش کسر پپتیدی در دانه چیا در چند مطالعه ارزیابی شده است [۱۶].

اگرچه دانه چیا در دیدگاه متنوعی از خواص دارویی مورد بررسی قرار گرفته است، اما اطلاعات کافی در مورد نقش

صورت داخل صفاقی، انجام شد. نمونه‌های خونی ۲۰ دقیقه در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند و به مدت ۱۵ دقیقه با ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. نمونه‌های سرم جمع‌آوری شده تا زمان انجام سنجش پارامترهای بیوشیمیایی در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

#### ظرفیت آنتی اکسیدانی تام

ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم با استفاده از روش فرپ سنجش شد. اساس این روش توانایی سرم در احیای یون‌های آهن ( $Fe^{+3}$ ) به یون‌های آهن ( $Fe^{+2}$ ) در حضور تری‌پیریدیل‌تریازین (Tripyridyl-s-triazine; TPTZ) CAS Number 3682-35- (Sigma, Germany) است. در این روش واکنش  $Fe^{+2}$  با معرف TPTZ یک کمپلکس  $Fe^{+2}$ -TPTZ آبی رنگ با حداکثر خاصیت جذب نور در طول موج ۵۹۳ نانومتر ایجاد می‌کند و غلظت موارد ذکر شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) قابل اندازه‌گیری است [۱۸].

#### مالون دی آلدئید

برای اندازه‌گیری مالون دی آلدئید سرم، محلول کاری حاوی ۰/۵ گرم تیوباربتوریک اسید (CAS-Number 504-17-6, Merk, Germany) و ۸۰ میلی‌لیتر اسید استیک ۲۰ درصد (CAS-Number 64-19-7, Merck, Germany) مورد استفاده قرار گرفت. pH این محلول با استفاده از هیدروکسید سدیم (NaOH) (CAS-Number 1310-73-2, Merck, Germany) روی ۳/۵ تنظیم و با افزودن اسید استیک ۲۰ درصد حجم نهایی آن به ۱۰۰ میلی‌لیتر تنظیم شد. در مرحله بعد، ۲/۵ میلی‌لیتر از این محلول کاری به همراه ۱۰۰ میکرولیتر سرم و ۱۰۰ میکرولیتر SDS (سدیم دودسیل سولفات) (۱/۸ درصد) در یک لوله آزمایش شیشه‌ای ریخته شد (CAS-number 151-21-3, Merck, Germany) و لوله‌ها با درپوش آلومینیومی بسته شدند. لوله‌ها به مدت یک ساعت در یک حمام آب گرم قرار داده شدند و پس از سرد شدن با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه (Poland Mpw 260r) سانتریفیوژ گردیدند. جذب نوری محلول رویی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) در طول موج ۵۲۳ نانومتر ثبت شد [۱۹].

#### آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

برای تعیین میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از کیت شرکت زلیبو (ZB-SOD96) طبق پروتکل موجود در کیت استفاده شد. برای این منظور از هر سرم ۱۰ میکرولیتر برداشت شد و پس از افزودن محلول‌ها به کیت، جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۲۰].

#### آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز

برای تعیین میزان آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز، از کیت شرکت زلیبو (ZB-GPX96) طبق پروتکل کیت استفاده شد. برای این

بهبوددهنده عصاره دانه چیا بر پارامترهای استرس اکسیداتیو وجود ندارد. بنابراین، پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر حفاظتی و آنتی‌اکسیدانی دانه چیا در مقایسه با مواد شیمیایی منتخب مثل ویتامین E در برابر فعالیت بنزوپیرن در مدل حیوانی انجام گردید.

## روش‌ها

مطالعه تجربی حاضر در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد در سال ۱۴۰۲ انجام گردید.

#### حیوانات آزمایشگاهی

۵۵ موش سوری نر نژاد C57 با بازه وزنی ۱۵ تا ۲۰ گرم در سن ۶ هفته‌گی از انستیتو پاستور ایران تهیه شد. موش‌ها تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای محیطی ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند که در این بازه زمانی آب و غذا کافی و مناسب برای آنها فراهم گردید.

#### دانه چیا

دانه چیا از هرباریوم مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد تهیه شد و توسط کارشناس مرکز مورد تایید قرار گرفت. برای انجام این تحقیق دانه چیا در دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد وزنی/وزنی در غذا داده شد [۱۷].

#### گروه‌های مورد مطالعه

موش‌ها به طور تصادفی به ۱۱ گروه ۵ تایی تقسیم شدند: گروه ۱: کنترل منفی (دریافت جیره غذایی نرمال)، گروه ۲: روغن زیتون (۰/۰۴ میلی‌لیتر روغن زیتون به صورت گاواژ به مدت ۴ هفته روزانه دریافت کردند)، گروه ۳: بنزوپیرن با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۴ هفته از طریق گاواژ با روغن زیتون گاواژ شدند، گروه ۴: ویتامین E (با دوز ۲۵۰ میلیگرم بر کیلوگرم به صورت گاواژ به مدت ۴ هفته روزانه دریافت کردند)، گروه ۵: ویتامین E با دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم + بنزوپیرن با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۴ هفته از طریق گاواژ با روغن زیتون گاواژ شدند، گروه‌های ۶ تا ۸: دانه چیا در دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد وزنی/وزنی در غذا به مدت ۴ هفته داده شد، گروه‌های ۹ تا ۱۱: دانه چیا در دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد وزنی/وزنی + بنزوپیرن با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۴ هفته داده شد. همه موارد به صورت گاواژ به موش‌ها داده شدند.

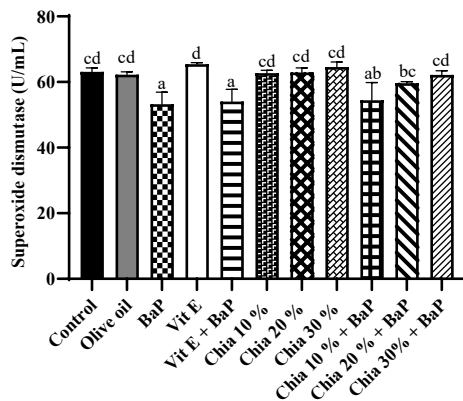
#### داروهای شیمیایی

بنزوپیرن به شکل پودر از شرکت سیگما (CAS Number 50-32-8, Sigma-Aldrich) خریداری و قبل از استفاده در روغن زیتون حل شد و به شکل تازه استفاده شد. ویتامین E از شرکت سیگما (CAS Number 10191-41-0, Sigma-Aldrich) تهیه شد.

#### خون گیری

خون گیری از قلب بعد از ۱ ماه، تحت تاثیر بیهوشی با کتامین ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم و زایلازین ۱۲ میلی گرم بر کیلوگرم، به

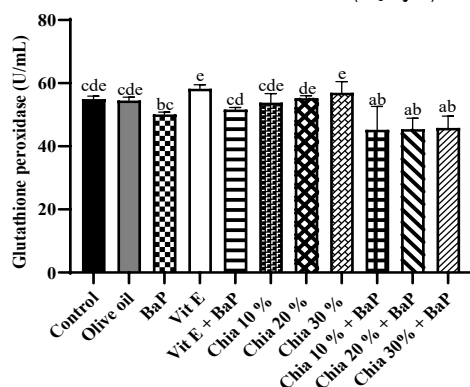
واحد بر میلی‌لیتر،  $P=0.04$ ). میزان SOD در گروه‌های مصرف کننده همزمان بنزوپیرن با ویتامین E و دانه چیا ۱۰ درصد مشابه با گروه دریافت کننده بنزوپیرن و در پایین ترین حد است. این در حالی است که مصرف دانه چیا ۲۰ و ۳۰ درصد همراه با بنزوپیرن سبب افزایش معنی‌دار SOD نسبت به گروه بنزوپیرن شده است ( $59/66 \pm 0/44$  و  $62/14 \pm 1/29$  در مقابل  $53/20 \pm 3/70$  واحد بر میلی‌لیتر،  $P=0.04$ ) (نمودار ۲). دانه چیا ۳۰ درصد همراه با بنزوپیرن سبب افزایش SOD در بالاترین حد شده است.



**نمودار ۲.** مقایسه میانگین SOD در تیمارهای مختلف دانه چیا (Chia) و ویتامین E (Vit E) در مقابل گروه کنترل منفی (Control) و بنزوپیرن حضور حداقل یک حرف لاتین مشترک نشان دهنده عدم اختلاف آماری معنی‌دار بین هر دو گروه می باشد ( $P>0.05$ ).

#### گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)

میزان GPx در گروه مصرف کننده روغن زیتون مشابه با گروه کنترل است. بنزوپیرن سبب کاهش میزان GPx نسبت به گروه کنترل شده است، هر چند معنی‌دار نیست. میزان GPx در گروه دریافت کننده همزمان ویتامین E با بنزوپیرن و درصدهای دانه چیا با بنزوپیرن در مقایسه با گروه بنزوپیرن به تنهایی اختلاف معنی‌دار ندارد. می‌توان گفت مصرف ویتامین E و درصدهای مختلف دانه چیا قادر به بهبود و افزایش GPx نشده است. بالاترین میزان GPx در این مطالعه مربوط به گروه کنترل، روغن زیتون، ویتامین E، دانه‌های چیا به تنهایی می‌باشد که به‌طور معنی‌داری از بقیه گروه‌ها بالاتر است (نمودار ۳).



**نمودار ۳.** مقایسه میانگین GPx در تیمارهای مختلف دانه چیا (Chia) و ویتامین E (Vit E) در مقابل گروه کنترل منفی (Control) و بنزوپیرن حضور حداقل یک حرف لاتین مشترک نشان دهنده عدم اختلاف آماری معنی‌دار بین هر دو گروه می باشد ( $P>0.05$ ).

منظور از هر سرم ۱۰ میکرولیتر برداشت شد و پس از افزودن محلول‌ها به کیت، جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری شد [۲۱].

#### محاسبات آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزار آماری SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی استفاده شد.  $P<0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

#### ملاحظات اخلاقی

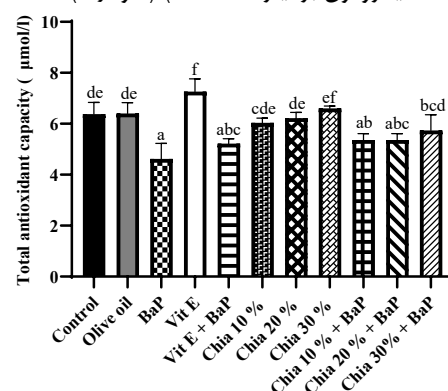
مطالعه حاضر با کد اخلاق IR.IAU.SHK.REC.1402.034

در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد ثبت شد.

#### نتایج

##### ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC)

میزان TAC در گروه مصرف کننده روغن زیتون (حلال بنزوپیرن) مشابه با گروه کنترل است و اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل ندارد. بنزوپیرن سبب کاهش معنی‌دار میزان TAC نسبت به گروه کنترل شده است ( $4/62 \pm 0/61$  در مقابل  $6/38 \pm 0/45$  میکرومول بر لیتر،  $P=0.03$ ). بالاترین میزان ظرفیت تام آنتی اکسیدانی مربوط به ویتامین E ( $7/26 \pm 0/50$  میکرومول بر لیتر) و دانه چیا ۳۰ درصد ( $6/60 \pm 0/10$  میکرومول بر لیتر) می باشد که به‌طور معنی‌دار از بقیه گروه‌ها بالاتر است ( $P<0.05$ ). میزان TAC در گروه دریافت کننده همزمان ویتامین E با بنزوپیرن مشابه با گروه بنزوپیرن به تنهایی می باشد. مصرف دانه چیا ۳۰ درصد همراه با بنزوپیرن سبب افزایش معنی‌دار TAC نسبت به گروه دریافت کننده بنزوپیرن شده است ( $5/73 \pm 0/62$  در مقابل  $4/62 \pm 0/61$  میکرومول بر لیتر،  $P=0.04$ ) (نمودار ۱).



**نمودار ۱.** مقایسه میانگین TAC در تیمارهای مختلف دانه چیا (Chia) و ویتامین E (Vit E) در مقابل گروه کنترل منفی (Control) و بنزوپیرن حضور حداقل یک حرف لاتین مشترک نشان دهنده عدم اختلاف آماری معنی‌دار بین هر دو گروه می باشد ( $P>0.05$ ).

##### سوپراکسید دسموتاز (SOD)

میزان SOD در گروه مصرف کننده روغن زیتون مشابه با گروه کنترل است. بنزوپیرن سبب کاهش معنی‌دار میزان SOD نسبت به گروه کنترل شده است ( $53/20 \pm 3/70$  در مقابل  $63/10 \pm 1/19$  واحد بر میلی‌لیتر،  $P=0.04$ ) (نمودار ۲).



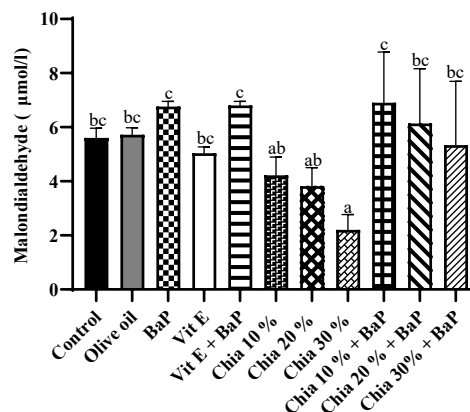
آنها یکسان نیست. یک مطالعه بر روی ۱۰۹ پلیس غیر سیگاری که در پراگ انجام شد، ارتباط منفی ضعیفی بین سطوح ویتامین A پلاسما و اداکت بنزوپیرن با DNA را گزارش کرد [۲۳]. Sram و همکاران نیز نشان دادند که مصرف برخی از آنتی اکسیدان ها مانند ویتامین A در رژیم غذایی با کاهش سطح نشانگرهای آسیب اکسیداتیو ناشی از بنزوپیرن و اکسیداسیون در گلبول های سفید خون محیطی مرتبط است. این می تواند به نقش محافظتی چنین الگوی غذایی در مسمومیت ها اشاره کند. هر چند اثر محافظتی ویتامین های رژیم غذایی در افراد غیرسیگاری قوی تر از افراد سیگاری بود و این ارتباط در افراد سیگاری کمتر مشهود بود. این نشان می دهد که بنزوپیرن موجود در دود سیگار تا حدودی مانع از اثرات آنتی اکسیدانی ویتامین ها می شود و از این لحاظ نتایج آنها تایید کننده نتایج ما می باشد، چرا که در مطالعه آنها، ارتباط معکوس قابل توجهی که بین سطوح ویتامین و ترکیبات افزایشی DNA مشاهده گردید تقریباً به افراد غیر سیگاری محدود می شد. [۲۴].

در قسمتی از نتایج حاضر، اثر محافظتی دانه چیا در مسمومیت اکسیداتیو ناشی از بنزوپیرن با ویتامین E مقایسه شد. نتایج نشان داد که دانه چیا در غلظت ۲۰ و ۳۰ درصد سبب بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در موش های مسموم شده با بنزوپیرن گردید. Guterres و همکاران توضیح داده اند که دانه چیا ویژگی های محافظتی و آنتی ژنوتوکسیک در برابر مسمومیت ناشی از بنزوپیرن دارد و این اثرات را به ترکیبات فنلی این گیاه نسبت می دهند [۹]. ترکیبات فنولی دانه چیا از جمله میریستین، کوئرستین و کامفرول توانایی آنتی اکسیدانی بالایی دارند و قادر به از بین بردن رادیکال های آزاد و کاهش سطح اتواکسیداسیون لیپیدی هستند [۲۵]. Çelik و همکاران نشان دادند که رزوراترول (resveratrol) که یکی از ترکیبات فنولی موجود در دانه چیا می باشد، می تواند تغییرات اکسیداتیو ناشی از بنزوپیرن را بهبود بخشد [۲۶].

در این مطالعه با افزایش غلظت دانه چیا فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی افزایش داشته است، یعنی در غلظت های بیشتر، دانه چیا محافظت بیشتری در برابر استرس اکسیداتیو ارائه می کند. ترکیب اصلی موجود در دانه چیا امگا-۳ است که Ayerza و Coates، آن را به عنوان یک عامل با ظرفیت محافظتی در برابر استرس اکسیداتیو توصیف کرده اند [۱۷]. Sargi و همکاران نیز ظرفیت آنتی اکسیدانی و ترکیب شیمیایی دانه های چیا را آنالیز کرده و به این نتیجه رسیده اند که این ماده یک منبع عالی از اسیدهای چرب مانند اسید آلفا-لینولنیک با فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات مهم برای متابولیسم انسان است [۲۷]. اثرات شفابخش Thymoquinone که ترکیب اصلی گیاهان خانواده Lamiaceae است، در برابر استرس اکسیداتیو، بیماری های عروق کرونر، نارسایی های سیستم اداری، فشار خون بالا، آپوپتوز، التهاب و دیابت گزارش شده است. اثر محافظتی این ترکیب به فعالیت

## مالون دی آلدئید (MDA)

میزان MDA در گروه مصرف کننده روغن زیتون مشابه با گروه کنترل است. بنزوپیرن سبب افزایش میزان MDA نسبت به گروه کنترل شده است، هر چند معنی دار نیست. میزان MDA در گروه دریافت کننده ویتامین E به همراه بنزوپیرن تفاوت معنی داری با بنزوپیرن به تنهایی ندارد. میزان MDA در گروه های مصرف کننده دانه های چیا همراه با بنزوپیرن مشابه با گروه بنزوپیرن به تنهایی است و تفاوت معنی دار ندارد (نمودار ۴).



**نمودار ۴.** مقایسه میانگین MDA در تیمارهای مختلف دانه چیا (Chia) و ویتامین E (Vit E) در مقابل گروه کنترل منفی (Control) و بنزوپیرن حضور حداقل یک حرف لاتین مشترک نشان دهنده عدم اختلاف آماری معنی دار بین هر دو گروه می باشد ( $P > 0.05$ ).

## بحث

در مطالعه حاضر بنزوپیرن باعث کاهش آنزیم های آنتی اکسیدانی (SOD، GPx و TAC) و افزایش MDA (ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی) گردید. پیشنهاد علمی سرشار از مطالعاتی است که نشان می دهد بنزوپیرن با تغییر در سطح پراکسید هیدروژن، آنیونهای سوپراکسید و لیوپراکسیدها و همچنین کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی سبب القای استرس اکسیداتیو می شود و از این طریق اثرات سمی خود را اعمال می کند [۵].

در این مطالعه، مصرف ویتامین E به تنهایی اگرچه باعث افزایش آنزیم های آنتی اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی گردید ولی زمانی که همراه با بنزوپیرن استفاده شد، قادر به بهبود وضعیت اکسیداتیو ناشی از بنزوپیرن نبود. ویتامین E ( $\alpha$ -توکوفرول) به عنوان یک آنتی اکسیدان، در غشای سلولی عمل می کند. خواص آنتی اکسیدانی ویتامین E از طریق گروه هیدروکسیل فنولیک آن اعمال می شود، که هیدروژن را به رادیکال های پراکسیل اهدا می کند و در نتیجه گونه های لیپیدی پایدار ایجاد می شود [۲۲]. مصرف ویتامین ها و آنتی اکسیدان ها در رژیم غذایی ممکن است اثر محافظتی بر آسیب DNA ناشی از غذا و سیگار، که منبع اصلی قرار گرفتن در معرض بنزوپیرن است، داشته باشد و خطر ابتلا به سرطان را کاهش دهد ولی مطالعات مربوط به اثر محافظتی ویتامین ها در مسمومیت با بنزوپیرن کمیاب است و نتایج

آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آن مربوط می شود [۲۸].

## نتیجه گیری

نتایج نشان داد که دانه چیا در غلظت های مورد ارزیابی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد هیچ تأثیر آنتی اکسیدانی ندارد و زمانی که به همراه بنزوپیرن استفاده می شود قادر به محافظت در برابر اثرات اکسیداتیو بنزوپیرن است. دانه چیا پتانسیل آنتی اکسیدانی خود را با افزایش سطح آنزیم SOD و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل نشان می دهد. مصرف این گیاه در رژیم غذایی برای پیشگیری در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از بنزوپیرن پیشنهاد می شود و می تواند جایگزین مناسبی برای ویتامین E (به عنوان یک آنتی اکسیدان شناخته شده) باشد.

## تشکر و قدردانی: این مقاله مستخرج از پایان نامه

دانشجوی کارشناسی ارشد می باشد. تمامی هزینه ها به عهده نویسندگان بوده و هیچ گونه حمایت مالی دریافت نشده است. نویسندگان از آزمایشگاه دانشگاه آزاد شهرکرد بابت انجام آزمایشات کمال تقدیر و تشکر را دارد.

## نقش نویسندگان: همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله

یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می پذیرند.

## تضاد منافع: نویسندگان تصریح می کنند که هیچ گونه تضاد

منافی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

مطالعات انجام شده از دانه چیا به عنوان منبع اصلی اسید های چرب شامل امگا-۳ و امگا-۶ یاد کرده اند [۲۹]. در مطالعه da Silva و همکاران، تأثیر مصرف چیا بر التهاب، استرس اکسیداتیو و پروفایل لیپیدی در موش های ماده بالغ اوریکتومی شده که با رژیم غذایی پرچرب تغذیه شده بودند، بررسی گردید. مصرف چیا با افزایش بیان SOD، بیان PPAR- $\alpha$ ، فعالیت کاتالاز و سطح HDL-c، فعالیت آنتی اکسیدانی را بهبود بخشید. علاوه بر این، مصرف چیا غلظت نشانگرهای التهابی IL-1 $\beta$  و LDL-c را کاهش داد [۳۰]. در مطالعه دیگری، اثرات دانه چیا به عنوان یک استراتژی درمانی در آسیب کبدی و استرس اکسیداتیو در یک مدل تجربی سندرم متابولیک ناشی از تجویز مزمن رژیم غذایی غنی از ساکارز (SRD) بررسی گردید. این مطالعه آسیب کبدی، پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو را در موش های صحرایی مقاوم به انسولین دیس لیپیدمیک نشان داد که به طور مزمن با رژیم غذایی غنی از ساکارز تغذیه می شدند. همچنین، خواص و مکانیسم های مولکولی مرتبط با اثرات آنتی اکسیدانی مفید مصرف دانه چیا گزارش شد [۳۱].

اگرچه حضور مواد فعال در دانه های چیا به مزایای سلامتی، ایمنی و کارایی آن کمک می کند اما باید با پروتکل های علمی معتبر مورد تایید قرار بگیرند، زیرا مطالعات بالینی در مورد ایمنی و کارایی دانه های چیا هنوز محدود هستند. به همین دلیل انجام مطالعاتی در این زمینه ضروری به نظر می رسد.

## منابع

1. Sampaio GR, Guizellini GM, da Silva SA, de Almeida AP, Pinaffi-Langley ACC, Rogero MM, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods: Biological effects, legislation, occurrence, analytical methods, and strategies to reduce their formation. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(11): 6010. doi:10.3390/ijms22116010 PMID:34199457 PMCid:PMC8199595
2. Siddique R, Zahoor AF, Ahmad H, Zahid FM, Karrar E. Impact of different cooking methods on polycyclic aromatic hydrocarbons in rabbit meat. *Food Sci Nutr.* 2021; 9(6): 3219-27. doi:10.1002/fsn3.2284 PMID:34136186 PMCid:PMC8194747
3. Susanto A, Yusril N, Zaini J, Nuwidya F. Comparison of serum benzo (a) pyrene diol epoxide-protein adducts level between kretek cigarette smokers and nonsmokers and the related factors. *J Nat Sci Biol. Med.* 2021; 12: 52. doi:10.4103/jnsbm.JNSBM\_100\_20
4. Bukowska B, Duchnowicz P. Molecular mechanisms of action of selected substances involved in the reduction of benzo [a] pyrene-induced oxidative stress. *Molecules.* 2022; 27(4): 1379. doi:10.3390/molecules27041379 PMID:35209168 PMCid:PMC8878767
5. Chakravarti D, Venugopal D, Mailander PC, Meza JL, Higginbotham S, Cavalieri EL, Rogan EG. The role of polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in inducing mutations in mouse skin. *Mutat Res.* 2008; 649(1-2): 161-78. doi:10.1016/j.mrgentox.2007.08.007 PMID:17931959 PMCid:PMC2254211
6. Gao M, Zheng A, Chen L, Dang F, Liu X, Gao J. Benzo

- (a) pyrene affects proliferation with reference to metabolic genes and ROS/HIF-1 $\alpha$ /HO-1 signaling in A549 and MCF-7 cancer cells. *Drug Chem. Toxicol.* 2022; 45(2): 741-9. doi:10.1080/01480545.2020.1774602 PMID:32506967
7. Ji K, Xing C, Jiang F, Wang X, Guo H, Nan J, et al. Benzo [a] pyrene induces oxidative stress and endothelial progenitor cell dysfunction via the activation of the NF- $\kappa$ B pathway. *Int J Mol Med* 2013; 31(4): 922-30. doi:10.3892/ijmm.2013.1288 PMID:23446805
8. González A, Espinoza D, Vidal C, Moenne A. Benzopyrene induces oxidative stress and increases expression and activities of antioxidant enzymes, and CYP450 and GST metabolizing enzymes in *Ulva lactuca* (Chlorophyta). *Planta.* 2020; 252: 1-13. doi:10.1007/s00425-020-03508-w PMID:33206238
9. Guterres ZR, de Senes Lopes TF, de Queiróz DF, da Silva LMGE, Migliolo L. Study of the modulator effect of oil chia (*Salvia hispanica* L.) associated with benzo (a) pyrene and doxorubicin hydrochloride. *Res Soc Dev* 2022; 11(4): e23611427254-e. doi:10.33448/rsd-v11i4.27254
10. Melo D, Machado TB, Oliveira MBP. Chia seeds: An ancient grain trending in modern human diets. *Food Funct.* 2019; 10(6): 3068-89. doi:10.1039/C9FO00239A PMID:31086922
11. da Silva BP, Toledo RCL, Grancieri M, de Castro Moreira ME, Medina NR, Silva RR, et al. Effects of chia (*Salvia hispanica* L.) on calcium bioavailability and inflammation in Wistar rats. *Food Res Int* 2019; 116: 592-

9. doi:10.1016/j.foodres.2018.08.078 PMID:30716985
12. de Paula Dias Moreira L, Enes BN, de São José VP, Toledo RC, Ladeira LC, Cardoso RR, da Silva Duarte V, Hermsdorff HH, de Barros FA, Martino HS. Chia (*Salvia hispanica* L.) flour and oil ameliorate metabolic disorders in the liver of rats fed a high-fat and high fructose diet. *Foods*. 2022; 11(3): 285. doi:10.3390/foods11030285 PMID:35159437 PMCID:PMC8834135
13. Abdel-Aty AM, Elsayed AM, Salah HA, Bassuiny RI, Mohamed SA. Egyptian chia seeds (*Salvia hispanica* L.) during germination: Upgrading of phenolic profile, antioxidant, antibacterial properties and relevant enzymes activities. *Food Sci. Biotechnol.* 2021; 30: 723-34. doi:10.1007/s10068-021-00902-2 PMID:34123468 PMCID:PMC8144251
14. Medina-Urrutia A, Lopez-Urbe AR, El Hafidi M, González-Salazar MD, Posadas-Sánchez R, Jorge-Galarza E, del Valle-Mondragón L, Juárez-Rojas JG. Chia (*Salvia hispanica*)-supplemented diet ameliorates non-alcoholic fatty liver disease and its metabolic abnormalities in humans. *Lipids Health Dis.* 2020; 19:1-9. doi:10.1186/s12944-020-01283-x PMID:32430018 PMCID:PMC7236935
15. Mihafu FD, Kiage BN, Kimang'a AN, Okoth JK. Effect of chia seeds (*Salvia hispanica*) on postprandial glycaemia, body weight and hematological parameters in rats fed a high fat and fructose diet. *Int J Biol Chem Sci* 2020; 14(5): 1752-62. doi:10.4314/ijbcs.v14i5.20
16. Chan-Zapata I, Arana-Argáez VE, Torres-Romero JC, Segura-Campos MR. Anti-inflammatory effects of the protein hydrolysate and peptide fractions isolated from *Salvia hispanica* L. seeds. *Food Agricultural Immunol.* 2019; 30(1): 786-803. doi:10.1080/09540105.2019.1632804
17. da Silva Marineli R, Lenquist SA, Moraes ÉA, Maróstica Jr MR. Antioxidant potential of dietary chia seed and oil (*Salvia hispanica* L.) in diet-induced obese rats. *Food Res Int.* 2015; 76: 666-74. doi:10.1016/j.foodres.2015.07.039 PMID:28455051
18. Karimi Dehkordi M, Ghasemian SO. Assessment of oxidative stress indexes and BCS in clinical mastitis cows in comparison with healthy cows. *Vet Clin Pathol.* 2022; 16(61): 29-42. doi: 10.30495/JVCP.2022.1906232.1277
19. Karimi-Dehkordi M, Molavi Pordanjani M, Gholami-Ahangaran M, Mousavi Khaneghah A. The detoxification of cadmium in Japanese quail by pomegranate peel powder. *Int J Environ Health Res.* 2023; 1-11 doi:10.1080/09603123.2023.2211547 PMID:37194662
20. Mousavi Tashar N, Karimi Dehkordi M, Nazem M. The effect of serum catalase and superoxide dismutase activity on subclinical ketosis and conception rate at first service in Holstein dairy cows. *Iran J Vet Res.* 2022; 17(4): 111-20. doi: 10.22055/IVJ.2020.219105.2230
21. Karimi Dehkordi M, Salehi N, BaniMehdi P. Comparison of serum oxidative status in healthy Arabian and Dareshoor horses. *Vet Clin Pathol.* 2021; 15(57): 29-39. doi: 10.30495/JVCP.2021.1897033.1264
22. Rimbach G, Moehring J, Huebbe P, Lodge JK. Gene-regulatory activity of  $\alpha$ -tocopherol. *Molecules.* 2010; 15(3): 1746-61. doi:10.3390/molecules15031746 PMID:20336011 PMCID:PMC6257188
23. Topinka J, Sevastyanova O, Binkova B, Chvatalova I, Milcova A, Lnenickova Z, et al. Biomarkers of air pollution exposure-a study of policemen in Prague. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis.* 2007; 624(1-2): 9-17. doi:10.1016/j.mrfmmm.2007.02.032 PMID:17493640
24. Sram R, Farmer P, Singh R, Garte S, Kalina I, Popov T, et al. Effect of vitamin levels on biomarkers of exposure and oxidative damage-the EXPAH study. *Mutation research/genetic toxicology and environmental mutagenesis.* 2009; 672(2): 129-34. doi:10.1016/j.mrgentox.2008.11.005 PMID:19071228
25. da Silva BP, Toledo RCL, Grancieri M, de Castro Moreira ME, Medina NR, Silva RR, et al. Effects of chia (*Salvia hispanica* L.) on calcium bioavailability and inflammation in Wistar rats. *Food Res Int.* 2019; 116: 592-9. doi:10.1016/j.foodres.2018.08.078 PMID:30716985
26. Çelik S, Baysal B, Şen S. Resveratrol attenuates benzo (a) pyrene-induced dysfunctions, oxidative stress and apoptosis in pancreatic beta-cells. *Adv Biosci Biotechnol.* 2019; 10(11): 389-404. doi:10.4236/abb.2019.1011029
27. Sargi SC, Silva BC, Santos HMC, Montanher PF, Boeing JS, Santos Júnior OO, et al. Antioxidant capacity and chemical composition in seeds rich in omega-3: chia, flax, and perilla. *Food Sci. Technol.* 2013; 33: 541-8. doi:10.1590/S0101-20612013005000057
28. Patrignani F, Prasad S, Novakovic M, Marin PD, Bukvicki D. Lamiaceae in the treatment of cardiovascular diseases. *Front Biosci.* 2021; 26(4): 612-43. doi:10.2741/4909 PMID:33049685
29. Jiménez-Rojas MI, Vázquez-Euán R, Magaña-Sevilla H, Azcorra Perera GdJ, Rodríguez Canul R, Zamora-Bustillos R. Chia (*Salvia hispanica*) harvest residue induces cytokine expression in rabbits. *Ecosistemas y recursos agropecuarios* 2018; 5(13): 35-43. doi:10.19136/era.a5n13.1377
30. da Silva BP, Toledo RC, Mishima MD, de Castro Moreira ME, Vasconcelos CM, Pereira CE, et al. Effects of chia (*Salvia hispanica* L.) on oxidative stress and inflammation in ovariectomized adult female Wistar rats. *FOOD FUNCT.* 2019; 10(7): 4036-45. doi:10.1039/C9FO00862D PMID:31219482
31. Joubert MB, Ingaramo P, Oliva ME, D'Alessandro ME. *Salvia hispanica* L. (chia) seed ameliorates liver injury and oxidative stress by modulating NrF2 and NFκB expression in sucrose-rich diet-fed rats. *FOOD FUNCT.* 2022; 13(13):7333-45. doi:10.1039/D2FO00642A PMID:35726830

#### How to Cite this Article:

Riazi P, Karimi-Dehkordi M, Jafarian Dehkord M. Protective effects of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) against oxidative damage caused by benzopyrene in mice. *Feyz Med Sci J* 2024; 28 (3): 226-233. doi: 10.48307/FMSJ.2024.28.3.226