

Investigating the effect of safranal on Bax and Bcl2 and oxidative stress levels in testis tissue of streptozotocin-induced diabetic rats

Ataei Gh^{1*}, Rahbarian R²

Department of Biology, Faculty of Sciences, Payam Noor University, Tehran, I.R. Iran.

Received: 2019/05/20 | Accepted: 2019/12/2

Abstract:

Background: One of the most common endocrine diseases is type 1 diabetes, which causes oxidative stress in testis tissue. Today, in the treatment of diabetes, the tendency toward herbal medicines is increasing day by day. This study aimed to investigate the effects of safranal on Bax and Bcl2 and anti-oxidant levels of streptozotocin-induced diabetic rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 24 rats were divided into 4 groups: control, non-treated diabetic and 2 safranal-treated diabetic groups (50, 100 mg/ml, 25 days intraperitoneal injection). The diabetic groups were diabetic with intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) at a concentration of 55 mg/kg body weight of the mouse. On day 25, the testicles were excised to evaluate antioxidant enzymes and Bax and Bcl2. The results were analyzed by using SPSS 20 software, one-way ANOVA and LSD tests

Results: The level of pro-apoptotic Bax and malondialdehyde level in the treated group with a concentration of 100 mg/ml of safranal was significantly reduced compared to the treatment group with a concentration of 50 mg/ml of safranal and control group. However, the level of pro-apoptotic Bcl-2 and glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase enzymes in the treated group with a concentration of 100 mg/ml of safranal was significantly increased compared to the treatment group with a concentration of 50 mg/ml of safranal and control group ($P < 0.05$); which indicates the effect of safranal concentration. Also, safranal significantly reduced the level of glucose in diabetic rats.

Conclusion: Safranal can improve the antioxidant activity and decrease the damage induced by diabetes in the testis tissue of diabetic rats.

Keywords: Safranal, Bax protein, Bcl2 proteins, Testicle, Rat, Diabetes mellitus

***Corresponding Author:**

Email: ra_rahbarian@yahoo.com

Tel: 0098 915 351 8157

Fax: 0098 212 244 1511

Conflict of Interests: *No*

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2020; Vol. 24, No 1, Pages 10-20

Please cite this article as: Ataei Gh, Rahbarian R. Investigating the effect of safranal on Bax and Bcl2 and oxidative stress levels in testis tissue of streptozotocin-induced diabetic rats. *Feyz* 2020; 24(1): 10-20.

بررسی اثر سافرانال بر میزان Bax، Bcl2 و شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

غزال عطائی^۱، راهله رهباریان^{۲*}

خلاصه:

سابقه و هدف: یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون‌ریز، دیابت نوع یک می‌باشد که استرس‌های اکسیداتیو را در بافت بیضه ایجاد می‌کند. امروزه برای درمان دیابت، گرایش به سوی داروهای گیاهی روزه‌روز افزایش می‌یابد. این مطالعه با هدف بررسی سافرانال بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانت و میزان Bax و Bcl2 در موش‌های صحرایی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش صحرایی به چهار گروه شاهد، شاهد دیابتی و ۲ گروه دیابتی تحت تیمار با سافرانال (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۲۵ روز تزریق داخل‌صفافی) تقسیم شدند. گروه‌های دیابتی با یکبار تزریق داخل‌صفافی استرپتوزوتوسین با غلظت ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش دیابتی شدند. نتایج توسط نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۲۰ و آزمون‌های آنالیز واریانس چند متغیره (MANOVA) و آزمون‌های اثرات بین‌گروهی (Tests of Between-Subjects Effects) و روش داده‌های تکرار شده (Repeated Measure) تحلیل شدند.

نتایج: سطح بافتی شاخص Bax و مقدار مالون‌دی‌آلدئید در گروه تحت درمان با غلظت ۱۰۰ mg/ml سافرانال در مقایسه با گروه تحت درمان با غلظت ۵۰ mg/ml سافرانال و گروه شاهد دیابتی کاهش معنی‌داری داشت. در مقدار سطح بافتی شاخص Bcl2 و آنزیم‌های گلوکاتیون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز در گروه تحت درمان با غلظت ۱۰۰ mg/ml سافرانال نسبت به گروه تحت درمان با غلظت ۵۰ mg/ml سافرانال و گروه شاهد دیابتی افزایش معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$) که نشان‌دهنده اثر وابسته به دوز سافرانال می‌باشد. همچنین سافرانال موجب کاهش معنی‌داری در میزان قند خون موش‌های دیابتی شد. نتیجه‌گیری: سافرانال می‌تواند موجب بهبود شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی شود و آسیب‌های القاشده توسط دیابت در بافت بیضه موش‌های دیابتی را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: سافرانال، Bax، Bcl2، بیضه، موش صحرایی، دیابت

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و چهارم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۹، صفحات ۲۰-۱۰

مقدمه

عوارض عروقی دیابت شامل نروپاتی، نفروپاتی، رتینوپاتی و بیماری‌های ماکروواسکولار می‌باشد که از دلایل اصلی مرگ‌ومیر در بیماران دیابتی محسوب می‌شود [۴]. دیابت به‌عنوان یک اختلال متابولیکی از نظر نقصان در ترشح هورمونی، عملکرد انسولین و یا هر دو ناشی می‌شود و با افزایش گلوکز خون که اغلب با افزایش گلوکز در ادرار، پرنوشی، پراداری و پرخوری همراه است، مشخص می‌شود [۳]. در دیابت استرس‌های اکسایشی افزایش می‌یابند. استرس‌های اکسایشی در اصطلاح به ازدیاد تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و نیتروژن و برداشت ناکارآمد آن‌ها از محیط‌های سلولی اطلاق می‌شود که تداوم این شرایط موجب آسیب رسیدن به ساختارهای سلولی و پروتئینی و ایجاد آپوپتوز (Apoptosis) می‌شود. آپوپتوز یک فرآیند طبیعی در سلول‌ها می‌باشد که موجب حذف سلول‌های پیر، آسیب‌دیده و مضر می‌شود [۵،۳]. در شرایط طبیعی ROS تولیدشده در مایع منی توسط آنتی‌اکسیدان‌های موجود در مایع منی غیرفعال می‌شود، در نتیجه یکی از دلایل ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو و نقص عملکرد اسپرماتوزوا در دیابت به‌دلیل عدم تعادل بین تولید ROS

واژه دیابت قندی (Diabetes Mellitus) از دو جزء Diabetes به معنای چشمه و Mellitus به معنای شیرین از زبان یونانی گرفته شده [۱] که بر اثر التهاب جزایر لانگرهانس و تخریب انتخابی سلول‌های بتای پانکراس به وجود می‌آید [۲]. قند خون بالا، عامل بیماری‌زای اصلی دیابت می‌باشد [۳]. در غرب، دیابت بیش از ۱۴۰ میلیون نفر را مبتلا کرده است و این تعداد از افراد دیابتی تا سال ۲۰۲۵ به ۳۰۰ میلیون نفر خواهد رسید.

۱. کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۲. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

تهران، دانشگاه پیام نور، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

دوره‌نویس: ۰۲۱ ۲۲۴۴۱۵۱۱

تلفن: ۰۹۱۵۳۵۱۸۱۵۷

پست الکترونیک: ra_rahbarian@yahoo.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۹/۱۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۳۰

امکان استفاده از گیاهانی مانند زعفران که بومی ایران هستند، میسر است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۷ در دانشگاه پیام نور انجام شد، تعداد ۲۴ سر موش صحرایی با محدوده وزنی 195 ± 4 گرم و سن تقریبی 95 ± 3 روز تهیه شد. حیوانات در دمای 24 ± 3 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 35 ± 4 درصد با دوره روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. حیوانات در قفس‌های استاندارد پلی‌کربنات شفاف (Razi rad, Iran) قرار داشتند و آب به مقدار کافی توسط بطری‌های پلاستیکی با حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر در اختیار آن‌ها قرار داده شد. همچنین از غذای فشرده مخصوص موش با فرمول استاندارد (Danedaran toos, Iran) تغذیه نمودند. برای ایجاد حالت سازش با محیط، آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز پس از استقرار حیوانات به انجام رسید. در این پژوهش کلیه اعمال جراحی و نمونه‌گیری‌ها تحت بیهوشی کامل انجام و سعی شد از کمترین تعداد نمونه قابل قبول استفاده شود. رعایت تمامی حقوق حیوانات آزمایشگاهی در انجام مطالعه برای استفاده انسانی، بر اساس دستورالعمل‌های بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی بود و کد اخلاقی این طرح پژوهشی IR.NUMS.REC.1395.47 می‌باشد. در همه مراحل، قوانین و مقررات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. موش‌های صحرایی به شکل تصادفی به چهار گروه (در هر گروه شش سر موش صحرایی) شاهد، شاهد دیابتی، دیابتی تحت درمان با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سافرانال و غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سافرانال تقسیم شدند. گروه اول: موش‌های صحرایی گروه شاهد به مدت ۲۵ روز به صورت داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر محلول سالین به عنوان حلال دارو دریافت کردند. گروه دوم: موش‌های صحرایی گروه شاهد دیابتی پس از ایجاد دیابت تجربی توسط استرپتوزوتوسین (STZ) با غلظت ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش، به مدت ۲۵ روز به شکل داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر محلول سالین به عنوان حلال دارو دریافت کردند. گروه سوم: موش‌های صحرایی پس از القای دیابت تجربی به مدت ۲۵ روز، ۰/۵ میلی‌لیتر سافرانال با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه چهارم: موش‌های صحرایی پس از القای دیابت تجربی در مدت ۲۵ روز ۰/۵ میلی‌لیتر غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سافرانال را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. عصاره سافرانال به شکل آماده از شرکت Sigma-Aldrich, France با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر خریداری

و غیرفعال شدن آن توسط آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد [۶]. مشاهده شده است که در بیماری دیابت افزایش آپوپتوز در بافت بیضه رخ می‌دهد که از نشانه‌های بارز آن افزایش سطح بافتی شاخص Bax و کاهش سطح بافتی شاخص Bcl2 در بافت بیضه می‌باشد. خانواده پروتئین Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) که با ژن *Bcl2* کدگذاری می‌شود، یک پروتئین آنتی‌آپوپتوتیک می‌باشد و می‌تواند از آسیب‌های سیتوتوکسیتی جلوگیری کند [۷]. هایپرگلیسمی (Hyperglycemia) با افزایش رادیکال‌های آزاد موجب بیان بالای پروتئین Bax می‌شود [۵]. پروتئین Bax یا پروتئین X وابسته به Bcl2، پروتئین تنظیم‌کننده آپوپتوز است و در زمان استرس‌های اکسایشی افزایش می‌یابد و موجب ایجاد سیگنال‌های مختلف سلولی می‌شود. پس غلظت این پروتئین‌ها عامل مهمی در سرنوشت سلولی است [۸،۷]. مطالعه Arikawe و همکاران نشان داد مقدار تستوسترون و LH در موش‌های دیابتی به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده تأثیر دیابت بر کاهش مقدار هورمون‌های مردانه است [۹]. Riss و همکاران در سال ۲۰۰۹ دریافتند که دیابت وابسته به انسولین موجب کاهش میزان اسپرم و در نتیجه کاهش قدرت و تحرک اسپرماتوا می‌شود [۱۰]. تحقیقات دیگری نیز در این زمینه انجام شده، ولی طبق مطالعات صورت گرفته در هیچ‌یک به بررسی سطح بافتی شاخص Bax و Bcl2 در بافت بیضه موش‌های دیابتی پرداخته نشده است [۱۱-۱۴]. امروزه برای درمان بیماری‌ها از جمله دیابت گرایش به سوی استفاده از داروهای گیاهی که دارای کمترین عوارض جانبی نسبت به داروهای شیمیایی هستند، روزه‌روز گسترش می‌یابد. زعفران (*Crocus sativus*) گیاهی چندساله از تیره زنبقیان (Iridaceae) است [۱۶،۱۵]. سافرانال که یکی از مواد مؤثر استخراج‌شده از گیاه زعفران می‌باشد؛ فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارد و موجب افزایش حساسیت به انسولین می‌شود و ناهنجاری‌های مرتبط با آن را بهبود می‌بخشد [۱۷]. در این مطالعه به دلیل اهمیت بیماری دیابت و تأثیرات مخرب آن در باروری مردان، به بررسی اثر سافرانال بر میزان Bax، Bcl2 و شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی پرداخته خواهد شد. هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر گیاهان دارویی بر سلامت انسان‌ها و درمان بیماری‌ها می‌باشد و ضرورت انجام این پژوهش از آنجا احساس می‌شود که دیابت یکی از بیماری‌هایی است که انسان‌های زیادی به آن مبتلا هستند و موجب مشکلات بسیاری از جمله ناباروری می‌شود؛ از طرفی استفاده از داروهای شیمیایی برای سلامت انسان‌ها مضر می‌باشد و همچنین

اثر سافرانال بر آپوپتوز بافت بیضه در موش‌های دیابتی، ...

(TMB color developing) به کیت اضافه شد و انکوباسیون مرحله آخر که چهارمین انکوباسیون بود، در دمای ذکر شده و در محیطی تاریک به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه انجام شد. در انتها ماده متوقف‌کننده واکنش رنگ‌زایی (TMB stop solution) به کیت اضافه شد و نتایج توسط دستگاه الیزا ریدر مدل 2100 (Stat Fax, USA) خوانده شد. سنجش‌ها بر اساس بازه و حساسیت هر پارامتر به قرار زیر است: شاخص سطح بافتی Bax: بازه: ۲۰-۰/۳۱۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر و حساسیت $0/188$، شاخص سطح بافتی Bcl2: بازه: ۱۰-۰/۱۵۶ نانوگرم بر میلی‌لیتر و حساسیت $0/94$، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD): بازه: ۵۰-۰/۷۸۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر و حساسیت $0/469$، آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز (GPX): بازه: ۲۰۰۰-۳۱/۲۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و حساسیت $18/75$، آنزیم کاتالاز (CAT): بازه: ۲۰۰۰-۳۱/۲۰ واحد بین‌المللی میلی در هر میلی‌لیتر (mIU/ml) و حساسیت $18/75$، میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA): بازه: ۵۰۰-۷/۸۱۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر و حساسیت $4/688$ [۵،۳]. اطلاعات به‌دست‌آمده به کمک نرم‌افزار آماری SPSS و ویرایش ۲۰ تحلیل شدند. از آنجا که نتایج به‌دست‌آمده کمی می‌باشد، فرض طبیعی بودن توزیع فراوانی داده‌ها، توسط آزمون Kolmogorov-Smirnov بررسی شد. به‌منظور مقایسه میانگین بین گروه‌های مورد آزمایش از آزمون آنالیز واریانس چندمتغیره (MANOVA) و آزمون‌های اثرات بین‌گروهی (Tests of Between-Subjects Effects) و روش داده‌های تکرار شده (Repeated Measure) استفاده شد. نتایج به‌دست‌آمده به‌همراه محاسبات آماری مربوطه به‌صورت $(\bar{X} \pm SD)$ گزارش شد. سطح معنی‌داری، در آزمون‌ها $0/05 < P <$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از تحلیل داده‌های مطالعه حاضر نشان داد سطح بافتی شاخص‌های Bax و میزان مالون‌دی‌آلدئید در گروه شاهد دیابتی در مقایسه با شاهد سالم به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ($P < 0/05$). مقدار Bcl2 و آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز در گروه شاهد دیابتی در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$). در مقایسه با گروه شاهد دیابتی، سطح بافتی شاخص Bcl2 و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و میزان مالون‌دی‌آلدئید در گروه دیابتی تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سافرانال اختلاف معنی‌داری نداشت؛ ولی آنزیم‌های کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز در گروه دیابتی تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر

و سپس از نمونه استوک، نمونه‌هایی با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. ایجاد دیابت تجربی در موش‌های صحرایی به دنبال ۱۶ ساعت ناشتایی با یک‌بار تزریق داخل‌صفافی STZ (Sigma-Aldrich, Germany) به میزان ۵۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش ایجاد شد و از بافر سترات (pH=۵/۴) به‌عنوان حلال STZ استفاده شد. تزریق استریتوزوتوسین به گروه شاهد دیابتی و دو گروه دیابتی تحت درمان با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سافرانال صورت گرفت. با توجه به این‌که مطالعه روی دیابت مزمن می‌باشد، حدود سه روز پس از تزریق STZ به‌منظور تأیید القای دیابت تجربی، از ورید دمی خون‌گیری صورت گرفت و قند خون به‌وسیله دستگاه گلوکومتر مدل IGM-0002A (EasyGluco, Korea) اندازه‌گیری شد و قند خون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن و روز صفر آزمایش در نظر گرفته شد [۱۶]. میزان قند خون موش‌ها قبل از دیابتی شدن و سپس در روزهای ۸، ۱۶ و ۲۴ پس از شروع تیماردهی با سافرانال نیز مجدداً سنجش شد. همچنین میانگین وزن موش‌های صحرایی در هر گروه در روزهای ۱، ۸، ۱۶ و ۲۴ اندازه‌گیری شد. در پایان دوره درمان، موش‌های صحرایی با دی‌ایتل اتر (Merck, Germany) بی‌هوش شدند. سپس، بافت بیضه از بدن حیوان خارج شد و پس از شستشو با محلول سالین به‌منظور ارزیابی پارامترهای مدنظر به آزمایشگاه منتقل شد. سطح بافتی پارامترهای مورد بررسی به‌روش ELISA و کیت‌های شرکت Fine test, China اندازه‌گیری شد. جهت آماده‌سازی بافت بیضه برای انجام تست ELISA، ابتدا بافت بیضه چندین بار با محلول سالین شستشو داده شد و بعد از آن در دستگاه هموژنایزر هموژن شد. سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با ۵۰۰۰ دور قرار داده شد و در مرحله آخر از محلول به‌دست‌آمده که همان سیتوپلاسم است، جهت سنجش‌های بافتی استفاده شد. روش ELISA برای سنجش نمونه‌های بیضه به‌صورت زیر می‌باشد: ابتدا محلول‌های استاندارد و نمونه‌ها با نسبت و غلظت‌های آماده‌شده طبق دستور کارخانه سازنده کیت (Fine test, China) به پلیت اضافه شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۹۰ دقیقه انکوباسیون انجام شد. کیت در این مرحله شسته نشد. سپس آنتی‌بادی بیوتینیل به پلیت اضافه شد و انکوباسیون مرحله دوم به‌مدت ۶۰ دقیقه در همان دمای قبل انجام شد. در این مرحله پلیت سه مرتبه توسط محلول TBS شستشو داده شد. سپس ABC working به کیت اضافه شد. انکوباسیون مرحله سوم در همان دما به‌مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. در مرحله بعد پلیت، پنج مرتبه توسط TBS شسته شد. در ادامه، ماده رنگ‌زا

۵۰ سافرانال و گروه شاهد دیابتی به شکل معنی‌داری افزایش نشان داد ($P < 0/05$)؛ ولی سطح بافتی شاخص Bax و مقدار مالون‌دی‌آلدئید در گروه دیابتی تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سافرانال در مقایسه با گروه دیابتی تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سافرانال و گروه شاهد دیابتی به طور معنی‌داری کاهش یافت که این امر نشان‌دهنده اثر وابسته به غلظت سافرانال می‌باشد (جدول شماره ۱ و ۲).

میلی‌لیتر سافرانال به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/05$). کاهش سطح بافتی شاخص Bax در گروه دیابتی تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سافرانال نسبت به شاهد دیابتی معنی‌دار بود ($P < 0/05$). با این حال سطح بافتی شاخص‌های Bcl2 و آنزیم‌های کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گروه دیابتی تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سافرانال در مقایسه با گروه دیابتی تحت تیمار با غلظت

جدول شماره ۱- بررسی میانگین سطح Bax، Bcl2 و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت بیضه موش‌های سالم و دیابتی تحت تیمار با سافرانال

گروه	سالم	شاهد دیابتی	دیابتی تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سافرانال	دیابتی تیمار با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سافرانال
Bax	۱/۴۰±۰/۰۸ ^a	۱۶/۰۱±۰/۲۹ ^b	۱۴/۴۰±۰/۳۳ ^c	۴/۲۸±۰/۶۰ ^d
Bcl2	۸/۰۷±۰/۱۶ ^a	۰/۹۵±۰/۰۵ ^b	۱/۱۹±۰/۱۱ ^h	۵/۷۴±۰/۳۳ ^c
SOD	۴۱/۳۷±۱/۴۴ ^a	۳/۲۲±۰/۰۴ ^c	۶/۳۴±۰/۳۹ ^f	۲۳/۵۴±۰/۳۳ ^e
GPX	۵۶۴/۱۲±۵/۳۷ ^a	۱۰۳/۱۱±۳/۰۹ ⁱ	۱۳۲/۱۹±۳/۲۴ ⁱ	۴۱۴/۳۳±۶/۶۰ ^j
CAT	۴۳۷/۵۱±۴/۰۲ ^a	۱۱۴/۳۱±۳/۷۹ ^k	۱۳۳/۳۷±۱۰/۴۵ ^k	۳۱۷/۶۷±۶/۷۴ ^l
MDA	۲۴/۶۶±۲/۴۳ ^d	۲۴۵/۹۴±۴/۴۲ ^m	۲۳۹/۲۳±۱۰/۰۰ ^m	۸۰/۸۷±۸/۱۱ ⁿ

میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($P < 0/05$).

Bax: ng/ml :Bcl2 .ng/ml :SOD .ng/ml :GPX .Pg/ml :CAT .mIU/ml :MDA .ng/ml

جدول شماره ۲- تجزیه واریانس چندمتغیره (MANOVA) اثر سافرانال با دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر Bax، Bcl2 و آنزیم‌های

آنتی‌اکسیدانی در بافت بیضه موش‌های سالم و دیابتی

	متغیرها	مقدار	معناداری	درجه آزادی فرضی	خطای درجه آزادی	p
آزمون‌ها	Pillai's Trace	۱/۰۰۰	۲/۲۰۱ E ^a	۶/۰۰۰	۷/۰۰۰	۰
	Wilks' Lambda	/۰۰۰	۲/۲۰۱ E ^a	۶/۰۰۰	۷/۰۰۰	۰
	Hotelling's Trace	۱/۸۸۶ E ^۴	۲/۲۰۱ E ^a	۶/۰۰۰	۷/۰۰۰	۰
	Roy's Largest Root	۱/۸۸۶ E ^۴	۲/۲۰۱ E ^a	۶/۰۰۰	۷/۰۰۰	۰
گروه‌ها	Pillai's Trace	۲/۵۰۸	۷/۶۳۷	۱۸/۰۰۰	۲۷/۰۰۰	۰
	Wilks' Lambda	۰	۹۸/۱۴۲	۱۸/۰۰۰	۲۰/۲۸۴	۰
	Hotelling's Trace	۸/۲۲۹ E ^۳	۲/۵۹۱ E ^۳	۱۸/۰۰۰	۱۷/۰۰۰	۰
	Roy's Largest Root	۸/۲۲۹ E ^۳	۱/۲۳۱ E ^b	۶/۰۰۰	۹/۰۰۰	۰

میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($P < 0/05$).

جدول شماره ۳- آزمون‌های اثرات بین‌گروهی (Tests of Between-Subjects Effects) ساfranال با دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر

میلی‌لیتر بر Bax, Bcl2 و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت بیضه موش‌های سالم و دیابتی

منابع	متغیر وابسته	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	معناداری	P
مدل اصلاح‌شده	Bax	۶۳۲/۵۸۴ ^a	۳	۲۱۰/۸۶۱	۱/۴۹۷ E۳	۰
	SOD	۶۰۰۸۸۷/۳۶۵ ^b	۳	۲۰۰۲۹۵/۷۸۸	۸/۶۵۱ E۳	۰
	Bcl2	۱۴۵/۲۸۴ ^c	۳	۴۸/۴۱۶	۱/۲۴۱ E۳	۰
	GPX	۲۸۶۴۲۳/۷۳۱ ^d	۳	۹۵۴۷۴/۵۷۷	۲/۰۶۰ E۳	۰
	CAT	۳۸۱۰/۵۷۳ ^e	۳	۱۲۷۰/۱۹۱	۲۴۲/۰۹۵	۰
	MDA	۱۵۱۳۴۷/۸۶۹ ^f	۳	۵۰۴۴۹/۲۹۰	۱/۰۵۴ E۳	۰
نتایج آزمون	Bax	۱۳۰۳/۳۹۱	۱	۱۳۰۳/۳۹۱	۹/۲۵۴ E۳	۰
	SOD	۱۴۷۵۶۱۱/۴۸۹	۱	۱۴۷۵۶۱۱/۴۸۹	۶/۳۷۳ E۴	۰
	Bcl2	۲۵۳/۲۰۸	۱	۲۵۳/۲۰۸	۶/۴۹۰ E۳	۰
	GPX	۱۰۰۵۱۴۶/۶۰۵	۱	۱۰۰۵۱۴۶/۶۰۵	۲/۱۶۹ E۴	۰
	CAT	۵۶۲۷/۶۲۵	۱	۵۶۲۴/۶۲۵	۱/۰۷۲ E۳	۰
	MDA	۳۴۷۹۷۰/۲۱۲	۱	۳۴۷۹۷۰/۲۱۲	۷/۲۷۱ E۳	۰
گروه‌ها	Bax	۶۳۲/۵۸۴	۳	۲۱۰/۸۶۱	۱/۴۹۷ E۳	۰
	SOD	۶۰۰۸۸۷/۳۶۵	۳	۲۰۰۲۹۵/۷۸۸	۸/۶۵۱ E۳	۰
	Bcl2	۱۴۵/۲۸۴	۳	۴۸/۴۱۶	۱/۲۴۱ E۳	۰
	GPX	۲۸۶۴۲۳/۷۳۱	۳	۹۵۴۷۴/۵۷۷	۲/۰۶۰ E۳	۰
	CAT	۳۸۱۰/۵۷۳	۳	۱۲۷۰/۱۹۱	۲۴۲/۰۹۵	۰
	MDA	۱۵۱۳۴۷/۸۶۹	۳	۵۰۴۴۹/۲۹۰	۱/۰۵۴ E۳	۰
خطا	Bax	۱/۶۹۰	۱۲	/۱۴۱		
	SOD	۲۷۷/۸۴۲	۱۲	۲۳/۱۵۴		
	Bcl2	/۴۶۸	۱۲	۰/۳۹		
	GPX	۵۵۶/۱۱۲	۱۲	۴۶/۳۴۳		
	CAT	۶۲/۹۶۰	۱۲	۵/۲۴۷		
	MDA	۵۷۴/۲۶۸	۱۲	۴۷/۸۵۶		
مجموع	Bax	۱۹۳۷/۶۶۵	۱۶			
	SOD	۲۰۷۶۷۷۶/۶۹۶	۱۶			
	Bcl2	۳۹۸/۹۲۴	۱۶			
	GPX	۱۲۹۲۱۲۶/۴۴۸	۱۶			
	CAT	۹۴۹۸/۱۵۸	۱۶			
	MDA	۴۹۹۸۹۲/۳۴۹	۱۶			
اصلاح‌شده کل	Bax	۶۳۴/۲۷۴	۱۵			
	SOD	۶۰۱۱۶۵/۲۰۸	۱۵			
	Bcl2	۱۴۵/۷۱۷	۱۵			
	GPX	۲۸۶۹۷۹/۸۴۳	۱۵			
	CAT	۳۸۷۳/۵۳۳	۱۵			
	MDA	۱۵۱۹۲۲/۱۳۷	۱۵			

میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($P < ۰/۰۵$).

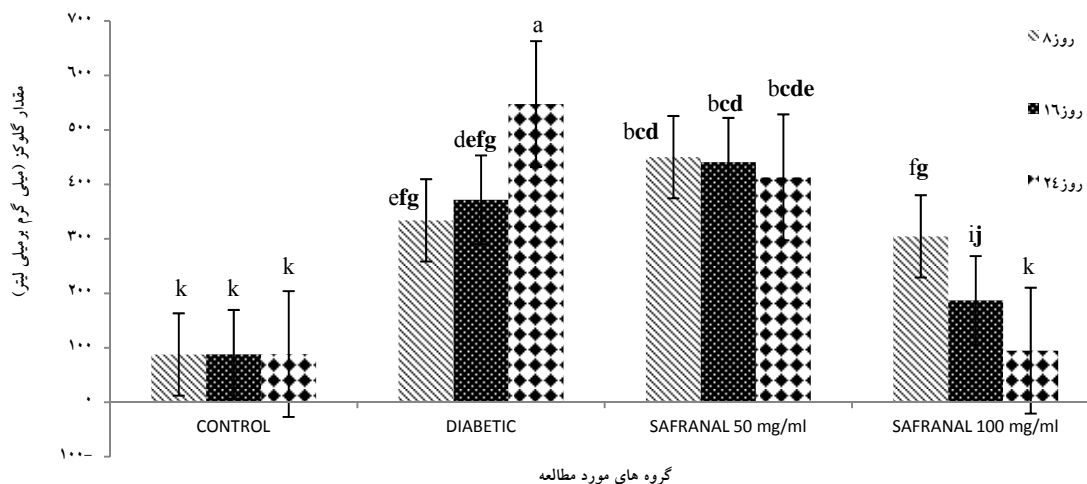
گروه دیابتی تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ سافراناال نسبت به شاهد دیابتی در روز ۸ اختلاف معنی دار نبود؛ ولی در گروه دیابتی تحت تیمار سافراناال با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر، در روزهای ۱۶ و ۲۴ قند خون پایین تری نسبت به گروه شاهد دیابتی مشاهده شد ($P < 0/05$). در روز ۱۶ و ۲۴، گروه تحت درمان با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر سافراناال میزان قند خون پایین تری نسبت به گروه تحت درمان با غلظت ۵۰ سافراناال داشتند که این نتایج، نشان دهنده اثر وابسته به دوز تزریقی سافراناال می باشد (جدول شماره ۴ و نمودار شماره ۱).

از نظر میزان قند خون، نتایج نشان دهنده این است که قبل از دیابتی شدن موش ها، در همه گروه ها اختلاف معنی داری مشاهده نشده است ($P > 0/05$). در مقایسه گروه شاهد دیابتی با شاهد سالم، میانگین قند خون موش ها در روزهای ۸، ۱۶ و ۲۴ بعد از شروع آزمایش، در گروه شاهد دیابتی دارای افزایش معنی دار بود ($P < 0/05$). با این حال در مقایسه گروه دیابتی تحت درمان با غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر سافراناال نسبت به شاهد دیابتی در روزهای ۸ و ۱۶ تفاوت معنی داری بین میزان قند خون گروه ها مشاهده نشد، ولی در روز ۲۴ کاهش قند خون، معنی دار بود ($P < 0/05$). نتایج نشان داد که از نظر میزان قند خون در مقایسه

جدول شماره ۴- مقایسه میانگین قند خون موش های دیابتی در روزهای ۸، ۱۶ و ۲۴ بعد از شروع تیماردهی به روش آزمون داده های تکرار شده

(Repeated Measure)						
	اثرات	مقدار	معناداری	درجه آزادی فرضی	خطای درجه آزادی	P
آزمون ها	Pillai's Trace	۰/۳۸۶	۳/۴۶۰ ^b	۲/۰۰۰	۱۱/۰۰۰	۰/۰۶۸
	Wilks' Lambda	۰/۶۱۴	۳/۴۶۰ ^b	۲/۰۰۰	۱۱/۰۰۰	۰/۰۶۸
	Hotelling's Trace	۰/۶۲۹	۳/۴۶۰ ^b	۲/۰۰۰	۱۱/۰۰۰	۰/۰۶۸
	Roy's Largest Root	۰/۶۲۹	۳/۴۶۰ ^b	۲/۰۰۰	۱۱/۰۰۰	۰/۰۶۸
زمان * گروه ها	Pillai's Trace	۱/۲۵۳	۶/۷۱۲	۶/۰۰۰	۲۴/۰۰۰	۰
	Wilks' Lambda	۰/۰۹۰	۸/۵۲۸ ^b	۶/۰۰۰	۲۲/۰۰۰	۰
	Hotelling's Trace	۶/۲۶۱	۱۰/۴۳۵	۶/۰۰۰	۲۰/۰۰۰	۰
	Roy's Largest Root	۵/۵۸۰	۲۲/۳۲۰ ^c	۳/۰۰۰	۱۲/۰۰۰	۰

میانگین های دارای حرف مشترک اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند ($P < 0/05$).



نمودار شماره ۱- نمودار مقایسه میانگین قند خون موش های دیابتی در روزهای ۸، ۱۶ و ۲۴ بعد از شروع تیماردهی میانگین های دارای حرف مشترک اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند ($P < 0/05$).

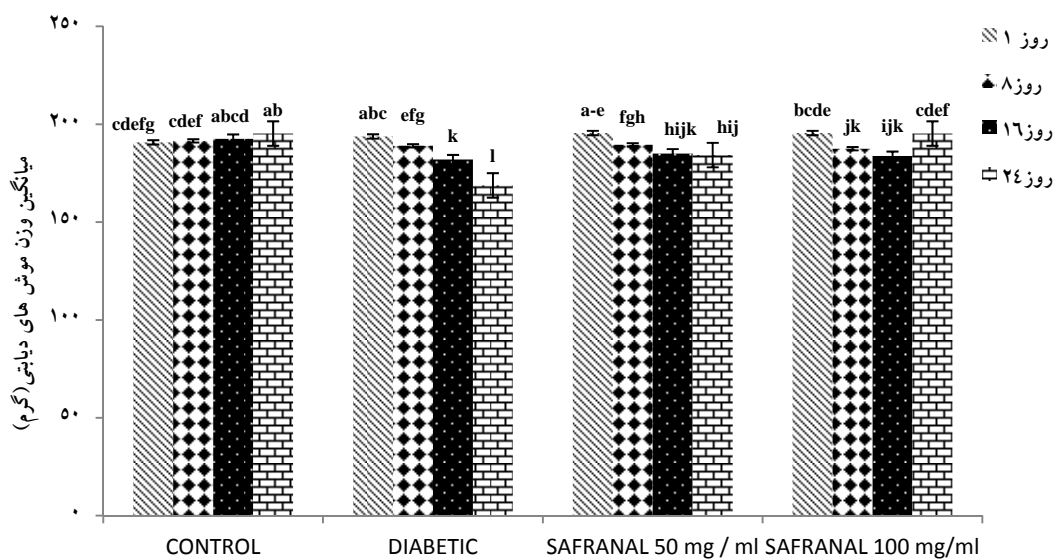
اثر سافرانال بر آپوتوز بافت بیضه در موش‌های دیابتی، ...

مطالعات صورت گرفته در رابطه با میانگین وزن موش‌های صحرایی نشان داد که در روز ۱ شروع درمان با سافرانال، در همه گروه‌ها اختلاف معنی‌دار نبود ($P > 0/05$). در مقایسه گروه شاهد دیابتی با شاهد سالم در روز ۸ تیماردهی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، ولی در روزهای ۱۶ و ۲۴ کاهش میانگین وزن موش‌ها در گروه شاهد دیابتی محسوس بود ($P < 0/05$). در مقایسه گروه دیابتی تحت تزریق با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سافرانال نسبت به شاهد دیابتی در روزهای ۸ و ۱۶ اختلاف معنی‌داری در وزن موش‌ها مشاهده نشد، ولی در روز ۲۴، افزایش در میانگین وزن موش‌های صحرایی تحت درمان با سافرانال ۵۰، معنی‌دار بود (شماره ۵ و نمودار شماره ۲).

جدول شماره ۵- مقایسه میانگین وزن موش‌های دیابتی در روزهای ۱، ۸، ۱۶ و ۲۴ بعد از شروع تیماردهی به روش آزمون داده‌های تکرار شده (REPEATED MEASURE)

اثرات	مقدار	معناداری	درجه آزادی فرضی	خطای درجه آزادی	P
آزمون‌ها	Pillai's Trace	۰/۹۶۱	۸۳/۰۲۵ ^b	۳/۰۰۰	۱۰/۰۰۰
	Wilks' Lambda	۰/۰۳۹	۸۳/۰۲۵ ^b	۳/۰۰۰	۱۰/۰۰۰
	Hotelling's Trace	۲۴/۹۰۷	۸۳/۰۲۵ ^b	۳/۰۰۰	۱۰/۰۰۰
	Roy's Largest Root	۲۴/۹۰۷	۸۳/۰۲۵ ^b	۳/۰۰۰	۱۰/۰۰۰
زمان * گروه‌ها	Pillai's Trace	۱/۸۴۵	۶/۳۹۰	۹/۰۰۰	۳۶/۰۰۰
	Wilks' Lambda	/۰۰۳	۲۷/۲۴۱	۹/۰۰۰	۲۴/۴۸۸
	Hotelling's Trace	۵۴/۴۶۹	۵۲/۴۵۲	۹/۰۰۰	۲۶/۰۰۰
	Roy's Largest Root	۴۸/۶۱۸	۱۹۴/۴۷۴ ^c	۳/۰۰۰	۱۲/۰۰۰

میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($P < 0/05$).



گروه‌های مورد مطالعه

نمودار شماره ۲- نمودار مقایسه میانگین وزن موش‌های دیابتی در روزهای ۱، ۸، ۱۶ و ۲۴ بعد از شروع تیماردهی

میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($P < 0/05$).

بحث

با وجود این که گیاهان دارویی مدت زمان زیادی است که در درمان بیماری‌ها مصرف می‌شوند، اما در بیشتر موارد هنوز ترکیبات شیمیایی و اثرات فارماکولوژیکی آن‌ها ناشناخته است. مهم‌ترین ترکیبات فعال موجود در میوه‌ها، سبزیجات و گیاهان دارویی ترکیبات فنلی، نیتروژنی، ویتامین‌ها، تربنوییدها (کاروتنوئیدها و تری‌ترین‌ها) و آلکالوئیدها هستند که برخی از آن‌ها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشند. آنتی‌اکسیدان‌ها در زندگی انسان‌ها نقش مهم و اساسی ایفا می‌کنند؛ به طوری که مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها با کاهش خطر بیماری‌های قلبی، دیابت و دیگر بیماری‌های مرتبط با پیری مانند سرطان همراه است. بیشتر داروهای پایین آورنده قند خون در درازمدت عوارض جانبی دارند؛ بنابراین تحقیق جهت دستیابی به داروهای بی‌خطر و مؤثر برای درمان دیابت ضروری به نظر می‌رسد [۱۸]. در پژوهش حاضر، اثر سافرانال که از مواد مؤثره زعفران می‌باشد، در ایجاد بهبود پارامترهای اسپرمی در موش‌های صحرایی دیابتی مورد بررسی قرار گرفت. فاکتورهای دخیل در افزایش استرس‌های اکسایشی در بیماران مبتلا به دیابت شامل کاهش آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز است. در افراد سالم مقدار مالون‌دی‌آلدئید کمتر از افراد دیابتی می‌باشد و میزان آنتی‌اکسیدانی بیشتر از افراد دیابتی است [۱۹]. بر اساس نتایج به دست آمده، سافرانال با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توانست میانگین درصد آنتی‌اکسیدانت مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز را در مقایسه با گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش دهد؛ همچنین مقدار مالون‌دی‌آلدئید را به‌طور معنی‌داری کاهش داد ($P < 0.05$). از آن‌جا که موش‌های گروه تجربی درمان‌شده با سافرانال و گروه شاهد دیابتی همگی توسط STZ دیابتی شده‌اند؛ می‌توان بهبودی در پارامترهای کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و سطح بافتی شاخص Bcl2 در گروه تجربی تیمار شده با عصاره زعفران را به ترکیبات مؤثر در عصاره این گیاه نسبت داد. پزوهش‌ها ثابت کرده است که سافرانال دارای خواص آنتی‌اکسیدانی فراوان است و موجب افزایش سطح انسولین خون و کاهش سطح قند خون نمونه‌های دیابتی می‌شود. با این حال تاکنون هیچ‌گونه اثر مخربی از سافرانال بر بافت کبد و کلیه گزارش نشده است [۱۷]. افزایش سطح سرمی قند خون در مبتلایان به دیابت موجب افزایش سطح رادیکال‌های آزاد و در نتیجه افزایش استرس‌های اکسیداتیو سلولی می‌شود. با این حال، در بدن موجودات زنده سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیداتیو مانند سیستم‌های دفاع

آنتی‌اکسیداتیو پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز جهت جلوگیری از استرس‌های اکسیداتیو وجود دارد [۲۲-۱۹]. تاکنون پژوهش‌هایی در زمینه بررسی مواد مؤثره زعفران و آنتی‌اکسیدانی بر موش‌های دیابتی انجام شده است. به‌عنوان مثال در مطالعه‌ای که توسط سمرقندیان و همکاران انجام شد، نشان داده شد که سافرانال در موش‌های مبتلا به هایپرگلیسمی (Hyperglycemia) و هایپرلیپیدمی (Hyperlipidemia) موجب کاهش استرس‌های اکسیداتیو و کاهش رادیکال‌های هیدروکسیل می‌شود [۲۳]. در پژوهشی که توسط کیان‌بخت و همکاران در مورد اثر ضد افزایش قند خون گیاه زعفران انجام شد، نشان داده شد که مواد مؤثره زعفران (کروسین و سافرانال) در بازسازی سلول‌های بتا در موش‌های دیابتی مؤثر است؛ که این نتایج تأییدکننده خواص آنتی‌اکسیدانی زعفران می‌باشد [۱۷]. مطالعه بررسی دیابت در کانال‌های Heamomicrocircular بافت بیضه نشان داده است که دیابت موجب تخریب عمیق در کانال‌های Heamomicrocircular بافت بیضه و کاهش لومن مویرگی بعد از القای دیابت توسط استرپتوزوتوسین می‌شود [۲۴]. سمرقندیان و همکاران در مطالعه‌ای دیگر به بررسی تأثیر ماده مؤثره زعفران بر بافت ریه در موش‌های صحرایی دیابتی پرداختند که نتایج کار نشان‌دهنده اثر مثبت زعفران بر بهبود میزان آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و همچنین بهبود بافت ریه بود [۲۵]. در پژوهش انجام‌شده توسط Hasnan و همکاران ثابت شده است که میزان بیان پروتئین Bax در شبکه چشم افراد مبتلا به دیابت افزایش یافته، باعث آپوپتوز سلول‌ها می‌شود؛ ولی در بیماران تحت درمان با ماده مؤثره زعفران، میزان بیان Bax کاهش یافته، در مقابل برای سرکوب آپوپتوز در سلول‌ها، بیان پروتئین Bcl2 افزایش می‌یابد [۱۱]. جعفری انارکولی و همکاران در پژوهشی نشان دادند که دیابت موجب افزایش بیان پروتئین Bax و کاهش بیان Bcl2 در سطح mRNA هیپوکامپ موش‌های دیابتی می‌شود؛ نتایج این تحقیق نشان می‌دهد استفاده از اسید آسکوربیک و انسولین به‌تنهایی و به صورت ترکیبی می‌تواند از طریق افزایش میزان بیان پروتئین Bcl2 و کاهش میزان بیان پروتئین Bax، آپوپتوز را در هیپوکامپ موش‌های صحرایی دیابتی مهار کند [۱۴]. یافته‌های به دست آمده از انجام این پژوهش نیز ثابت کرد که سطح بافتی شاخص Bax و مقدار مالون‌دی‌آلدئید در گروه شاهد دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم دارای افزایش معنی‌داری می‌باشد؛ با این حال سطح بافتی شاخص Bcl2 و آنتی‌اکسیداتیو پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز کاهش معنی‌داری یافت. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که

اثر سافرانال بر آپوپتوز بافت بیضه در موش‌های دیابتی، ...

ارزیابی شده و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت سافرانال می‌توان نتیجه گرفت که اثربخشی سافرانال وابسته به غلظت می‌باشد؛ بنابراین استفاده از غلظت‌های بالاتر سافرانال جهت افزایش اثربخشی آن پیشنهاد می‌شود. از محدودیت‌های این پژوهش می‌توان به تأثیر عوامل مختلف فیزیولوژیکی و محیطی که بر سیستم‌های زنده حاکم است، اشاره نمود.

نتیجه‌گیری

سافرانال با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توانست شاخص سطح بافتی Bax را کاهش و شاخص‌های استرس اکسیداتیو، میزان سطح بافتی Bcl2 و همچنین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز را نسبت به گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش دهد و از این طریق موجب بهبود آسیب‌های القاشده توسط دیابت در بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی شود.

تشکر و قدردانی

از تمام اساتید محترمی که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

تیمار سافرانال با غلظت ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توانست میزان مالون‌دی‌آلدئید و سطح بافتی شاخص Bax را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد، ولی سطح بافتی شاخص Bcl2 و آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در گروه تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سافرانال افزایش معنی‌داری نسبت به گروه تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سافرانال نشان داد که دلیل آن اثر وابسته به غلظت سافرانال می‌باشد ($P < 0.05$). با توجه به نتایج حاصل می‌توان گفت افزایش معنی‌دار در سطح آنزیم‌های کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گروه تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سافرانال در مقایسه با گروه شاهد دیابتی به معنای اثرات مثبت سافرانال بر بافت بیضه موش‌های دیابتی می‌باشد. به دلیل آن‌که اثبات مکانیزم عمل ترکیبات مؤثر عصاره گیاه زعفران در بهبود پارامترهای اسپرمی و بافت بیضه در نمونه‌های دیابتی نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه دارد، پیشنهاد می‌شود بررسی‌های سیتولوژیکی بیشتری انجام شود. همچنین از آن‌جا که در انجام این پژوهش از سافرانال استفاده شد؛ می‌توان در مطالعات بعدی از اجزای دیگر عصاره زعفران استفاده نمود و با توجه به مشاهده اثرات مطلوب سافرانال بر شاخص‌های

References:

- [1] Butorabi R. The history of diabetes. *JSSU* 2002; 10(4): 3-6. [in Persian]
- [2] Rahbarian R, Sadooghi SD. Investigating the effects of aqueous extract of asafoetida resin on the serum level of insulin and blood glucose in type 1 diabetic rats. *JSKUM* 2014; 16 (3): 16-21. [in Persian]
- [3] Rami M, Habibi A, khajehlandi M. Effect of 6-weeks of endurance training on the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzymes in the hippocampus of experimental diabetic male wistar rats. *JSSU* 2018; 26(6): 483-94. [in Persian]
- [4] Ebadi SA, Rahimi Lenji E, Taghadosi M, Khorshidi A, Akbari H. Effect of garlic on blood sugar in patients with type 2 diabetes mellitus. *Feyz* 2007; 11(1): 20-5. [in Persian]
- [5] Hamzevi A, Sadoughi SD, Rahbarian R. The effect of aqueous extract of *Avicennia marina* (Forsk) vierh leaves. *Feyz* 2017; 21(4): 305-16. [in Persian]
- [6] Shahabodin ME, Pour Amir M, Moghadamnia A A, Rasaie M J, Parastoie K. Evaluating protective effect of grape seed suspension on glucose, insulin and serum total antioxidant levels after alloxan injection in rat. *Feyz* 2008; 12(2): 28-33. [in Persian]
- [7] Kiasalari Z, Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Abdolrazaghnezhad A. Involvement of Bax and Bcl2 in neuroprotective effect of curcumin in kainic acid induced model of temporal lobe epilepsy in male rat. *JAUMS* 2016; 16(1): 32-40. [in Persian]
- [8] Yang H, Jin X, Lam CWK, Yan SK. Oxidative stress and diabetes mellitus. *CCLM* 2011; 49(11): 1773-82.
- [9] Arikawe A, Daramola A, Odofoin A, Obika L. Alloxan-induced and insulin-resistant diabetes mellitus affect semen parameters and impair spermatogenesis in male rats. *AJRH* 2006; 10(3): 106-13.
- [10] Ricci G, Catizone A, Esposito R, Pisanti F, Vietri MT, Galdieri M. Diabetic rat testes morphological and functional alterations. *Andrologia* 2009; 41(6): 361-8.
- [11] Hasnan J, Yusoff M, Damitri T, Faridah A, Adenan A, Norbaini T. Relationship between apoptotic markers (Bax and Bcl-2) and biochemical markers in type 2 diabetes mellitus. *SMJ* 2010; 51(1): 50-5.
- [12] Podesta F, Romeo G, Liu WH, Krajewski S, Reed JC, Gerhardinger C, et al. Bax is increased in the retina of diabetic subjects and is associated with pericyte apoptosis in vivo and in vitro. *ASIP* 2000; 156(3): 1025-32.

- [13] Gurzov EN, Eizirik DL. Bcl-2 proteins in diabetes mitochondrial pathways of β -cell death and dysfunction. *Trends in cell biology* 2011; 21(7): 424-31.
- [14] Jafari Anarkooli I, Sankian M, Ahmadpour S, Haghiri H, Bonakdaran S, Varasteh A. The study of effects of insulin and ascorbic acid on Bcl-2 family expression in hippocampus of streptozotocin-induced diabetic rats. *Zums* 2007; 15(60): 1-16. [in Persian]
- [15] Amir Ghasemi T. Saffron, Iranian Red Gold. 5th ed. Ayandegan Publisher; 2001. P. 50-70. [in Persian]
- [16] Hosseinzadeh H, Modaghegh MH, Saffari Z. *Crocus sativus* L. (Saffron) extract and its active constituents (Crocine and safranal) on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle. *eCAM* 2009; 6(3): 343-50.
- [17] Kianbakht S, Hajiaghvae R. Anti-hyperglycemic effects of saffron and its active constituents, crocine and safranal, in alloxan-induced diabetic rats. *J Med Plants* 2011; 3(39): 82-89.
- [18] Nasirzadeh MR, Nourazar A, Khalili-Moghadam S, Mohammadiyani M. Effect of alcoholic extract of *Euphorbia cyparissias* on the brain antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Feyz* 2014; 18(3): 194-200. [in Persian]
- [19] Rahbarian R, Sepehri Moghadam H, Sadoughi SD. Effect of aqueous extract of *Launaea acanthodes* on open skin wound in diabetic rats. *HMS* 2016; 21(4): 221-31. [in Persian]
- [20] Ghojagh D, Deylam Katoli H, Habibi Nodeh M. Level of glutathione peroxidase activity and carbonyl and malondialdehyde levels in erythrocyte of diabetic rats. *HMS* 2013; 19(3): 179-83. [in Persian]
- [21] Rahbarian R, Sepehri Moghadam H, Sadoughi SD. Effect of aqueous extract of *Launaea acanthodes* on testicular tissue and sperm parameters in alloxan-induced diabetic rats. *HMS* 2015; 21(1): 21-9. [in Persian]
- [22] Darbandi N, Moghadasi S, Momeni HR. Comparing the acute and chronic effects of metformin on serum oxidative stress factors in streptozotocin-induced alzheimeric male rats. *JSSU* 2017; 25(3): 206-21. [in Persian]
- [23] Samarghandian S, Borji A, Delkosh MB, Samini F. Safranal treatment improves hyperglycemia, hyperlipidemia and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *GJPPS* 2013; 16(2): 352-62.
- [24] Kryvko Y, Mateshuk-Vatseba L, Savka I, Luszczewska-Sierakowska I, Wawrzyniak A, Radzikowska E, et al. Ultrastructural haemomicrocircular channel links of rat testicle in streptozotocin-induced diabetes. *JPCCR* 2014; 8(2): 86-9.
- [25] Samarghandian S, Afshari R, Sadati A. Evaluation of lung and bronchoalveolar lavage fluid oxidative stress indices for assessing the preventing effects of safranal on respiratory distress in diabetic rats. *Sci World J* 2014; 9(2): 1-6.