

اثر عصاره هیدروالکلی زعفران بر تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی مرتبط با کبد به دنبال مسمومیت ناشی از مصرف مزمن ویتامین A در موشهای صحرایی نر بالغ

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۰۲/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۱۹

چکیده

مختار مختاری^۱
مهرداد شریعتی^۱
درنا اژدری^۱
داوود مقدم نیا^{۲*}

زمینه و هدف: زعفران دارای اثر دارویی ضد تشنج، ضد افسردگی، ضد التهاب، ضد تومور و بهبود حافظه است. در این مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی زعفران بر تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی مرتبط با کبد به دنبال مسمومیت ناشی از مصرف مزمن ویتامین A در موشهای صحرایی نر بالغ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: برای این منظور ۴۸ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی 20 ± 200 گرم به ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل: هیچ تیمار دارویی دریافت نکردند، گروه شم: فقط حلال عصاره دریافت کرد، گروه‌های تجربی ۱: عصاره هیدروالکلی زعفران را به تنهایی به مقدار 50 mg/kg به مدت ۱۵ روز دریافت کرد. گروه تجربی ۲: ویتامین A به میزان 50000 IU به مدت ۱۵ روز دریافت کرد. گروه تجربی ۳ و ۴: ابتدا ویتامین A به میزان 80 mg/kg و 50000 IU به مدت ۱۵ روز دریافت کردند و سپس عصاره هیدروالکلی زعفران را به ترتیب با مقادیر 80 mg/kg و 50000 IU به مدت ۲۱ روز دریافت کردند. در پایان دوره آزمایش، وزن بدن حیوانات اندازه‌گیری شد و سپس نمونه‌های خونی از قلب تهیه شد و سطوح آلبومین، بیلی روبین و پروتئین تام اندازه‌گیری شدند. نتایج با استفاده از آنالیز آماری ANOVA و تست توکی مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: میانگین وزن بدن در گروه‌های دریافت کننده ویتامین A و عصاره هیدروالکلی زعفران با هم و به تنهایی نسبت به گروه کنترل و شم تغییر معنی داری نشان داد. میانگین سطح سرمی پروتئین تام و آلبومین در گروه تجربی ۲ دریافت کننده ویتامین A و گروه تجربی ۳ نسبت به گروه کنترل و شم کاهش معنی دار نشان داد. میانگین سطح سرمی پروتئین تام و آلبومین در گروه تجربی ۴ نسبت به گروه تجربی ۲ دریافت کننده ویتامین A افزایش معنی داری نشان داد. میانگین سطح سرمی بیلی روبین تام در گروه تجربی ۲ دریافت کننده ویتامین A و گروه تجربی ۳ نسبت به گروه کنترل و شم افزایش معنی دار نشان داد. میانگین سطح سرمی بیلی روبین تام در گروه تجربی ۴ نسبت به گروه تجربی ۲ دریافت کننده ویتامین A کاهش معنی داری نشان داد ($p < 0/05$)

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی زعفران بر تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی مرتبط با کبد به دنبال مسمومیت ناشی از مصرف مزمن ویتامین A در موشهای صحرایی نر بالغ اثر حفاظتی دارد.

کلمات کلیدی: زعفران، آلبومین، پروتئین تام، بیلی روبین، موش صحرایی نر بالغ

*نویسنده مسئول:

گروه زیست شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
تلفن: +۹۸۹۱۷۳۸۷۴۵۰۳
ایمیل: davood.moghadammia@gmail.com

مقدمه

ویتامین A یک ترکیب محلول در چربی از خانواده اسید رتینوئیک است که عمدتاً در سلول‌های ستاره‌ای کبدی ذخیره می‌شود و برای بینایی طبیعی، سیستم ایمنی و تولید مثل مهم است. این ویتامین به طور طبیعی در گیاهان و حیوانات نیز وجود دارد.^۱

سمیت ویتامین A، که به عنوان هیپرویتامینوز A نیز شناخته می‌شود، به دلیل بلع مزمن مقادیر زیادی از فرم مصنوعی آن است.^۲ مسمومیت مزمن با ویتامین A می‌تواند با علائم پوستی، اسکلتی و عصبی همراه باشد. همچنین می‌تواند منجر به آسیب کبدی شود. گزارش شده است که یک بار مصرف بیش از ۵۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A باعث افزایش فشار خون پورتال می‌شود.^۳ سمیت با ویتامین A می‌تواند باعث تغییرات عصبی-روانی گردد و اثرات روانپزشکی، از جمله افسردگی و روان پریشی ایجاد کند.^۴

هایپرویتامینوز A باعث آسیب سلول‌های کبدی، نکروز، هایپرپلازی سلول‌های ستاره‌ای و متعاقب آن فیروز می‌شود که منجر به زخم‌های پری سینوزوئیدی، پری سانتری لوبولار و اطراف پورتال می‌شود که باعث اتساع و انسداد سینوسی می‌شود. علاوه بر این در موارد نادر کلتاز داخل کبدی نیز گزارش شده است.^۵

هایپرویتامینوز A می‌تواند متابولیسم هورمون‌های تنظیم کننده کلسیم را تغییر دهد.^۶ داده‌های حیوانی، انسانی و آزمایشگاهی همگی نشان می‌دهند که ویتامین A اضافی باعث تحریک تحلیل و مهار تشکیل استخوان می‌شود. انتظار می‌رود این ترکیب باعث از دست دادن استخوان و ایجاد پوکی استخوان شود و ممکن است با مصرف نسبتاً کم ویتامین A رخ دهد.^۷

Crocus sativus L معمولاً با نام زعفران شناخته می‌شود و اجزای فعال آن دارای چندین اثر دارویی مفید مانند ضد تشنج، ضد التهاب، اثرات جاذب رادیکال، بهبود یادگیری و حافظه و غیره است. کارآزمایی‌های بالینی روی اثر ضد آلزایمر زعفران نشان داد که زعفران مؤثرتر از دارونما بوده و به اندازه دونپزیل مؤثر است.^۸ اثرات ضد خارش و حفاظتی بر پوست زعفران کارآمدتر از دارونما بود.^۹ در یک کارآزمایی بالینی دیگر، ثابت شد که زعفران علاوه بر درمان کاهش وزن، می‌تواند دفعات استفاده از میان وعده غذایی را کاهش دهد. کارآزمایی‌های بالینی انجام شده بر روی زنان مبتلا به سندرم پیش از قاعدگی نشان داد که زعفران می‌تواند علائم رنج را بیشتر از دارونما و مشابه درمان‌های استاندارد کاهش دهد.^{۱۰}

زعفران همراه با تمرینات مقاومتی باعث کاهش فشار خون در مردان سالمند مبتلا به فشار خون شد.^۹ زعفران و فلاونوئید گلبرگ آن، کامفرول، اثرات درمانی نسبتاً قوی بر اختلالات تنفسی با شل کردن عضلات صاف تراشه از طریق اثرات محرک یا مسدودکننده بر گیرنده‌های β -آدرنرژیک و گیرنده‌های موسکارینی نشان دادند.^{۱۱} زعفران و کامفرول همچنین تولید نیتریک اکسید، سیتوکین‌های التهابی و کموکاین‌ها را در سیستم تنفسی کاهش دادند.^{۱۲} درمان با زعفران سمیت کلیوی القا شده توسط جنتامایسین را کاهش می‌دهد و به نظر می‌رسد این اثر وابسته به دوز باشد.^{۱۱} زعفران دارای خواص ضد توموری قوی است و یک درمان موثر و ایمن است.^{۱۳} زعفران و ترکیبات فعال آن به عنوان یک عامل محافظ قلب و عروق می‌باشد. زعفران اثرات مفیدی را در برابر آسیب ایسکمی-پرفیورژن مجدد، فشار خون بالا، چربی خون بالا و دیابت نشان می‌دهد.^{۱۳} تحقیقات انجام شده تاکنون پشتیبانی اولیه از استفاده از زعفران برای درمان افسردگی خفیف تا متوسط را فراهم می‌کند.^{۱۴} اثرات ضد سرطانی امیدوارکننده و انتخابی اجزای فعال دارویی زعفران در مطالعات بالینی *in vitro* و *in vivo* نشان داده شده است. زعفران و اجزای فعال آن از جمله کروسین و کروسیتین اثرات ضد سرطانی خود را از طریق مکانیسم‌های مختلفی از جمله القای آپوپتوز، تأثیر بر چرخه سلولی و تنظیم پاسخ ایمنی میزبان و فعالیت‌های ضد التهابی اعمال می‌کنند. زعفران در درمان سرطان‌های دستگاه گوارش موثر است.^{۱۵}

با توجه به عوارض مصرف طولانی مدت داروهای شیمیایی بویژه در درمان اختلالات کبدی در این تحقیق به بررسی عصاره هیدروالکلی زعفران بر تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی مرتبط با کبد به دنبال مسمومیت ناشی از مصرف مزمن ویتامین A در موشهای صحرایی نر بالغ پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی عصاره هیدروالکلی زعفران

گلبرگ‌های زعفران تهیه گردیدند و به دور از نور و رطوبت خشک شدند. سپس ۵۰۰ گرم زعفران درون ظرف دستگاه پركولاسیون ریخته شد. سپس به مخلوط موجود هیدروالکل ۷۰ درصد اضافه گردید به اندازه‌ای که سطح هیدروالکل چند سانتی متر بالاتر از سطح پودر باشد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. بعد از گذشت ۷۲ ساعت، شیر دستگاه پركولاتور را باز کرده و قطره قطره عصاره را جمع آوری نموده و

رنگ لاجوردی را سبب می‌شوند و شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار توتال پروتئین در نمونه می‌باشد.^{۱۸}

اندازه‌گیری آلومین

برای اندازه‌گیری آلومین از روش سبز برم کرزول استفاده گردید که در این آزمایش آلومین با برم کرزول یک کمپلکس رنگی ایجاد می‌کند. شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار آلومین در نمونه می‌باشد.^{۱۸}

اندازه‌گیری بیلی روبین

برای اندازه‌گیری بیلی روبین معرف دی آزو (مخاوط نیتريت سدیم و اسید سولفانیلک) با بیلی روبین واکنش داده و ایجاد رنگ آزو را می‌کند که در PH قلیایی قرمز رنگ است. بیلی روبین مستقیم پس از ایجاد به رنگ صورتی در می‌آید ولی بیلی روبین تام با افزودن محلول تسریع کننده و در PH قلیایی سبز رنگ می‌گردد.^{۱۸}

فاکتورهای بیوشیمیایی خون شامل آلومین، بیلی روبین و پروتئین تام با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Technicon RA-1000) اندازه‌گیری شدند.

آنالیز آماری

داده‌ها با استفاده از برنامه SPSS 18، آزمون آماری ANOVA و تست آماری تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل شدند. مرز استنتاج آماری برای بررسی اختلاف معنی دار میانگین بین گروه‌های تجربی با گروه کنترل و شم سطح $P \leq 0/05$ بوده است. نتایج براساس $(X \pm SD)$ گزارش شده است. در این پژوهش نتایج بدست آمده از آزمایشات انجام شده به همراه محاسبات آماری مربوطه در قالب جداول آورده شده اند.

یافته‌ها

تاثیر عصاره هیدروالکلی زعفران بر وزن بدن

میانگین وزن بدن در گروه تجربی ۲ دریافت کننده ویتامین A در مقایسه با گروه کنترل و شم تغییر معنی داری نشان نداد. همچنین، میانگین وزن بدن در تمام گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل و شم تغییر معنی داری نشان نداد.

تاثیر عصاره هیدروالکلی زعفران بر سطح سرمی پروتئین تام

میانگین سطح سرمی پروتئین تام در گروه تجربی ۲ دریافت کننده ویتامین A نسبت به گروه کنترل و شم کاهش معنی دار نشان داد. همچنین،

همزمان از بالا بوسیله قیف جدا کننده قطره قطره محلول هیدروالکل اضافه شد تا زمانی که عصاره به دست آمده دیگر رنگی از گیاه نداشته باشد. آنگاه عصاره به دست آمده را به وسیله دستگاه روتاری یا بن ماری در حرارت ۴۰-۵۰ درجه سلسیوس تغلیظ کرده، در ادامه برای آنکه عصاره کاملاً خشک گردد، به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه دسیکاتور قرار داده شد.^{۱۶}

حیوانات

در این مطالعه تجربی از ۴۸ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی 220 ± 20 گرم و سن ۲/۵ تا ۳ ماه استفاده شد. حیوانات بطور تصادفی تا زمان انجام آزمایش در قفس‌های استاندارد و تحت شرایط یکسان با دمای ۲۰-۲۲ درجه سانتیگراد و با چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. آب و غذای کافی در اختیار آنها قرار گرفت و کلیه ملاحظات اخلاقی در مورد حیوانات رعایت شد.

تیمار حیوانات

در این مطالعه تجربی حیوانات به ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شدند که عبارتند از: گروه کنترل: حیوانات این گروه تحت تاثیر هیچگونه تیمار دارویی قرار نگرفتند. گروه شم: حیوانات این گروه ۰/۱۵ سی سی آب مقطر و ۰/۵ سی سی اتانول (به عنوان حلال دارو) به مدت ۱۵ روز بصورت دهانی دریافت کردند.

گروه تجربی ۱: عصاره هیدروالکلی زعفران را به تنهایی به مقدار ۵۰ mg/kg به مدت ۱۵ روز بصورت دهانی دریافت کرد. گروه تجربی ۲: ویتامین A به میزان ۵۰۰۰۰ IU به مدت ۱۵ روز بصورت دهانی دریافت کرد. گروه تجربی ۳ و ۴: ابتدا ویتامین A به میزان ۵۰۰۰۰ IU به مدت ۱۵ روز بصورت دهانی دریافت کردند و سپس عصاره هیدروالکلی زعفران را به ترتیب با مقادیر ۸۰ و ۵۰ mg/kg به مدت ۲۱ روز بصورت دهانی دریافت کردند. پس از پایان یافتن دوره تیمار حیوانات تحت تاثیر بیهوشی با کلروفورم قرار گرفتند. خونگیری از بطن چپ قلب به عمل آمد. نمونه‌های خونی بدست آمده به مدت ۲۰ دقیقه در شرایط آزمایشگاهی نگه داری شدند و به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۲۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس سرم هر لوله جمع آوری شد.^{۱۷}

اندازه‌گیری پروتئین تام

برای اندازه‌گیری پروتئین تام از روش بیوره استفاده گردید که در این آزمایش پروتئین‌ها در محیط قلیایی با یون‌های مس و تارتارات تشکیل

افزایش معنی داری نشان داد. میانگین سطح سرمی بیلی روبین تام در گروه تجربی ۴ نسبت به گروه تجربی ۲ دریافت کننده ویتامین A کاهش معنی داری نشان داد ($P < 0/05$) (جدول ۱)

بحث

طبق نتایج به دست آمده میانگین سطح سرمی پروتئین تام و آلبومین در گروه تجربی ۴ نسبت به گروه تجربی ۲ دریافت کننده ویتامین A افزایش معنی داری نشان داد. میانگین سطح سرمی بیلی روبین تام در گروه تجربی ۲ دریافت کننده ویتامین A نسبت به گروه کنترل و شم کاهش معنی داری نشان داد که این نتایج نشان دهنده اثر حفاظتی عصاره هیدروآلکلی زعفران در مقادیر 80 mg/kg می باشد که تا حدودی مسمومیت ناشی از دریافت مزمن ویتامین A را اصلاح کرده است. نتایج این تحقیق با یافته های مطالعات گذشته همخوانی دارد.

همسو با نتایج تحقیق ما در مطالعه Hoshyar و همکاران در سال ۲۰۲۰ مشخص گردید که زعفران می تواند به طور موثری سمیت کبدی

میانگین سطح سرمی پروتئین تام در گروه تجربی ۳ نسبت به گروه کنترل و شم کاهش معنی دار نشان داد. علاوه براین، میانگین سطح سرمی پروتئین تام در گروه تجربی ۴ نسبت به گروه تجربی ۲ دریافت کننده ویتامین A افزایش معنی داری نشان داد ($P < 0/05$) (جدول ۱)

تأثیر عصاره هیدروآلکلی زعفران بر سطح سرمی آلبومین

میانگین سطح سرمی آلبومین در گروه تجربی ۲ دریافت کننده ویتامین A نسبت به گروه کنترل و شم کاهش معنی دار نشان داد. میانگین سطح سرمی آلبومین در گروه تجربی ۳ نسبت به گروه کنترل و شم کاهش معنی دار نشان داد. میانگین سطح سرمی آلبومین در گروه تجربی ۴ نسبت به گروه تجربی ۲ دریافت کننده ویتامین A افزایش معنی داری نشان داد ($P < 0/05$) (جدول ۱)

میانگین سطح سرمی بیلی روبین تام در گروه تجربی ۲ دریافت کننده ویتامین A نسبت به گروه کنترل و شم افزایش معنی دار نشان داد. میانگین سطح سرمی بیلی روبین تام در گروه تجربی ۳ نسبت به گروه کنترل و شم

جدول ۱- مقایسه میانگین وزن بدن، پروتئین تام، آلبومین و بیلی روبین تام به دنبال دریافت ویتامین A و عصاره هیدروآلکلی زعفران با مقادیر مختلف در گروه های تجربی با گروه های کنترل و شم

گروه های مختلف	تعداد نمونه ها	وزن بدن (g)	پروتئین تام (U/I)	آلبومین (U/I)	بیلی روبین تام (U/I)
		(X ± SD)	(X ± SD)	(X ± SD)	(X ± SD)
کنترل	N=8	308 ± 36/28	7/77 ± 0/072	4/29 ± 0/23	0/8 ± 0/007
شم	N=8	299 ± 25/13	7/75 ± 0/073	4/25 ± 0/19	0/8 ± 0/012
تجربی ۱ (50 mg/kg زعفران)	N=8	282 ± 32/86	7/72 ± 0/09	4/30 ± 0/2	0/79 ± 0/099
تجربی ۲ (5000 IU ویتامین A)	N=8	263 ± 35/57	5/53 ± 0/995 ^a	2/95 ± 0/29 ^a	1/45 ± 0/057 ^a
تجربی ۳ (50 mg/kg + A ویتامین 5000 IU زعفران)	N=8	293 ± 35/33	6/03 ± 0/201 ^a	2/90 ± 0/28 ^a	1/05 ± 0/063 ^a
تجربی ۴ (80 mg/kg + A ویتامین 5000 IU زعفران)	N=8	292 ± 26/97	7/59 ± 0/943 ^b	4/48 ± 0/23 ^b	0/84 ± 0/192 ^b

علامت a نشانه اختلاف معنی دار با گروه کنترل است. علامت b نشانه اختلاف معنی دار با گروه تجربی ۲ (دریافت کننده ویتامین A) است.

سمیت کبدی القا شده توسط دیازینون را کاهش دهد. کروسین فعال شدن کاسپازها و نسبت Bax/Bcl-2 را کاهش داد.^{۲۴} نتایج این مطالعه با تحقیق ما همخوانی دارد.

مطابق با نتایج پژوهش ما یافته‌ها نشان داده اند که کروسین استخراج شده از زعفران دارای اثرات محافظتی کبدی در برابر سمیت کبدی القا شده توسط بیسفنول A با تقویت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی و تنظیم فعالیت‌های مهم مسیر سیگنالینگ و بیان miR-122 در موش‌های صحرایی است.^{۲۵} همچنین، عصاره زعفران حاوی پلی فنل می‌باشد که استرس اکسیداتیو و پاسخ التهابی را در برابر آسیب کبدی القا شده توسط داروهای ضد سل تعدیل می‌کند.^{۲۶} علاوه بر این، مطالعات نشان داده اند که زعفران و بخش فعال آن کروسین می‌تواند از آسیب اکسیداتیو کبدی القا شده توسط نانو ذرات مس جلوگیری کند.^{۲۷}

تحقیقات Chhimwal و همکاران در سال ۲۰۲۰ نشان داد که کروسین استخراج شده از زعفران رویدادهای مختلف در پیشرفت فیروز کبدی القا شده توسط تراکلرید کربن را از طریق اصلاح مسیرهای التهابی و فیروژنیک با واسطه PPAR- γ در موش‌های صحرایی کاهش داد.^{۲۸} همچنین مطالعات نشان دادند، درمان با کروسین آسیب کبدی القا شده توسط آکریل آمید را به دلیل خواص آنتی اکسیدانی قوی اش اصلاح کرد. پس از درمان با کروسین، مشاهده شد که سطوح گلوکوتاتیون (GSH) و وضعیت آنتی اکسیدانی تام (TAS) افزایش یافت در حالی که فعالیت‌های ALT، AST، ALP، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) و سطوح MDA و TOS کاهش یافت. پس از درمان با کروسین کاهش قابل توجهی در ارتشاح سلول‌های التهابی و احتقان عروقی در بخش‌های کبدی و واکنش‌های سیئون داخل سیتوپلاسمی در سلول‌های کبدی مشاهده شد، در حالی که هیچ نکروز و خونریزی کبدی مشاهده نشد.^{۲۹}

همسو با نتایج مطالعه ما تحقیقات نشان دادند که عصاره زعفران و مکمل‌های کروسین اثر محافظتی کبدی در برابر بیماری کبد چرب غیر الکلی و آسیب کبدی القا شده توسط رژیم غذایی پرچرب (HFD) در موش‌های صحرایی چاق دارند.^{۳۰} علاوه بر این، کروسین بر سمیت کبدی آفلاتوکسین در موش‌های صحرایی اثر محافظتی دارد که ممکن است به دلیل مکانیسم‌های دفاعی بافت‌های کبدی باشد که باعث افزایش گلوکوتاتیون سیتوزول و فعالیت‌های گلوکوتاتیون اس ترانسفراز و گلوکوتاتیون پراکسیداز می‌شود.^{۳۱} همچنین، مطالعات نشان داده اند که کروسین استخراج شده

القا شده توسط متوترکسات را در موش صحرایی کاهش دهد. نتایج این مطالعه نشان داد که متوترکسات به طور قابل توجهی سطوح پلاسمایی ALT، AST، ALP و لاکتات دهیدروژناز (LDH) و مالون دی آلدئید (MDA) و نیتریک اکساید (NO) کبدی را افزایش داد در حالی که، کاهش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) مشاهده گردید. تجویز عصاره زعفران می‌تواند افزایش آنزیم‌های کبدی، تنش‌های اکسیداتیو/نیتروژاتیو و تغییرات مورفولوژیکی کبد را بهبود بخشد.^{۱۹}

مطابق با نتایج پژوهش ما در مطالعه Rezaee-Khorasany و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان داد که عصاره آبی زعفران می‌تواند اثرات محافظتی در برابر سمیت اتانول در کبد موش صحرایی از طریق اثرات آنتی اکسیدانی، ضد آپوپتوز و ضد التهابی داشته باشد.^{۲۰}

همچنین، در مطالعه Shati و همکاران در سال ۲۰۱۰ مشخص گردید که استفاده از زعفران و غسل اثر مخرب کلرید آلومینیوم در کبد را بوسیله اصلاح اثرات مضر بر سطوح بیوشیمیایی و مولکولی در کبد به حداقل می‌رساند.^{۲۱}

علاوه بر این، در مطالعه Omidi و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان داده شد که دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم گلبرگ زعفران آسیب حاد کبدی القا شده توسط استامینوفن را در موش‌های صحرایی بهبود می‌بخشد. خاصیت آنتی اکسیدانی گلبرگ زعفران منجر به کاهش عوارض استرس اکسیداتیو سطوح سمی استامینوفن در موش‌های صحرایی مسموم شد. در این مطالعه درمان استامینوفن منجر به افزایش سطوح آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و بیلی روبین، همراه با کاهش غلظت پروتئین تام و آلبومین نسبت به گروه کنترل شد. تجویز گلبرگ زعفران با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم منجر به کاهش سطوح ALT، AST و بیلی روبین، همراه با افزایش غلظت پروتئین تام و آلبومین شد.^{۲۲} نتایج این مطالعه با تحقیق ما همخوانی دارد.

همچنین، در مطالعه Jamshidi و همکاران در سال ۲۰۲۱ مشخص گردید که افزایش گیرنده‌های کبدی فارنوتید X فعال شده (FXR) نقش مهمی در فعالیت محافظتی کبدی زعفران بر علیه سمیت کبدی القا شده توسط استامینوفن دارد.^{۲۳}

علاوه بر این، در مطالعه Lari و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان داده شد که در معرض قرار گرفتن حاد با دیازینون باعث آپوپتوز القا شده توسط استرس اکسیداتیو شد و کروسین استخراج شده از زعفران ممکن است

منابع

1. Russell R, Beard JL, Cousins RJ, Dunn JT, Ferland G, Hambidge K, Lynch S, Penland J, Ross AC, Stoecker B, Suttie JW. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. A Report of the Panel on Micronutrients, Subcommittees on Upper Reference Levels of Nutrients and of Interpretation and Uses of Dietary Reference Intakes, and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes Food and Nutrition Board Institute of Medicine 2001:797.
2. Biesalski HK. Comparative assessment of the toxicology of vitamin A and retinoids in man. *Toxicology* 1989 Jul 17;57(2):117-61.
3. Dubois A, Balducchi JP, Barbuat C, Fabre J, Flaisler F, Joujoux JM, Pignodel C, Jourdan J, Fourcade J. Hypertension portale et hypervitaminose A. A propos de deux cas et revue de la littérature [Portal hypertension and hypervitaminosis A. Apropos of 2 cases and review of the literature]. *Rev Med Interne*. 1991 Jul-Aug;12(4):295-8.
4. Oliveira MR. The neurotoxic effects of vitamin A and retinoids. *An Acad Bras Cienc*. 2015 Aug;87(2 Suppl):1361-73.
5. García-Muñoz P, Bernal-Bellido C, Marchal-Santiago A, Cepeda-Franco C, Álamo-Martinez JM, Marín-Gómez LM, Suárez-Artacho G, Castillo-Tuñón JM, Navarro-Morales L, Padillo-Ruiz FJ, Gómez-Bravo MA. Liver Cirrhosis From Chronic Hypervitaminosis A Resulting in Liver Transplantation: A Case Report. In *Transplantation Proceedings* 2019 Jan 1 (Vol. 51, No. 1, pp. 90-91). Elsevier.
6. Frankel TL, Seshadri MS, McDowall DB, Cornish CJ. Hypervitaminosis A and calcium-regulating hormones in the rat. *The Journal of nutrition* 1986 Apr 1;116(4):578-87.
7. Binkley N, Krueger D. Hypervitaminosis A and

از زعفران اثر محافظتی در برابر آسیب اکسیداتیو در سلول‌های کبدی اولیه موش صحرایی دارد.^{۳۳} به نظرمی رسد که یافته‌های مطالعه حاضر با تحقیقات گذشته همخوانی داشته باشد.

به نظر می‌رسد تجویز دهانی عصاره هیدروالکلی زعفران از طریق خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دارا بودن ترکیباتی مانند کروسین و کروسیتین دارای اثرات محافظتی بر تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی مرتبط با کبد به دنبال مسمومیت ناشی از مصرف مزمن ویتامین A در موشهای صحرایی نر باشد. با این وجود تحقیقات بیشتری برای شناسایی و جداسازی ترکیبات فعال در عصاره زعفران ضروری می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تجویز دهانی عصاره هیدروالکلی زعفران دارای اثرات محافظتی بر تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی (از جمله آلبومین، پروتئین تام و بیلی روبین تام) مرتبط با کبد به دنبال مسمومیت ناشی از مصرف مزمن ویتامین A در موشهای صحرایی نر می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله لازم می‌دانند مراتب تشکر خود را از همکاری صمیمانه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد کازرون به عمل آورند.

- bone. *Nutrition Reviews* 2000 May 1;58(5):138-44.
8. Moshiri M, Vahabzadeh M, Hosseinzadeh H. Clinical applications of saffron (*Crocus sativus*) and its constituents: a review. *Drug research* 2015 Jun;65(06):287-95.
 9. Hooshmand-Moghadam B, Eskandari M, Shabkhiz F, Mojtahedi S, Mahmoudi N. Saffron (*Crocus sativus* L.) in combination with resistance training reduced blood pressure in the elderly hypertensive men: A randomized controlled trial. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2021 Aug;87(8):3255-67.
 10. Kianmehr M, Khazdair MR. Possible therapeutic effects of *Crocus sativus* stigma and its petal flavonoid, kaempferol, on respiratory disorders. *Pharmaceutical Biology* 2020 Jan 1;58(1):1149-58.
 11. Ajami M, Eghtesadi S, Pazoki-Toroudi H, Habibey R, Ebrahimi SA. Effect of crocus sativus on gentamicin induced nephrotoxicity. *Biological research* 2010;43(1):83-90.
 12. Khorasanchi Z, Shafiee M, Kermanshahi F, Khazaei M, Ryzhikov M, Parizadeh MR, Kermanshahi B, Ferns GA, Avan A, Hassanian SM. *Crocus sativus* a natural food coloring and flavoring has potent anti-tumor properties. *Phytomedicine* 2018 Apr 1;43:21-7.
 13. Hatziagapiou K, Lambrou GI. The protective role of *Crocus sativus* L.(Saffron) against ischemia-reperfusion injury, hyperlipidemia and atherosclerosis: nature opposing cardiovascular diseases. *Current Cardiology Reviews* 2018 Oct 1;14(4):272-89.
 14. Loprešti AL, Drummond PD. Saffron (*Crocus sativus*) for depression: a systematic review of clinical studies and examination of underlying antidepressant mechanisms of action. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental* 2014 Nov;29(6):517-27
 15. Naeimi M, Shafiee M, Kermanshahi F, Khorasanchi Z, Khazaei M, Ryzhikov M, Avan A, Gorji N, Hassanian SM. Saffron (*Crocus sativus*) in the treatment of gastrointestinal cancers: Current findings and potential mechanisms of action. *J Cell Biochem.* 2019 Oct;120(10):16330-16339.
 16. Mohebbati R, Kamkar-Del Y, Shafei MN, Rakhshandeh H, Aghaei A. Effects of hydroalcoholic extract of saffron petal on blood pressure and heart rate in hypertension induced by angiotensin II and L-NAME in anesthetized rats. *Vet Res Forum* 2021 Spring;12(2):185-190.
 17. Mostafavi-Pour Z, Zal F, Monabati A, Vessal M. Protective effects of a combination of quercetin and vitamin E against cyclosporine A-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. *Hepatology Research* 2008 Apr;38(4):385-92.
 18. Al-Attar AM. Attenuating effect of Ginkgo biloba leaves extract on liver fibrosis induced by thioacetamide in mice. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2012 Oct 2;2012.
 19. Hoshyar R, Sebzari A, Balforoush M, Valavi M, Hosseini M. The impact of *Crocus sativus* stigma against methotrexate-induced liver toxicity in rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine* 2020 Jun 1;17(2).
 20. Rezaee-Khorasany A, Razavi BM, Taghiabadi E, Yazdi AT, Hosseinzadeh H. Effect of saffron (stigma of *Crocus sativus* L.) aqueous extract on ethanol toxicity in rats: A biochemical, histopathological and molecular study. *Journal of ethnopharmacology* 2019 Jun 12;237:286-99
 21. Shati AA, Alamri SA. Role of saffron (*Crocus sativus* L.) and honey syrup on aluminum-induced hepatotoxicity. *Saudi Med J.* 2010 Oct 1;31(10):1106-13.
 22. Omidi A, Riahinia N, Torbati MB, Behdani MA. Hepatoprotective effect of *Crocus sativus* (saffron) petals extract against acetaminophen toxicity in male Wistar rats. *Avicenna journal of phytomedicine* 2014 Sep;4(5):330.
 23. Jamshidi V, Hashemi SA, Khalili A, Fallah P, Ahmadian-Attari MM, Beikzadeh L, Mazloom R, Najafzadeh P, Bayat G. Saffron offers

- hepatoprotection via up-regulation of hepatic farnesoid-X-activated receptors in a rat model of acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Avicenna Journal of Phytomedicine* 2021 Nov;11(6):622.
24. Lari P, Abnous K, Imenshahidi M, Rashedinia M, Razavi M, Hosseinzadeh H. Evaluation of diazinon-induced hepatotoxicity and protective effects of crocin. *Toxicology and industrial health* 2015 Apr;31(4):367-76.
 25. Hassani FV, Mehri S, Abnous K, Birner-Gruenberger R, Hosseinzadeh H. Protective effect of crocin on BPA-induced liver toxicity in rats through inhibition of oxidative stress and downregulation of MAPK and MAPKAP signaling pathway and miRNA-122 expression. *Food and Chemical Toxicology* 2017 Sep 1;107:395-405.
 26. Wali AF, Pillai JR, Al Dhaheri Y, Rehman MU, Shoaib A, Sarheed O, Jabnoun S, Razmpoor M, Rasool S, Paray BA, Ahmad P. *Crocus sativus* L. extract containing polyphenols modulates oxidative stress and inflammatory response against anti-tuberculosis drugs-induced liver injury. *Plants* 2020 Feb;9(2):167.
 27. Attia AA, Ramdan HS, Al-Eisa RA, Adle Fadle BO, El-Shenawy NS. Effect of Saffron Extract on the Hepatotoxicity Induced by Copper Nanoparticles in Male Mice. *Molecules* 2021 Jan;26(10):3045.
 28. Chhimwal J, Sharma S, Kulurkar P, Patial V. Crocin attenuates CCl4-induced liver fibrosis via PPAR- γ mediated modulation of inflammation and fibrogenesis in rats. *Human & Experimental Toxicology* 2020 Dec;39(12):1639-49.
 29. Gedik S, Erdemli ME, Gul M, Yigitcan B, Bag HG, Aksungur Z, Altinoz E. Hepatoprotective effects of crocin on biochemical and histopathological alterations following acrylamide-induced liver injury in Wistar rats. *Biomedicine & pharmacotherapy* 2017 Nov 1;95:764-70.
 30. Mashmoul M, Azlan A, Mohtarrudin N, Mohd Yusof BN, Khaza' ai H, Khoo HE, Farzadnia M, Boroushaki MT. Protective effects of saffron extract and crocin supplementation on fatty liver tissue of high-fat diet-induced obese rats. *BMC complementary and alternative medicine* 2016 Dec;16(1):1-7.
 31. Wang CJ, Shioh SJ, Lin JK. Effects of crocetin on the hepatotoxicity and hepatic DNA binding of aflatoxin B1 in rats. *Carcinogenesis* 1991 Mar 1;12(3):459-62.
 32. Tseng TH, Chu CY, Huang JM, Shioh SJ, Wang CJ. Crocetin protects against oxidative damage in rat primary hepatocytes. *Cancer letters* 1995 Oct 20;97(1):61-7.

The effect of saffron hydroalcoholic extract on changes in liver-related biochemical factors following chronic vitamin A intoxication in adult male rats

Received: 13 May 2022 ; Accepted: 10 Dec 2023

Mokhtar Mokhtari ¹
Mehrdad Shariati ¹
Dorna Ajdari ¹
Davood Moghadamnia ^{2 *}

1- Department of Biology, Kazerun
Branch, Islamic Azad University,
Kazerun, Iran

2- Department of Biology, Shiraz Branch,
Islamic Azad University, Shiraz, Iran

*Corresponding Author:

Department of Biology, Shiraz Branch,
Islamic Azad University, Shiraz, Iran
Tel: +989173874503
E-mail: davood.moghadamnia@gmail.com

Abstract

Background: Saffron has anti-seizure, anti-depressant, anti-inflammatory, anti-tumor and memory improvement drugs. In this study, the effect of saffron hydroalcoholic extract on changes in liver-related biochemical factors following chronic vitamin A intoxication in adult male rats was investigated.

Methods: For this purpose, 48 adult male Wistar rats weighing approximately 200±20 g were divided into 6 groups of 8. Control group: did not receive any drug treatment, sham group: received only solvent extract, experimental groups 1: Hydroalcoholic extract of saffron alone received 50 mg / kg for 15 days. Experimental group 2: Vitamin A received 50,000 IU for 15 days. Experimental groups 3 and 4: First, they received 50,000 IU of vitamin A for 15 days and then received saffron hydroalcoholic extract at 50 and 80 mg / kg, respectively, for 21 days. At the end of the experiment, the body weight of the animals was measured. Blood samples were taken from the heart and albumin, bilirubin and total protein levels were measured. The results were analyzed using ANOVA and Tukey test.

Results: The mean body weight in the groups receiving vitamin A and saffron hydroalcoholic extract together and alone did not show a significant change compared to the control and sham groups. Mean serum levels of total protein and albumin in experimental group 2 receiving vitamin A and experimental group 3 showed a significant decrease compared to control and control groups. The mean serum levels of total protein and albumin in experimental group 4 showed a significant increase compared to experimental group 2 receiving vitamin A. The mean serum level of total bilirubin in experimental group 2 receiving vitamin A and experimental group 3 showed a significant increase compared to the control and sham groups. The mean serum level of total bilirubin in experimental group 4 showed a significant decrease compared to experimental group 2 receiving vitamin A (P < 0.05).

Conclusion: Saffron hydroalcoholic extract has a protective effect on changes in liver-related biochemical factors following chronic vitamin A poisoning in adult male rats.

Keywords: Saffron, Albumin, Total protein, Bilirubin, Adult male rat