مقاله پژوهشی

# اثر عصاره آبی-الکلی زعفران (Crocus sativus L) بر میزان آنزیم‌های کبدی (ALT,AST,ALP) به دنبال مسمومیت ناشی از مصرف ویتامین A در موش صحرایی نر


***مختار مختاری[1]، مهرداد شریعتی[2]، درنا اژدری[3]***

[1] دانشیار فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، گروه زیست شناسی، کازرون، ایران

[2] دانشیار زیست شناسی تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، گروه زیست شناسی، کازرون، ایران

[3] کارشناس ارشد علوم جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، گروه زیست شناسی، کازرون، ایران

**نشانی نویسنده مسئول:** کازرون، کیلومتر پنج جاده کازرون – شیراز، ساختمان شماره ۳، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، گروه زیست‌شناسی، دکتر مختار مختاری

E-mail: Mokhtar_Mokhtary@Yahoo.Com



**وصول: ۹۱/۷/۳، اصلاح:۹۱/۹/۸ ، پذیرش:۹۱/۱۱/۱۸**



## چکیده

**زمینه و هدف:** امروزه مصرف ویتامین A برای رفع کمبود آن در بدن و یا رفع عارضه‌های پوستی بدون در نظر گرفتن اثرات جانبی آن رایج است. در این تحقیق تأثیر عصاره آبی - الکلی زعفران بر میزان آنزیم‌های کبدی به‌دنبال مسمومیت با ویتامین A مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** تحقیق حاصل یک مطالعه تجربی است: در این تحقیق حیوانات مورد آزمایش ٤٨ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار بود که به ٦ گروه ٨ تایی در قالب گروه‌های تجربی، کنترل و شاهد تزریق تقسیم شدند. حیوانات گروه کنترل هیچ تیمار دارویی دریافت نکرد. گروه شاهد فقط حلال عصاره دریافت کرد. گروه تجربی ۱ عصاره آبی الکلی زعفران را به تنهایی با مقدار mg/kg ۵۰ به مدت ۱۵ روز دریافت کرد. گروه تجربی ۲ ویتامین A به میزان (IU ۵۰۰۰۰) به‌مدت ۱۵ روز دریافت کرد و گروه‌های تجربی ۳ و ٤ ابتدا ویتامین A را با مقدار روزانه (IU ۵۰۰۰۰) به‌مدت ۱۵ روز دریافت کردند. بعد از ۱۵ روز ایجاد مسمومیت با ویتامین A، این گروه‌ها عصاره آبی- الکلی زعفران را به‌ترتیب با مقادیر (mg/kg) ۸۰ و ۵۰ و به‌مدت ۲۱ روز دریافت کردند. پس از پایان دوره آزمایش از نمونه‌های خونی آماده شده برای اندازه‌گیری غلظت سرمی آنزیم‌های کبدی، AST,ALT,ALP استفاده شد و نتایج به‌دست آمده با استفاده از تست‌های آماری آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه به همراه آزمون تعقیبی توکی ارزیابی شدند. مرز استنتاج آماری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** نتایج حاصله نشان داد میزان آنزیم AST، ALT، ALP درگروه تجربی ۱ (دریافت‌کننده عصاره زعفران به تنهایی) نسبت به گروه کنترل و شاهد تفاوت معناداری را نشان نمی‌دهد. در گروه‌های تجربی۲ (دریافت‌کننده ویتامین A به تنهایی) نسبت به گروه کنترل و شاهد تفاوت معناداری در مقدار آنزیم‌ها در سطح P<۰/۰۵ مشاهده شد. در گروه تجربی ۳ (دریافت کننده ویتامین A به همراه عصاره زعفران با مقدار ۵۰mg/kg) تفاوت معناداری نسبت به گروه تجربی ۲ (دریافت کننده ی ویتامین A به تنهایی) در سطح P≤۰/۰۵ مشاهده نشد. میزان آنزیم AST، ALT، ALP در گروه تجربی ٤ (دریافت کننده ویتامین A به همراه عصاره زعفران با مقدار (mg/kg) ۸۰ نسبت به گروه تجربی ۲ (دریافت کننده ویتامین A به تنهایی) تفاوت معناداری در سطح P<۰/۰۵ نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** احتمالاً عصاره آبی الکلی زعفران به‌علت دارا بودن ترکیبات آنتی‌اکسیدان باعث محافظت سلول‌های کبدی در مقابل استرس اکسیداتیو وارده ناشی از اضافه بار ویتامین A شده و در نتیجه سطح آنزیم‌های کبدی به حد طبیعی برمی‌گردد.



**واژه‌های کلیدی**: *زعفران، ویتامین A ،AST, ALT,ALP ، موش صحرایی.*

## مقدمه

ویتامین A نقش اساسی در حفظ بافت‌های مخاطی بدن دارد و به دو فرم اصلی در غذاها یافت می‌شود (۱). رتینول فرمی از ویتامین A است که در هنگام خوردن منابع حیوانی جذب می‌شود و به‌صورت ماده زرد و حلال در چربی مشاهده می‌شود. با توجه به اینکه فرم‌های خالص الکلی ناپایدار هستند، در بافت به شکل رتینیل استر یافت می‌شود. همچنین این فرم در بازار تولید شده و به‌صورت استرهایی مثل رتینیل استات یا پالمیتات تزریق می‌شود (۱,۲). با توجه به اینکه ویتامین A محلول در چربی است جابه‌جایی مقدار اضافی جذب شده از طریق رژیم غذایی، سخت‌تر از انواع ویتامین محلول در آب مثل ویتامین‌های گروه B و ویتامین C است و ممکن است سمیت با ویتامین A اتفاق بیفتد. عموماً سمیت حاد در مقادیر IU/kg ۲۵۰۰۰ بدن و سمیت مزمن در مقدار IU/kg ۴۰۰۰ بدن در بازه زمانی ٦ تا ۱۵ ماه اتفاق می‌افتد. بنابراین سمیت کبدی در سطح IU/kg ۱۵۰۰۰در روز تا ۱/٤میلیون IU به‌صورت روزانه و به‌طور متوسط با مقدار روزانه IU ۲۰۰۰۰ می‌تواند به‌وجود بیاید. در افراد دچار اختلال کلیوی IU٤۰۰۰ می‌تواند باعث ایجاد آسیب جدی شود. علاوه بر این الکل اضافی جذب شده می‌تواند سمیت را افزایش دهد. تخمین زده شده است که در جوامع پیشرفته ۷۵ درصد مردم بیشتر از استاندارد سازمان جهانی بهداشت، ویتامین A جذب می‌کنند. جذب دو برابر استاندارد، به‌صورت مزمن، می‌تواند باعث شکستگی مفصل استخوان و مشکلات استخوانی شود. علت این موضوع احتمالاً بلوکه شدن بیان پروتئین‌های خاص در ارتباط با ویتامین K ناشی از مقدار اضافی ویتامین A است. این واقعه باعث کاهش اثر ویتامین D و ویتامین K می‌شود که دارای نقش ثابت شده در جلوگیری از پوکی استخوان هستند. مصرف خودسرانه قرص‌های مکمل باعث به وجود آمدن بیماری‌هایی می‌شود که از آن جمله می‌توان مسمومیت مزمن کبدی با ویتامین A را نام برد.

اعتقاد بر این است متوسط مقدار دریافتی پیشنهادی ویتامین A از یک رژیم متعادل IU (۱۵۰۰۰) است. این ویتامین بعد از جذب در کبد ذخیره شده و استرهایش بعد از تبدیل به فرم‌های فعال بیو لوژیکی، به جریان خون آزاد می‌شود (۳,٤).

برخی گزارشات به آسیب‌های جدی کبدی ناشی از مسمومیت مزمن کبدی با ویتامین A، سیروز احتمالی و عواقب جدی بعد از آن اشاره می‌کند. دلیل القای ویتامین A در آسیب کبدی هنوز کاملاً مشخص نمی‌باشد. مدارکی وجود دارد که پیشنهاد می‌کند مقدار اضافی ویتامین A در کبد باعث فیبروز، سختی سیاهرگ‌های مرکزی و متعاقب آن افزایش فشار و آسیت می‌شود، با وجودی که در این وضعیت سطح سرمی ویتامین A نرمال است (۵).

در مقالات مختلف مقادیری از ویتامین A که باعث آسیب‌های کبدی می‌شود بسیار متنوع ذکر شده‌اند. مقادیر روزانه ۱۵۰۰۰ تا IU۱٤۰۰۰۰۰ در روز متغیر است که متوسط آن IU۱۲۰۰۰۰ در روز است و مقدار پیشنهادی جذب روزانه از ۱۳۰۰ تا ۲۳۰۰ IU بسته به سن و جنس متغیر است. دوره زمانی مسمومیت از ۱۱روز تا ۳۰ سال متغیر است. بیشترین مقدار در بیماران مبتلا به سیروز گزارش شده است (٦). شواهد نشان می‌دهد گیاه زعفران به خاطر دارا بودن ترکیبات مفید و آنتی اکسیدان بی شمارش از جمله کروسین، کروستین، فلاونوئیدها، اسیدهای آمینه و غیره مورد توجه ویژه‌ای در درمان برخی بیماری‌ها بوده است (۷,۸). زعفران با نام علمی Crocus sativus L از خانواده زنبقیان گیاهی علفی، چند ساله، بدون ساقه و پیازدار است. پیاز زعفران از نوع توپر و تقریبا کروی شکل با قطر ۳ تا ۵ سانتی‌متر و پوششی قهوه‌ای رنگ می‌باشد که در زیر خاک قرار می‌گیرد. گل زعفران اولین اندامی است که در اوایل پاییز ظاهر می‌شود. (۹). زعفران، عصاره و تنتور آن در طب سنتی به عنوان تسهیل کننده هضم غذا، اشتها آور، آرام بخش، معرق، خلط‌آور، محرک، قاعدگی‌آور، سقط‌کننده جنین و برای

درمان اختلالات کبد و کیسه صفرا، اسپاسم، کرامپ، درد دندان و لثه، التهاب مخاط بینی و گلو، نفخ، بی‌خوابی، افسردگی، اختلالات شناختی، تشنج، بی نظمی قاعدگی، قاعدگی درد ناک، خونریزی شدید بعد از زایمان، خونریزی مزمن از رحم، عفونت‌های ادراری، اختلالات قلبی- عروقی و سرطان به کار رفته است. در برخی مقالات ذکر شده است که کروسین موجود در زعفران خاصیت تحریک‌کنندگی صفرای کبد را نیز دارد (۹,۱۰). شواهد نشان می‌دهد کبد یکی از اندام‌های حیاتی بدن به‌شمار می‌آید که در تنظیم بسیاری از پدیده‌های فیزیولوژیک دارای اهمیت است و اختلال در عملکرد آن باعث می‌شود مجموعه‌ای از اختلالات فیزیولوژیک، آناتومیک و انواعی از بیماری‌های مختلف به‌وجود آید. با توجه به اینکه آنزیم‌ها در همه بافت‌ها از جمله کبد فعالیت دارند با اندازه‌گیری آنزیم‌هایی مانند آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین ترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) می‌توان به آسیب‌های سلولی و اختلال در فعالیت های آندوکرینی و متابولیکی بدن پی برد.

همچنین مطالعات سایر محققان نشان می‌دهد یکی از اثرات جانبی ویتامین A ایجاد مسمومیت کبدی و همچنین آسیب‌های کبدی مثل فیبروز و سیروز می‌باشد (۳)، لذا در این پژوهش نقش احتمالی عصاره آبی – الکلی زعفران در حفاظت سلول‌های کبدی ناشی از استرس اکسیداتیو وارده از مسمومیت مزمن با ویتامین A و اثرات آن بر میزان آنزیم های کبدی آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین ترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

**گروه بندی حیوانات مورد استفاده در آزمایش**

در این مطالعه تجربی و آزمایشگاهی از ٤٨ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰±۲۰۰ گرم و سن ۳-۲/۵ ماه استفاده شد که از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه و در زمان انجام آزمایش در آنجا نگهداری شدند. حیوانات مورد آزمایش به ٦ گروه ۸ تایی در قالب گروه‌های کنترل، شاهد تزریق و تجربی تقسیم شدند. حیوانات در تمام طول مدت آزمایش طی دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار داشتند و درجه حرارت اتاق ۲۳±۲°C بود. زمان اصلی آزمایش آذر ماه سال۱۳۸۹ و مکان آزمایش مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون بود. حیوانات در تمام طول دوره بدون هیچ محدودیتی آب و غذا را به طور یکسان دریافت می‌کردند. در کلیه مراحل تحقیق اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. حیوانات گروه کنترل هیچ تیمار دارویی دریافت نکرد. گروه شاهد فقط حلال دریافت کرد. گروه تجربی ۱ عصاره آبی الکلی زعفران را به تنهایی و با مقدار (mg/kg ۵۰) به‌مدت ۱۵ روز دریافت کرد. گروه تجربی ۲ ویتامین را A با مقدار IU ۵۰۰۰۰ به‌مدت ۱۵ روز دریافت کرد. گروه‌های تجربی ۳ و ٤ ابتدا ویتامین A را با مقدار IU ۵۰۰۰۰ به‌مدت ۱۵ روز دریافت کردند. بعد از ۱۵ روز مسمومیت با ویتامین A، گروه‌های تجربی ۳ و ٤ عصاره آبی- الکلی زعفران را به‌ترتیب با مقادیر (mg/kg) ۸۰ و ۵۰ به‌مدت ۲۱ روز دریافت کردند.

**تهیه عصاره آبی – الکلی زعفران**

۱۱ بسته زعفران از شرکت بهرمن که وزن هر بسته حدود ٤/٦ گرم بود، تهیه گردید. کل زعفران که معادل ۵۰/٦ گرم بود در یک ظرف قرار گرفت. جهت تهیه عصاره از روش ماسراسیون (خیساندن) استفاده شد به این ترتیب که ml ٦۰۰ الکل ۹٦ درصد و همان مقدار آب روی زعفران ریخته شد سپس روی ظرف را پوشانده و در محیط آزمایشگاه قرار داده شد. طی این مدت چندین بار ظرف را تکان داده و بعد از ۷۲ ساعت محلول روی کاغذ صافی ریخته شد تا صاف گردد و کلاله‌ها جدا شود باقی‌مانده را در بشر ریخته و به‌مدت ۵ روز زیر

هود آزمایشگاه جهت تبخیر شدن الکل قرارداده شد. سپس مقادیر مورد نظر از عصاره در آب مقطر حل شد تا غلظت‌های مختلف از آن به‌دست آید (۱۱).

**نحوه تجویز دارو، روش خونگیری و سنجش آنزیمی**

به منظور آماده سازی و تجویز دارو۲ عدد قرص ویتامین A به مقدار IU ۲۵۰۰۰ در آب گرم حل گردید و به صورت خوراکی از طریق آب آشامیدنی به موش‌ها داده شد. بعد از ۲ هفته عصاره آبی- الکلی زعفران بعد از تعیین مقدار، هر روز بین ساعت ۱۰-۹ صبح به صورت خوراکی و با استفاده از فیدر به مدت ۲۱ روز داده می‌شد. در تمام طول آزمایش، حلال دارو آب مقطر بود که علاوه بر نقش حلال بودن به‌عنوان ماده‌ای بی‌اثر برای گروه شاهد در نظر گرفته شد. سپس در پایان روز ۱۵ از قلب حیوانات گروه کنترل، شاهد و گروه‌های تجربی ۱ و ۲ خونگیری به‌عمل آمده همچنین در پایان روز ۳۶ گروه-های تجربی ۳ و ٤ نیز تحت تأثیر اتر بیهوش شدند و از آنها نیزخون‌گیری به‌عمل آمد. بعد از ۲۰ دقیقه تا نیم ساعت خون را در محیط آزمایشگاه در دمای ۳۷ °C قرار داده تا فرایند آگلوتیناسیون صورت بگیرد. نمونه‌های خونی تهیه شده از گروه‌های مختلف، درون لوله آزمایش که با دقت برچسب‌گذاری شده بود، قرار می‌گرفت. سپس لوله‌های حاوی خون در دستگاه سانتریفیوژ به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند تا سرم جدا گردد. با استفاده از سمپلر سرم‌های به‌دست آمده در داخل لوله آزمایش استریل دیگری که از قبل آماده و برچسب‌گذاری شده بودند قرار می‌گرفت. سپس سر لوله‌ها توسط پارافیلم مسدود شده و تا قبل از اندازه‌گیری میزان آنزیم‌ها به فریزر در دمای ۲۰- °C انتقال داده شد و تا زمان سنجش‌های آنزیمی به‌صورت منجمد نگهداری و به آزمایشگاه منتقل گردید. با استفاده از دستگاه اتو آنالیزر Technico RA-1000 سنجش‌های آنزیمی‌با متدهای خاص هر آنزیم انجام شد (۱۲).

**روش آماری**

برای تجزیه و تحلیل آماری نتایج از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه به همراه آزمون تعقیبی توکی توسط نرم افزار SPSS استفاده شد. مرز استنتاج آماری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

## یافته ها

مقایسه میانگین میزان آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) نشان داد در گروه تجربی ۱ (دریافت‌کننده عصاره زعفران به تنهایی) در مقایسه با گروه کنترل و شاهد تزریق تفاوت معناداری وجود ندارد. در گروه تجربی ۲ که دریافت کننده ویتامین A به تنهایی بود با میانگین غلظت سرمی ۹/٤۳±۱۳۸/۸۷ نسبت به گروه کنترل و شاهد تزریق، تفاوت معناداری در سطح p<۰/۰۵ مشاهده شد. در گروه تجربی ۳ (ویتامین A به اضافه عصاره زعفران با مقدار ۵۰mg/kg) نسبت به گروه تجربی ۲ (ویتامین A به تنهایی)، تفاوت معناداری در سطح p≤۰/۰۵ مشاهده نشد. در گروه تجربی ٤ (ویتامین A به‌اضافه زعفران با مقدار ۸۰mg/kg) با میانگین غلظت سرمی ۳/۰۱±۸۱/۲۵ تفاوت معناداری در سطح p<۰/۰۵ نسبت به گروه تجربی ۲ (ویتامین A به تنهایی) مشاهده شد (جدول ۱).

مقایسه آزمون آماری مربوط به میزان آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (AST) نشان داد در گروه تجربی ۱ (دریافت کننده عصاره زعفران به تنهایی) در مقایسه با گروه کنترل و شاهد تزریق، تفاوت معناداری وجود ندارد. در گروه تجربی ۲ (ویتامین A به تنهایی) با میانگین غلظت سرمی ۲۲/۸۳±۲٤۰/۲ نسبت به گروه کنترل و شاهد تزریق، تفاوت معناداری در سطح p<۰/۰۵ مشاهده شد. در گروه تجربی ۳ (ویتامین A به اضافه عصاره زعفران با مقدار ۵۰ mg/kg) نسبت به گروه تجربی ۲ (ویتامین A به تنهایی) تفاوت معناداری در سطح p≤۰/۰۵ مشاهده نشد. در گروه تجربی ٤ (ویتامین A به اضافه زعفران با مقدار ۸۰ mg/kg) با میانگین غلظت سرمی ۹/۵۰±۱۸۰/۵ تفاوت معناداری در سطح p<۰/۰۵ نسبت

**جدول ۱: میانگین غلظت سرمی آنزیم آلانین امینوترانسفراز (ALT) بر حسب U/I به دنبال دریافت ویتامین A و عصاره آبی- الکلی زعفران با مقادیر مختلف در گروه تجربی وکنترل.**

| گروه‌های آزمایش | میانگین غلظت سرمی ALT بدن بر حسب U/I و انحراف معیار X ±SD |
|---|---|
| کنترل | ۷۷/۶۲±۲/۷۷ |
| شاهد تزریق | ۷۸/۶۲±۲/۶۲ |
| گروه تجربی ۱دریافت کننده عصاره آبی-الکلی زعفران (۵۰mg/kg) | ۸۱/۶۲±۲/٤٦ |
| گروه تجربی۲ دریافت کننده‌ی ویتامینA ( ۵۰۰۰۰IU) | ۱۳۸/۸۷±۹/٤۳ |
| گروه تجربی۳ دریافت کننده‌ی ویتامینA ( ۵۰۰۰۰IU)+ عصاره آبی- الکلی زعفران (۵۰mg/kg) | ۱۲۸/۲۵±٤/۸ |
| گروه تجربی٤ دریافت کننده‌ی ویتامین A( ۵۰۰۰۰IU)+ عصاره آبی- الکلی زعفران (۸۰mg/kg) | ۸۱/۲۵±۳/۰۱ |

علامت * نشانه اختلاف معنادار با گروه کنترل است .علامت * * نشانه اختلاف معنادار با گروه تجربی ۲(دریافت کننده ویتامینA ) است.

**جدول ۲: میانگین غلظت سرمی آنزیم آسپارتات امینوترانسفراز (AST) بر حسب U/I به دنبال دریافت ویتامین Aو عصاره آبی- الکلی زعفران با مقادیر مختلف در گروه تجربی وکنترل**

| گروه‌های آزمایش | میانگین غلظت سرمی AST بدن بر حسب U/I و انحراف معیارX ±SD |
|---|---|
| کنترل | ۱٤۵±۱٤/۸۹ |
| شاهدتزریق | ۱۲۶/۱۲±۱۳/۰۶ |
| گروه تجربی ۱ دریافت کننده عصاره آبی-الکلی زعفران ۵۰mg/kg | ۱۷۶/۵±۶/۷۸ |
| گروه تجربی۲ دریافت کننده‌ی ویتامین A(۵۰۰۰۰IU) | ۲۲۱±۲۲/۸۳ |
| گروه تجربی۳ دریافت کننده‌ی ویتامین A (۵۰۰۰۰IU) + عصاره آبی-الکلی زعفران (۵۰mg/kg) | ۲٤۰/۲±۱۳/۶۶ |
| گروه تجربی٤دریافت کننده‌ی ویتامین A(۵۰۰۰۰IU)+ عصاره آبی-الکلی زعفران (۸۰mg/kg) | ۱۸۰/۵±۹/۵۰** |

**جدول ۳: میانگین غلظت سرمی آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) بر حسب U/I به دنبال دریافت ویتامین A و عصاره آبی- الکلی زعفران با مقادیر مختلف در گروه تجربی وکنترل**

| گروه‌های آزمایش | میانگین غلظت سرمی ALPبر حسب U/Iو انحراف معیارX ±SD |
|---|---|
| کنترل | ۱۹۸/۵±۲/۷۸ |
| شاهد تزریق | ۱۹۷/۷۵±۲/۸۱ |
| گروه تجربی ۱دریافت کننده عصاره آبی-الکلی زعفران (۵۰mg/kg) | ۲۱۲/۸±۸/۵۸ |
| گروه تجربی۲ دریافت کننده‌ی ویتامین A(۵۰۰۰۰IU) | ۳۱۸±۷/۰۷* |
| گروه تجربی۳ دریافت کننده‌ی ویتامین A( ۵۰۰۰۰IU) + عصاره آبی-الکلی زعفران (۵۰mg/kg) | ۳۰۰/۳۷±۱۳/۳۳* |
| گروه تجربی٤ دریافت کننده‌ی ویتامین A( ۵۰۰۰۰IU) + عصاره آبی-الکلی زعفران (۸۰mg/kg) | ۲۱۵±۹/٤** |

علامت * نشانه اختلاف معنادار با گروه کنترل است. علامت** نشانه اختلاف معنادار با گروه تجربی ۲(دریافت کننده ی ویتامینA ) است.

به گروه تجربی۲ (ویتامین A به تنهایی) مشاهده شد (جدول ۲).

همچنین مقایسه میانگین میزان آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALP) نشان داد در گروه تجربی ۱ (دریافت کننده عصاره زعفران به تنهایی) در مقایسه با گروه کنترل و شاهد تزریق، تفاوت معناداری وجود ندارد.

در گروه تجربی ۲ (ویتامین A به تنهایی) با میانگین غلظت سرمی ۳۱۸±۷/۰۷ نسبت به گروه کنترل و شاهد تزریق، تفاوت معناداری در سطح p<۰/۰۵ مشاهده شد. در گروه تجربی ۳ (ویتامین A به اضافه عصاره زعفران با مقدار mg/kg ۵۰) نسبت به گروه تجربی ۲ (ویتامین A به تنهایی) تفاوت معناداری مشاهده نشد. در گروه تجربی ٤ (ویتامین A به اضافه زعفران با مقدار mg/kg ۸۰) با میانگین غلظت سرمی ۲۱۵±۹/٤ تفاوت معناداری در سطح p<۰/۰۵ نسبت به گروه تجربی ۲ (ویتامین A به تنهایی) مشاهده شد (جدول ۳).

## بحث

در این پژوهش، تأثیر حفاظتی عصاره آبی الکلی زعفران با مقادیر mg/kg ۸۰ و ۵۰ به‌مدت ۲۱ روز بر میزان آنزیم های کبدی ناشی از مسمومیت مزمن با ویتامین A به مقدار IU ۵۰۰۰۰ (به مدت ۱۵ روز) در موش صحرایی نر بالغ مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت و نتایج به‌دست آمده بین گروه‌های تجربی، کنترل و شاهد تزریق مقایسه گردید. مقایسه نتایج آزمون آماری مربوط به فعالیت آنزیم‌های AST و ALT نشان داد آنزیم آلانین ترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده ویتامین A به تنهایی و به‌صورت معناداری در سطح p<۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل افزایش نشان می‌دهد (جدول ۱ و ۲). مقایسه میزان ALT و AST در گروه تجربی دریافت‌کننده ویتامین A به همراه عصاره آبی- الکلی زعفران به مقدار mg/kg۸۰ نسبت به گروه دریافت‌کننده ویتامین A به تنهایی کاهش معناداری را در سطح p< ۰/۰۵ نشان می‌دهد و به سطح گروه کنترل نزدیک شده است. مطالعات نشان می‌دهد اندازه‌گیری فعالیت آنزیم AST شاخص بسیار مهم برای آسیب کبدی است. همچنین افزایش آنزیم ALT نشانه ایجاد حالت نکروز در بافت کبد می‌باشد که پس از قرار گرفتن در معرض عوامل توکسیک کبدی مورد بررسی قرار می‌گیرد (۱۳). در تحقیق حاضر مشاهده می‌شود، پس از دریافت ویتامین A به مدت ۱۵ روز میزان آنزیم‌های ALT,AST به‌صورت معناداری افزایش پیدا کرد که نشان‌دهنده نکروز کبد به دنبال دریافت ویتامین A می‌باشد. همچنین مقادیر اضافی ویتامین A باعث می‌شود در محیط‌هایی که فشار اسمزی افزایش می یابد، سلول‌ها تخریب می‌شوند و باعث ایجاد سمیت می‌شود. در کبد مسموم شده با ویتامین A رادیکال‌های آزادی تولید می‌شود که باعث آغاز فرایند پراکسیداسیون لیپید و در نتیجه تشکیل فیبروز و نکروز سلولی می‌شود. ترکیبات مؤثره زعفران شامل کروسین، کروستین، فلاونوئیدها باعث مهار پراکسیداسیون لیپید توسط بالا بردن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد اسید اسکوروبیک که جز ویتامین‌های موجود در زعفران می‌باشد، در مهار پراکسیداسیون لیپید بسیار مؤثر است. همچنین باعث محافظت غشای بیولوژیکی در مقابل آسیب پراکسیداتیو می‌شود، که این کار از طریق بالا بردن فعالیت آلفاتوکوفرول صورت می‌گیرد. شواهد نشان می‌دهد در رت‌های مسموم شده، محتوای گلوتاتیون به‌صورت قابل توجهی کاهش می‌یابد. این کاهش احتمالاً نتیجه کاهش سنتز ATP و اسیدوز ناشی از گلیکولیز بی‌هوازی است، دریافت عصاره زعفران طبق مطالعات قبلی دیگر دانشمندان باعث افزایش محتوای گلوتاتیون کبدی می‌شود (١٤).

شواهد نشان می‌دهد اختلال در متابولیسم انرژی باعث ایجاد برخی تغییرات در متابولیسم سلول‌های کبدی می‌شود. رادیکال آزاد با اتصال به پروتئین یا لیپید غشا و جدا کردن یک اتم هیدروژن از لیپید به غشای لیپید نفوذ می‌کند و باعث احیای غشا و سرانجام نکروز دیواره سلولی کبد و متعاقب آن نشت آنزیم‌های کبدی می‌شود (۱۵,۱۹). آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون، گلوتاتیون پراکسیداز از دسته آنزیم‌های هیپوپراکسیداز می‌باشند و خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند و سبب خنثی شدن پر اکسید

هیدروژن می‌شوند. گلوتاتیون پراکسیداز در حضور ویتامین C با ویتامین A سبب خنثی شدن رادیکال آزاد H2 می‌شوند، همچنین سوپر اکسید دسموتاز جز آنزیم‌های اکسیژناز می‌باشد و سبب خنثی شدن رادیکال آزاد O2 می‌شوند (۲۰,۲۲). در این مطالعه احتمالاً به علت مسمومیت به‌دنبال دریافت مقدار اضافی ویتامین A و آسیب سلول‌های کبدی افزایش قابل توجهی در فعالیت سرمی LDH مشاهده می‌شود، که این افزایش احتمالاً با دریافت عصاره آبی – الکلی زعفران کاهش می‌یابد. احتمال می‌رود مواد مؤثره زعفران با خاصیت آنتی-اکسیدانی خود، نقش ایجاد ثبات غشایی در سلول‌های هپاتوسیت ایفا می‌کنند و باعث کاهش رخنه LDH از کبد می‌شوند (۱٤,۲۱,۲۲). تجویز زعفران پراکسیداسیون لیپید را کاهش می‌دهد، ولی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند (سوپر اکسید دسمولاز، کاتالاز) و غیر آنزیمی (گلوتانیون احیا شده) کبد را افزایش می‌دهد. زعفران ممکن است از طریق تأثیر بر پراکسیداسیون لیپید، آنتی اکسیدان‌ها و سامانه‌های سم‌زدایی از اثر ژنوتوکسیک ناشی از داروها پیشگیری نماید (۲۳). با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق زعفران با مقدار (۸۰ mg/kg) به همراه ویتامین A باعث برگشت AST و ALT به حد طبیعی شد. در مقدار ۸۰ mg/kg به‌علت خواص آنتی‌اکسیدانی ترکیبات زعفران باعث محافظت سلول‌های کبدی در برابر مسمومیت می‌شود و از آزاد شدن آنزیم‌های AST,ALT به سرم جلوگیری می‌کند، ولی مقدار ۵۰ mg/kg تأثیر چندانی ندارد. این نتیجه با تحقیقات سایر محققان بر روی کبد که باعث افزایش آنزیم‌های ALT,AST بر اثر مسمومیت با داروهایی مثل ریفامپین یا اضافه بار آهن شده بود، هم-خوانی دارد (۱٦,۲۳). با توجه به نتایج آماری در مورد اثرات عصاره آبی– الکلی زعفران بر مسومیت مزمن کبدی با ویتامین A در گروه تجربی مسموم با ویتامین A سطح ALP در سطح $p \leq ۰/۰۵$ به‌صورت معناداری افزایش نشان می‌دهد، ولی در گروه تجربی مسموم شده با ویتامین A همراه با زعفران با مقدار (۸۰ mg/kg در مقایسه با گروه تجربی مسموم با ویتامین A به‌صورت معناداری کاهش یافته و به سطح گروه کنترل نزدیک شده است (جدول ۳). در انسان آنزیم ALP در همه بافت‌های بدن حضور دارد، اما به‌طور اختصاصی در کبد، مجرای صفراوی، کلیه‌ها، استخوان و جفت تولید می‌شود. افزایش آنزیمی ALP معمولاً نسبت به کاهش آنزیم بیشتر اتفاق می‌افتد (۸). در این تحقیق ALP در گروه‌های تجربی مسموم شده با ویتامین A بالا رفته است. از طرفی در گروه تجربی مسموم با ویتامین A زعفران با مقدار (mg/kg) ۸۰ باعث شد میزان ALP تا حد گروه کنترل کاهش پیدا کند که نشان‌دهنده تأثیر زعفران در کاهش این فاکتور است. همچنین کروسین موجود در زعفران خاصیت تحریک-کنندگی فعالیت صفراوی کبد را دارد و از انسداد مجاری صفراوی جلوگیری می‌کند، بنابراین این خاصیت توجیه-کننده برگشت آنزیم ALP بعد از مصرف عصاره زعفران در مقایسه با گروه مسموم شده با ویتامین A در حد گروه کنترل است (۲٤,۲۵).

مصرف زعفران با مقدار ۸۰ mg/kg به همراه ویتامین A به مدت ۲۱ روز باعث برگشت سطح بالا رفته آنزیم‌های AST، ALT، ALP به سطح طبیعی (گروه کنترل) شد که علت آن خاصیت آنتی اکسیدانی ترکیبات مؤثر زعفران در حفاظت از سلول‌های کبدی در مقابل استرس اکسیداتیو می‌باشد.

## تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسؤولین محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون که موجبات انجام این تحقیق را فراهم نموده‌اند، صمیمانه تشکر و سپاسگزاری می‌شود.

## References


1. Diana N.D'Ambrosio, Robin D,Clugston, and William S.Blaner.Vitamin A Metabolism: An Update, Nutrients, Department of Medicine and Institute of Human Nutrition, College of Physicians and Surgeons, Columbia University.2011; 3(1): 63–103.
2. DellaPenna D, Pogson BJ. Vitamin Synthesis in Plants, Tocopherols and Carotenoids, Annual Rev Plant Biol.2006 ; 57:711-38.
3. Sarles J, Scheiner C, Sarran M, Giraud F . Hepatic Hypervitaminosis A: a. Familial Observation. J Pediatr Gastroenterol Nutr.1990;10(1):71-6.
4. Bernard P.Lane,M.D.Hepatic Microanatomy in Hypervitaminosis A in Man and Rat. The New England Journal of Medicine.1968: 53(4):591-8.
5. Richard R, Babb MD, John H. Kieraldo, MD Palo Alto.Cirrhosis Due to Hypervitaminosis A, West J Med. 1978;128: 244-6.
6. Kaare Rodahl. Hypervitaminosis A in the Rat,institute of physiology,oslo,Norway. J. Nutr.1950; 41( 3):399-421.
7. Akhondzadeh Shahin, Jamshidi Amir-Hossein, Afkham khosro, Fallah-Pour1 Hasan and Khalighi-Cigaroudi Farahnaz. Comparison of Crocus sativus L. and imipramine in the treatment of mild to moderate depression, A pilot double-blind randomized trial [ISRCTN45683816]. BMC Complementary and Alternative Medicine.2004; 4:12.
8. Thomson R.G, McGavin MD .Thomson s Special veterinary pathology, Mosby, USA.1995: 229-68.
9. Mohammad Sharrif Moghaddasi. Saffron chemical and medicine usage, Journal of medicinal plants research.2010;4(6): 427-30.
10. Kianbakht S.Systematic review on pharmacology of saffron and its effective compounds.medical plants journal 7th,2008:28(4);1-27.
11. Tavakol Afshari J, Brook A, Mousavi SH. Study of cytotoxic and apoptogenic properties of saffron extract in human cancer cell lines. Food Chem Toxicol. 2008:46(11);3443-7.
12. Henry;JB. Clinical diagnosis and management by laboratory methods,19th ed. W.B saunders ,Philadelphia1996; 138.
13. Kuhad A, Tirkey N, Pilkhwal S, Chopra K.. Gingerol prevent Cisplation-induced acute renal failure in rats,kan Biofactors.2006; 26(3):189-200.
14. Ahmed Ali S, Faddah L , Abdel-Baky A, and Bayoumi A. Protective Effect of L-Carnitine and Coenzyme Q10 on CCl4-Induced Liver Injury in Rats. Sci Pharm.2010 ; 78(4);881-96.
15. Dlieepan KN, Singh VN, Ramachanran CK. Early effects of Hypervitaminosis A on gluconeogenic Activity and Amino acid Metabolizing Enzymes of rat liver, J Nutr.1977; 107(10):1809-15.
16. Shoddy A. EL-Maraghy, sherineM. Rizk and Maha M. EL-Sawalhi. Hepatoprotective potential of crocin and curcumin against iron overload-induced biochemical alternations in Rat. African journal of Biochemistry Research.2009 ; 3(5): 215-21.
17. Ishige K, Schubert D , Sagara Y. Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinc mechanisms. Free Radical Bio Med. 2001;30(4):433-46.
18. Kew MC. Serum aminotransferase concentration as evidence of hepatocellular damage, the Lancet.2000;355:591-2.
19. Rahman k. Studies on free radicals, antioxidants and co-factors. Clin Interv Aging.2007;2(2):219-36.
20. Hall JE. the text book of Medical physiology 10th edition. 2004; 1128-35.
21. Machal S. Managing Depression in physical illness, Advances in Psychiatric treatment. 2002; 8:297-305.
22. Rudnick M , Slivera MM, Pereira. TV, Olivera MR, Reginatto FH, Dal-Pizzol F, Moreira JC. Protective effects of passiflora alata extract pretreatment on carbon tetrachloride induced oxidative damage in rats, food Chem Toxicol.2007; 45(4):656-61.
23. Mohajeri D, Dostar Y, Rezaye A, Mesgari Abbasi M. Protective effect of ethanol extract of saffron in compare with silimarin on liver toxification with rifampin in rat. Journal of Zahedan of Medical Science. 201012(3);53-9.
24. Esmaeili N, Ebrahimzadeh H, Abdi K, and Safarian S.Determination of some phenolic compounds in Crocus sativus L. corms and its antioxidant activities study, Pharmacogn Mag. 2011; 7(25): 74–80.
25. Chen WY, Lin SY, Pan HC, Liao SL, Chuang YH, Yen YJ, Lin SY, Chen CJ. Beneficial effect of docosahexaenoic acid on cholestatic liver injury in rats, J Nutr Biochem . 2011; 23(3): 252-64.

# Protective Effect of Hydro-alcoholic Extracts of Saffron on Liver Enzymes (AST,ALT,ALP) by Hypervitaminosis A in Male Rat.

***Mokhtar Mokhtari., Ph.D***
Associate professor (Physiology), Department of Biology, Islamic Azad University, Kazerun Branch,kazerun, Iran.

***Mehrdad Shariati., Ph.D***
Associate professor (Developmental Biology, Department of Biology, Islamic Azadniversity, Kazerun Branch,Kazerun Iran
.
***Dorna Ajdari., MSc***
MSc in Animal Sciences, Department of Biology Islamic Azad University, Kazerun Branch,kazerun, Iran.

**Received:**24/09/2012 , **Revised:**28/11/2012 , **Accepted:** 06/02/2013

**Corresponding author:**
Mokhtar Mokhtari :
Department of Biology, Islamic Azad University, Kazerun Branch,kazerun, Iran . E-mail: mokhtar_mokhtary@yahoo.com

## Abstract

**Introduction and Aim:** Nowedays vitamin A consumption to compensate for the lack of it in the body or healing of skin disorders without considering respective side effects is so common.In this research the protective effect of saffron hydro alcoholic extracts on liver enzymes following vitamin A toxicity was investigated.

**Materials and Methods:** In the experimental study 48 rats were divided into 6 groups of 8 , namely control, sham and 4experimental.Control group didn't received anythings , sham group received only distilled water. The experimental group 1 Number 1 received saffron hydro alcoholic extract with 50mg/kg dose for 15 days.Experimental groups 3, 4, 5, initially received vitamin A 50000IU for 15 days. The experimental groups 4,5 received saffron hydro alcoholic extract with 50,80 (mg/kg )dose for 15 days. At the end of this period ,blood was collected from the hearts for measuring the amounts of AST ,ALT and ALP.Obtained data were statistically analyzed using statistical tests including one way variance analysis and tukey test . $P<0.05$ was considered significant.

**Results:** Levels of AST,ALT,ALP in the experimental group 1 that received only the extracts with 50 mg/kg dose didn't exhibit any change in comparison with control and sham group($P<0.05$). In the experimental group 2 that received only vitamin A was observed a dramatic difference in the enzymes in comparison compare with control and sham groups .In the experimental group 3 that received vitamin A plus saffron hydro alcoholic extracts with 50 mg/kg dose ,there wasn't any significant difference in the mentioned liver enzymes, in comparison with the experimental group 2($P<0.05$).In the experimental group 4 that received vitamin A plus saffron hydro alcoholic extracts with 80 mg/kg dose, the level of AST,ALT.ALP in comparison with experimental group 2 that received only vitamin A show significan difference($P<0.05$).

**Conclusion:** Considering the present fidings ,saffron extracts seems to protect hepatocytes against oxidative stress caused by hypervitaminosis A due to its antioxidant compounds.

**Key words:** *Saffron, Vitamin A,AST,ALT,ALP,Rat.*