

The effect of saffron petals' extract on the liver toxicity induced by CCl₄ in Wistar Rat

Hadi Sarir ^{1*}, Javad Safari Bideskan ², Hossein Naeemipour Younesi ³, Seyyed Ehsan Ghiasi ⁴

1- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.

ORCID: 0000-0001-6073-9315

2- MSc, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.

3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.

ORCID: 0000-0003-4109-9142

4- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.

ORCID: 0000-0003-3017-0820

* Email of corresponding author: sarirh@birjand.ac.ir

Extended Abstract

Introduction: Due to the modernization of daily life and the greater use of chemicals in industry and the existing concerns about the use of these substances, in recent years much attention has been paid to the effect of plants in the treatment and prevention of poisoning caused by chemicals. Carbon tetrachloride poisoning is one of the important causes of liver damage.

Saffron, or red gold, is one of the important agricultural products in Iran, especially in South Khorasan Province, and its countless medicinal properties have been mentioned in traditional medicine. According to the research conducted to identify the active ingredients of saffron petals and the presence of flavonoids as the main constituent and the antioxidant and anti-inflammatory properties of this substance, it can be used to increase the body's immunity and improve health and reduce oxidative stress in humans, livestock and poultry. The beneficial effects of saffron (*Crocus sativus* L. stigma) are due to a number of substances present in this spice, including safranal, crocin, and crocins. Pioneering experimental studies have shown that saffron, with its potent antioxidant and radical-scavenging properties, may offer broad protection against inflammatory cytokines and reactive oxygen species. In this research, the protective effect of hydroalcoholic extract of saffron petals in acute liver poisoning caused by carbon tetrachloride has been investigated.

Materials and Methods: In this study, 36 male Wistar rats were distributed in six groups of six. The first group was given physiological serum as a healthy control, and the second group was given saffron petal extract at a dose of 100 mg/kg body weight in the form of gavage. The third group consumed saffron petal extract with a dose of 200 mg/kg body weight and was gavage. The fourth group was injected with carbon tetrachloride 50% intraperitoneally. The fifth group in this group was first injected intraperitoneally with carbon tetrachloride and then 100 mg/kg of body weight was gavage from saffron petal extract. The sixth group was first injected with carbon tetrachloride intraperitoneally and then 200 mg/kg of body weight. It was gavage from saffron petal extract. At the end of the course, to measure

biochemical and hepatological parameters, blood was taken from the heart, and after that, for histopathological investigations, the liver of the animals was placed in 10% formalin.

Results and Discussion: Carbon tetrachloride treatment increased the serum levels of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase in mice. Saffron petal extract with a dose of 200 mg/kg caused a decrease in the levels of AST and ALT enzymes, which indicates the positive effect of saffron petal extract on liver and kidney health. The decrease in the levels of liver enzymes can be attributed to the antioxidant effects and reduction of oxidative stress of the compounds in the petal extract. In the pathological examination, the hydroalcoholic extract of saffron petals with a dose of 200 mg/kg prevented the liver damage caused by carbon tetrachloride. Also, the extract of saffron petals increased cholesterol and fat and reduced uric acid and blood serum albumin in rats. Although the use of saffron petal extract with carbon tetrachloride increased the amount of cholesterol compared to carbon tetrachloride, there was no statistically significant difference in cholesterol between mice receiving carbon tetrachloride alone and those receiving saffron petal extract. In the present study, it was observed that the groups receiving carbon tetrachloride had lower cholesterol and HDL levels than the control group, and using saffron petal extract increased the amount of cholesterol and HDL in the blood serum of rats. No significant difference was observed between the control group and the study groups in triglyceride levels during the experimental period.

Conclusion: According to the results of the present study, the hydroalcoholic extract of saffron petals with a dose of 200 mg/kg is effective in preventing acute liver poisoning.

Keywords: Crocus Sativus L, Hepatotoxicity and Nephrotoxicity, Rat

اثر عصاره گلبرگ زعفران بر مسمومیت کبدی ناشی از تتراکلرید کربن در موش‌های صحرایی نژاد

ویستار

هادی سریر^{۱*}، جواد صفری بیدسکان^۲، حسین نعیمی پور یونسی^۳، سید احسان غیائی^۴

۱- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

ORCID: 0000-0001-6073-9315

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

۳- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

ORCID: 0000-0003-4109-9142

۴- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

ORCID: 0000-0003-3017-0820

*نویسنده مسئول هادی سریر sarirh@birjand.ac.ir

چکیده

در سال‌های اخیر توجه زیادی به اثر گیاهان در درمان و پیشگیری مسمومیت ناشی از مواد شیمیایی شده است. مسمومیت با تتراکلرید کربن یکی از علل مهم آسیب‌های کبدی است. در تحقیق حاضر اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی گلبرگ زعفران در مسمومیت کبدی حاد ناشی از تتراکلرید کربن مورد بررسی قرار گرفته است. ۴۸ سر موش صحرایی نژاد ویستار در شش گروه هشت تایی توزیع گردیدند. گروه یک به عنوان شاهد منفی، سرم فیزیولوژی دریافت کرد. گروه دوم و سوم به ترتیب مصرف کننده عصاره گلبرگ زعفران با دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن و به صورت گاوژ بود. در گروه چهارم تزریق تتراکلرید کربن ۵۰ درصد به صورت درون صفاقی انجام شد. به گروه پنجم و ششم به ترتیب ابتدا تتراکلرید کربن به صورت درون صفاقی تزریق شد و سپس مقدار ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره گلبرگ زعفران گاوژ شد. در پایان دوره برای سنجش پارامترهای بیوشیمیایی و هیپاتولوژیک خونگیری از قلب انجام شد و پس از آن جهت بررسی‌های هیستوپاتولوژیک، کبد حیوانات در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. تیمار تتراکلرید کربن سبب افزایش سطح سرمی آلانین آمینوترانسفراز و آسپارات آمینوترانسفراز در موش‌ها گردید. عصاره گلبرگ زعفران با دز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم باعث کاهش در میزان آنزیم‌های AST و ALT شد. همچنین عصاره گلبرگ زعفران موجب افزایش کلسترول و چربی و کاهش اسید اوریک و آلبومین سرم خون در موش‌ها شد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر، عصاره هیدروالکلی گلبرگ زعفران با دز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم در پیشگیری از مسمومیت حاد کبدی موثر است.

واژه‌های کلیدی: گیاه زعفران، مسمومیت کبدی و کلیوی، موش صحرایی.

در گذشته، تتراکلرید کربن به عنوان یک عامل تمیز کننده و چربی‌زدا در منازل، تولیدات صنعتی، خشکشویی‌های نساجی، در کپسول‌های آتش‌نشانی و همچنین به عنوان پیش ماده مبرد و پیشران استفاده می‌شد. همچنین این ماده به عنوان یک داروی ضد کرم توسط پزشکان تجویز می‌شد (Weber et al., 2003). اما به دلیل اثرات بسیار سمی و مضر آن، استفاده از آن در حال حاضر ممنوع است. با این حال، استفاده از آن در برخی از صنایع ادامه دارد (Teschke, 2018). مسمومیت انسان معمولاً به طور تصادفی با استنشاق بخارات آن، جذب پوستی به دنبال تماس مستقیم با پوست یا بلع ایجاد می‌شود. همچنین ممکن است عمدتاً به عنوان یک عامل خودکشی بلعیده شود. تتراکلرید کربن باعث آسیب سلولی در اندام‌های متعدد، بیشتر در کبد، کلیه‌ها و ریه‌ها می‌شود (Slater et al., 1985; Teschke, 2018).

کبد و کلیه دو اندامی هستند که بیشترین آسیب را در مواجهه شدن با تتراکلرید کربن متحمل می‌شوند. تتراکلرید کربن به زنجیره غیر اشباع اسیدهای چرب حمله می‌کند و باعث پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدها تراوایی غشاهای میتوکندری، شبکه‌ی آندوپلاسمی و غشاء پلاسمایی را تحت تأثیر می‌دهد و موجب غیر فعال شدن کلسیم فسفاتاز می‌شود و در نتیجه به نوبه‌ی خود سبب بارگذاری بیش از حد یون کلسیم در سیتوسول می‌گردد که در نهایت کارایی میتوکندری تحت تأثیر قرار گرفته و کاهش می‌یابد (Zhao et al., 2021). همچنین از طریق ایجاد و انباشته شدن هیدروپراکسیدازها در کلیه سبب تخریب کلیه و ایجاد سیتوتوکسیته می‌گردد. همچنین تخریب شدن DNA و پروتئین‌ها در نکرور کلیه یکی دیگر از اثرات تتراکلرید کربن است (Abd-Elhakim et al., 2020).

آسیب سلولی ناشی از تتراکلرید کربن (CCl_4) ممکن است از تشکیل پیوند کووالانسی بین واسطه‌های فعال و اجزای سلولی یا از افزایش پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از واسطه‌های رادیکال آزاد ناشی شود. باعث تخریب چربی‌های درون سلولی و درون غشایی می‌شود در نهایت باعث استئاتوز یا کبد چرب می‌شود. سنتز پروتئین هیپاتوسیت نیز توسط CCl_4 سرکوب می‌شود که منجر به از دست دادن یکپارچگی ساختاری و عملکردی سلول‌ها می‌شود (Boll et al., 2001; Li et al., 2010).

در کبد، متابولیسم CCl_4 به سایر متابولیت‌های سمی توسط سیتوکروم P450، به ویژه توسط ایزوآنزیم سیتوکروم پی ۴۵۰ (CYP2E1) کاتالیز می‌شود. این آنزیم همچنین بخشی از سیستم اکسید کننده اتانول میکروزومی کبدی (MEOS) است که در متابولیسم کبدی اتانول نقش دارد. هر دوی این آنزیم‌ها با استفاده طولانی مدت از الکل قابل القا هستند و حتی یک دوز الکل ممکن است فعالیت MEOS را القا کند. به همین دلیل است که یک فرد الکلی اگر با سمیت CCl_4 همراه باشد، اثرات شدیدی را نشان می‌دهد (Stoyanovsky and Cederbaum, 1999). کبد، کلیه‌ها و ریه‌ها در اکثر موارد مسمومیت با CCl_4 آسیب می‌بینند. مسمومیت آزمایشی با CCl_4 نشان می‌دهد که سلول کبدی بارگذاری شده با گلیکوژن، در مقابل آسیب بسیار مقاوم‌تر از نمونه‌ای است که در آن نفوذ چربی وجود دارد و گلیکوژن کاهش می‌یابد. به همین دلیل است که سوءمصرف

کنندگان مزمن الکل مستعد ابتلا به علائم مهم‌تری از سمیت کبدی ناشی از CCl_4 هستند زیرا سلول‌های کبدی آنها کاهش گلیکوژن دارند و پر از چربی هستند. آسیب ریوی زمانی که CCl_4 استنشاق می‌شود ثابت است اما با مصرف خوراکی CCl_4 قابل توجه نیست (Li et al., 2010).

زعفران به عنوان یک ادویه معروف استخراج شده از گل *Crocus sativus L* می‌باشد. در طب سنتی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله افسردگی، بیماری‌های قلبی عروقی، اختلالات قاعدگی، آسم، بی‌خوابی، ناراحتی‌های گوارشی و برخی دیگر استفاده می‌شود. اثرات مفید زعفران (*Crocus sativus L. stigma*)، به دلیل تعدادی از مواد موجود در این ادویه است، از جمله ساfranال، کروتستین و کروسین‌ها (Mghaddasi, 2010; Gohari et al., 2013). مطالعات تجربی پیشگام نشان داد که زعفران با خواص آنتی‌اکسیدانی قوی و رادیکال‌زداگر ممکن است محافظت گسترده‌ای در برابر سایتوکین‌های التهابی و گونه‌های اکسیژن فعال ارائه دهد (Kamalipour and Akhondzadeh., 2011).

طبق تحقیقات انجام شده در کشور اسپانیا، گلبرگ زعفران دارای گلیکون فلاونول میریستین، کوئرستین و کامپفرول و دو نوع آنتوسیانین به نام‌های دلفینیدین کوپتونییدین می‌باشد (Wu et al., 2023; Khosrawan, 2000). بطور کلی ۳۷ ترکیب گلیکوزیدی در عصاره الکلی گلبرگ زعفران ایران به روش HPLC شناسایی شده است. دو ترکیب گلیکوفلاونولی کامپفرول و کوئرستین دی‌گلیکوزید از جمله ترکیبات اصلی فلاونوئیدهای گلبرگ هستند که در اغلب گونه‌های وحشی زعفران وجود دارند (Ebrahimzadeh et al., 2006; Gil and kaber, 2002). هدف این تحقیق اثر عصاره گلبرگ زعفران بر مسمومیت کبدی ناشی از تتراکلرید کربن در موش‌های صحرایی نژاد ویستار بود.

مواد و روش

به منظور بررسی اثر عصاره گلبرگ زعفران بر مسمومیت کبدی ناشی از تتراکلرید کربن در موش‌های صحرایی نژاد ویستار، تعداد ۴۸ سر موش صحرایی نژاد ویستار با وزن تقریبی 20 ± 220 گرم که در محل خانه حیوانات و آزمایشگاه تشریح دام دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند پرورش یافتند، مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات نر انتخاب شده در ابتدای شروع دوره، وزن شدند و به طور تصادفی در شش گروه هشت تایی در قفس‌ها توزیع گردیدند به گونه‌ای که میانگین وزن همه تیمارها تقریباً یکسان بود و این حیوانات به صورت آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند. طرح آزمایشی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی (فاکتور عصاره گلبرگ زعفران در سه سطح ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و فاکتور با تتراکلرید کربن در دو سطح صفر و با دوز ۲/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن) بود. گروه‌های آزمایشی شامل گروه اول: به عنوان گروه شاهد، دریافت کننده سرم فیزیولوژی به صورت خوراکی از طریق سرنگ گاواژ بودند. گروه دوم: مصرف کننده عصاره گلبرگ زعفران با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و به صورت گاواژ بودند. گروه سوم: مصرف کننده عصاره گلبرگ زعفران با

دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن و به صورت گاواژ بودند. گروه چهارم: گروه بیمار است که با تتراکلرید کربن ۵۰ درصد به صورت درون صفاقی (به نسبت ۱:۱ که با روغن زیتون رقیق سازی انجام شد) با دوز ۲/۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن مسموم شدند. گروه پنجم: در این گروه ابتدا تتراکلرید کربن (۲/۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن) به صورت درون صفاقی تزریق شد و پس از سه ساعت مقدار ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره گلبرگ زعفران گاواژ شد. گروه ششم: در این گروه ابتدا تتراکلرید کربن مشابه گروه چهارم و پنجم، به صورت درون صفاقی تزریق شد و پس از سه ساعت مقدار ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره گلبرگ زعفران گاواژ و این درمان به مدت یک هفته ادامه یافت.

شرایط تغذیه و نگهداری تمام گروه‌ها یکسان بوده و موش‌ها پس از رسیدن به وزن مطلوب جهت آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. جیره غذایی، بر اساس غذای پلت شده مخصوص حیوانات در شرکت جوانه خراسان مورد مصرف قرار گرفت. در مرحله اول جهت عصاره‌گیری از روش خیس‌اندن (Omid et al., 2012) استفاده شد. در مرحله دوم تحقیق، تزریق عصاره و تتراکلرید کربن بر روی موش‌ها صورت گرفت. در پایان آزمایش پس از ۲۴ ساعت از آخرین تزریق، موش‌ها توسط زایلازین بیهوش شده و بعد از باز کردن ناحیه شکمی توسط قیچی، خونگیری از قلب با استفاده از سرنگ پنج سی سی پیستون‌دار هپارینه شده انجام شد. نمونه‌های خون پس از گذشت حدود یک ساعت توسط دستگاه سانتریفیوژ با دور ۲۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و پلاسما جدا شده در میکروتیوپ‌های ۱/۵ میلی لیتری در دمای ۲۰- درجه در یخچال نگهداری شدند و جهت انجام آزمایشات به آزمایشگاه منتقل گردیدند. سطح اسیداوریک، تری گلیسرید، گلوکز، کلسترول، بیلیروبین، آلومین و آنزیم‌های کبدی شامل آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز توسط کیت‌های آزمایشگاهی و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS وژن 9.1 و مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد ($P \leq 0.05$) انجام شد.

نتایج و بحث

عملکرد آنزیم‌های کبدی

تفاوت معنی‌داری در عملکرد آنزیم‌های کبدی آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) مشاهده شد

($P \leq 0.05$). (جدول ۱)

جدول ۱. مقایسه میانگین اثر گروه‌های آزمایشی بر مقدار فعالیت آنزیم‌های کبدی AST و ALT

Table 1. Comparison of the mean effect of experimental groups on the activity of liver enzymes AST and ALT

--

گروه‌های آزمایشی		آسپاراتات آمینوترانسفراز		آلانین آمینوترانسفراز (ALT)
experimental groups		(AST)		Alanine aminotransferase
		Aspartate aminotransferase (U/I)		(U/I)
اثرات اصلی	عصاره گلبرگ زعفران	0	354.29 ^a	324.07 ^a
	saffron petal extract	100	313.55 ^{ab}	232.25 ^{ab}
	(mg/kg)	200	227.03 ^b	140.58 ^b
	سطح معنی داری		0.04	0.004
	P value			
	اشتباه معیار میانگین		36.86	40.35
	SEM			
	تتراکلرید کربن (CCl ₄)	0	157.39 ^b	79.26 ^b
	carbon tetrachloride	1	487.09 ^a	427.21 ^a
	سطح معنی داری		0.0001	0.0001
اثرات متقابل (اثر تیمارهای آزمایشی)	عصاره گلبرگ زعفران * تتراکلرید کربن			
	saffron petal extract* carbon tetrachloride			
	0	0	159.04 ^c	82.88 ^c
	100	0	180.21 ^c	85.13 ^c
	200	0	129.43 ^c	68.43 ^c
	0	1	614.62 ^a	645.67 ^a
	100	1	465.94 ^{ab}	379.38 ^b
	200	1	363.66 ^b	241.60 ^{bc}
	سطح معنی داری		0.0001	0.0001
	P value			
اثرات متقابل (Effect of experimental treatments)	اشتباه معیار میانگین		50.86	57.44
	SEM			

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

Means with different letters in each column have significant differences ($P < 0.05$).

کمترین مقدار آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز U/I ۱۲۹/۴۳ بود که از موش‌های تغذیه شده با عصاره گلبرگ زعفران ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم حاصل شد و بیشترین مقدار این آنزیم از کبد موش‌های مسموم شده با تتراکلرید کربن (U/I ۶۱۴/۶۲) به دست آمد و به دنبال آن گروه تغذیه شده با تتراکلرید کربن + عصاره گلبرگ زعفران ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (U/I ۴۶۵/۹۴) قرار داشت. نتایج نشان داد که با وجود مسمومیت با تتراکلرید کربن، افزودن عصاره زعفران ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در رژیم غذایی موش‌های صحرایی میزان آنزیم کبدی آسپاراتات آمینوترانسفراز را کاهش داد. به طوری که با کاربرد تتراکلرید کربن به همراه عصاره زعفران ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، میزان این آنزیم نسبت به تتراکلرید کربن به تنهایی به ترتیب حدود ۲۴ درصد و ۴۰ درصد کاهش یافت.

کمترین مقدار آنزیم آلانین آمینوترانسفراز از کبد موش‌هایی که با عصاره گلبرگ زعفران ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (U/I ۶۸/۴۳) تغذیه شده بودند به دست آمد. همچنین بیشترین مقدار این آنزیم کبدی از کبد موش‌های مسموم شده تتراکلرید کربن (U/I ۶۴۵/۶۷) حاصل شد و به دنبال آن گروه آزمایشی عصاره گلبرگ زعفران ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم + تتراکلرید کربن (U/I ۳۷۹/۳۸) قرار داشت. به طور کلی نتایج نشان داد که با کاربرد عصاره گلبرگ زعفران ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم همراه با تتراکلرید کربن، میزان آنزیم کبدی آلانین آمینوترانسفراز به ترتیب به میزان ۴۱ درصد و ۶۲ درصد کاهش می‌یابد. همچنین با مقایسه نتایج به دست آمده از بررسی آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز می‌توان نتیجه گرفت میزان آنزیم آلانین آمینوترانسفراز بیشتر از آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز تحت تاثیر عصاره گلبرگ زعفران قرار گرفته و آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در مقایسه با آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز کاهش بیشتری را نشان می‌دهد.

در تحقیق حاضر همچنین مشخص شد که تتراکلرید کربن با ایجاد سمیت در سلول‌های کبدی باعث افزایش آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز می‌شود. با این حال هنگامی که از عصاره گلبرگ زعفران در موش‌های مسموم شده با تتراکلرید کربن استفاده شد، مقدار این آنزیم‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت که نشان دهنده تاثیر مثبت عصاره گلبرگ زعفران بر سلامت کبد و کلیه می‌باشد. کاهش در میزان آنزیم‌های کبدی را می‌توان به اثرات آنتی اکسیدانی و کاهش استرس اکسیداتیو ترکیبات موجود در عصاره گلبرگ مربوط دانست. مطالعات نشان داده است که گلبرگ گیاه زعفران دارای گلیکون، فلاونول میریستین، کوارستین، کامپفرول و دو نوع آنتوسیانین به نام‌های دلفینیدین و پتونییدین می‌باشد (Naim et al., 2022).

همچنین نتایج مشابهی نشان دادند عصاره آبی گلبرگ زعفران (۱/۰ درصد) باعث بهبود عملکرد در جوجه‌های گوشتی می‌شود، که دلیل آن خاصیت آنتی اکسیدانی گلبرگ زعفران بیان شد (Hosseini et al., 2015). در تحقیقی که برای تعیین خواص آنتی اکسیدانی گلبرگ زعفران انجام شد، نتایج نشان داد با زیاد شدن میزان غلظت عصاره گلبرگ زعفران، درصد بازدارندگی

افزایش یافته است. بنابراین گلبرگ زعفران بعنوان یک منبع آنتی اکسیدانی طبیعی و در دسترس ارزان است (Tajali et al., 2008).

فعالیت بیلی روبین تام و اسید اوریک

استفاده از تتراکلرید کربن و عصاره گلبرگ زعفران (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) تاثیر قابل توجهی بر فعالیت بیلی روبین تام و اسید اوریک موجود در خون موشهای صحرایی داشت ($P \leq 0.05$) (جدول ۲).

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر گروه های آزمایشی بر مقدار فعالیت بیلی روبین تام و اسید اوریک

Table 2. Comparison of the mean effect of experimental groups on total bilirubin and uric acid activity

		اسید اوریک (mg/dl)	بیلی روبین تام (mg/dl)	گروه های آزمایشی
		Uric acid	Total bilirubin	experimental groups
اثرات اصلی Main effects	عصاره گلبرگ زعفران	1.52 ^{ab}	0.40	0
	(mg/kg)	1.33 ^b	0.55	100
	saffron petal extract	2.33 ^a	0.42	200
	سطح معنی داری	0.03	0.16	
	P value			
	اشتباه معیار میانگین	0.28	0.57	
	SEM			
	تتراکلرید کربن (CCl ₄)	1.37 ^b	0.36 ^b	0
	carbon tetrachloride	2.06 ^a	0.59 ^a	1
	سطح معنی داری	0.02	0.003	
	P value			
	اشتباه معیار میانگین	0.23	0.04	
	SEM			
عصاره گلبرگ زعفران * تتراکلرید کربن saffron petal extract* carbon tetrachloride				
اثرات متقابل (اثر تیمارهای آزمایشی) Interaction effects	0	0.91 ^c	0.37 ^b	0
	100	1.34 ^{bc}	0.34 ^b	0
	200	1.94 ^{abc}	0.38 ^b	0
	0	2.34 ^{ab}	0.46 ^b	1
	100	1.33 ^{bc}	0.76 ^a	1
	200	2.88 ^a	0.48 ^b	1

سطح معنی داری	0.003	0.02
P value		
اشتباه معیار میانگین	0.08	0.40
SEM		

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

Means with different letters in each column have significant differences ($P < 0.05$).

نتایج نشان داد گروه آزمایشی عصاره گلبرگ زعفران ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم + تتراکلرید کربن (۰/۷۶ میلی گرم بر دسی لیتر) دارای بیشترین مقدار بیلی روبین تام بود. همچنین کمترین مقدار بیلی روبین تام از گروه آزمایشی عصاره گلبرگ زعفران ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (۰/۳۴ میلی گرم بر دسی لیتر) به دست آمد با این حال بین گروه عصاره گلبرگ زعفران ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم با گروه شاهد، عصاره گلبرگ زعفران ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، تتراکلرید کربن، تتراکلرید کربن به همراه عصاره گلبرگ زعفران ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

بیلی روبین به میزان ۸۰ درصد، از هموگلوبین گلبول قرمز پیر شده و به میزان ۲۰ درصد از پورفیرین‌های غیر هم سرچشمه می‌گیرد. در درون ماکروفاژها یا هپاتوسیت‌های کبدی هموگلوبین به هم، آهن و گلوبین شکسته می‌شود. هم به بیلی وردین، و بیلی وردین به بیلی روبین غیر کونژوگه تبدیل می‌شود (Nazifi, 2006). در تحقیق حاضر نشان داده شد تتراکلرید کربن باعث افزایش مقدار بیلی روبین می‌شود و چنانچه عصاره گلبرگ زعفران همراه با تتراکلرید کربن دریافت شود مقدار بیلی روبین کاهش می‌یابد. در تحقیقی که برای تعیین اثرات عصاره الکلی کلاله زعفران در برابر سمیت کبدی ناشی از ریفامپین انجام شد، نتایج نشان داد که عصاره الکلی کلاله زعفران در دوزهای ۴۰ و ۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش صحرایی میزان بیلی روبین تام سرم را کاهش می‌دهد، کنترل مؤثر سطوح بیلی روبین با عصاره هیدروالکلی زعفران بهبود زود هنگام مکانیسم‌های عملکردی و ترشحی سلولهای کبدی را نشان می‌دهد (Mohajeri and Doustar, 2012).

نتایج مقایسه میانگین اثرات عصاره گلبرگ زعفران و تتراکلرید کربن بر موش‌های صحرایی نشان داد تمامی گروه‌های آزمایشی نسبت به شاهد مقدار اسید اوریک را به طور قابل توجهی افزایش داد. با این حال مقدار اسید اوریک در گروه آزمایشی تتراکلرید کربن همراه با عصاره گلبرگ زعفران ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیشتر از سایر گروه‌های آزمایشی بود. گزارش شده است تیمار با تتراکلرید عمدتاً با پراکسید کردن لیپیدهای غشای سلولی باعث القای استرس اکسیداتیو شدید و مرگ سلولی، اختلال در عملکرد و در نتیجه تجمع اوره و کراتینین در خون می‌شود. زمانی که بیش از نیمی از نفرون‌های کلیوی از بین رفته باشند میزان سطح سرمی کراتینین افزایش می‌یابد (Aggarwal et al., 2013). در نتیجه با توجه به این موضوع می‌توان نتیجه گرفت که به دنبال تخریب آسیب بافت کلیوی، نفرون‌ها و کپسول بومن نیز دچار تخریب می‌شوند و در نتیجه میزان کراتینین سرم و اوره نیز افزایش می‌یابد. فلاونوئیدها میزان اوره و کراتینین پلاسما را کاهش داده و سبب حفاظت

بافت کلیوی می‌شوند (Elhassaneen et al., 2013). همچنین در مطالعه‌ای که توسط الگنجون و همکاران در سال ۲۰۰۹ صورت گرفت، میزان سطوح سرمی اوره و کراتینین که به دلیل حضور رادیکال‌های آزاد افزایش یافته بود، هنگام درمان با عصاره آبی گیاه پاپایا به دلیل دارا بودن آنتی اکسیدان‌های فعال مانند فلاونوئیدهای موجود در این گیاه نیز کاهش قابل توجهی داشت (Olagunjun et al., 2009). در این مطالعه عصاره گلبرگ زعفران سبب کاهش سطح سرمی اوریک اسید گردید. این کاهش احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی در عصاره گلبرگ زعفران است که بر کاهش اوریک اسید تاثیر مثبتی دارد.

فعالیت پروتئین‌ها و گلوکز

نتایج مربوط به اثرات گروه‌های آزمایشی بر پروتئین‌های سرم موش‌های صحرایی مانند آلبومین و پروتئین تام به همراه گلوکز در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر گروه‌های آزمایشی بر مقدار فعالیت پروتئین‌ها و گلوکز

Table 3. Comparison of the mean effect of experimental groups on protein and glucose activity

گروه‌های آزمایشی		آلبومین (g/dl)	گلوکز (mg/dl)	پروتئین تام (g/dl)
experimental groups		Albumin	glucose	Total protein
اثرات اصلی Main effects	عصاره گلبرگ زعفران	0	118.64 ^a	5.83
	(mg/kg)	100	91.00 ^b	6.07
	saffron petal extract	200	109.58 ^a	6.100
	سطح معنی داری			
	P value	0.83	0.006	0.16
	اشتباه معیار میانگین			
	SEM	0.13	5.52	0.12
	تتراکلرید کربن (CCl ₄)	0	107.04	6.27 ^a
	carbon tetrachloride	1	104.38	5.66 ^b
	سطح معنی داری			
	P value	0.003	0.7	0.0001
	اشتباه معیار میانگین			
	SEM	0.10	4.65	0.1

عصاره گلبرگ زعفران * تتراکلرید کربن

saffron petal extract* carbon tetrachloride

اثرات متقابل (اثر تیمارهای آزمایشی)	0	0	3.38	124.75 ^a	6.11 ^{ab}
	100	0	3.38	84.88 ^c	6.36 ^a
	200	0	3.33	112.14 ^{ab}	6.35 ^a
	0	1	2.91	110.50 ^{ab}	5.40 ^c

	100	1	2.94	98.00 ^c	5.78 ^{bc}
	200	1	2.77	106.00 ^{abc}	5.74 ^{bc}
سطح معنی داری					
P value			0.09	0.01	0.004
اشتباه معیار میانگین					
SEM			0.19	7.87	0.17

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می باشند ($P < 0.05$).

Means with different letters in each column have significant differences ($P < 0.05$).

غلظت سرمی آلبومین تحت تاثیر تیمارهای آزمایش قرار نگرفت ($P > 0.05$). با این حال گروه‌های دریافت کننده تتراکلرید کربن نسبت به گروه شاهد و عصاره گلبرگ ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم دارای سطح کمتری از آلبومین بودند، اما علی رغم این کاهش، این اختلاف معنی‌دار نبود.

نتایج نشان داد که سرم خون موش‌های دریافت کننده عصاره گلبرگ زعفران ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (۸۴/۸۸ mg/dl) کمترین مقدار گلوکز را در بین گروه‌های آزمایشی داشت. با این حال اختلاف معنی‌داری بین این گروه و گروه‌های آزمایشی دریافت کننده تتراکلرید کربن به همراه عصاره زعفران ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (به ترتیب ۹۸/۰۰ mg/dl و ۱۰۶/۰۰) مشاهده نشد. همچنین، مقدار گلوکز سرم خون در گروه شاهد (۱۲۴/۷۵ mg/dl) دارای بالاترین سطح بود. اگرچه بین گروه شاهد و گروه‌هایی که عصاره گلبرگ زعفران (۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و تتراکلرید کربن دریافت کرده بودند تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

بیشترین پروتئین تام، از سرم خون موش‌هایی که با عصاره گلبرگ زعفران ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (به ترتیب ۶/۳۶ و ۶/۳۵ mg/dl) تغذیه شده بودند به دست آمد. همچنین تتراکلرید کربن (۵/۴ mg/dl) پروتئین تام سرم خون را به طور قابل توجهی کاهش داد. اما با این حال مشاهده می‌شود که دریافت تتراکلرید کربن به همراه عصاره گلبرگ زعفران در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از کاهش مقدار پروتئین سرم جلوگیری کرده است. به طوری که مقدار پروتئین در این تیمارها با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت.

اگر تتراکلرید کربن به صورت درون صفاقی به حیوان تزریق شود موجب زیاد شدن فعالیت AST، ALT و ALP و کم شدن غلظت پروتئین تام و آلبومین و زیاد شدن غلظت بیلی‌روبین در مقایسه با گروه کنترل خواهد شد (Sadeghi et al., 2007). تترا کلرید کربن پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع در فسفولیپیدهای غشای سلولی، نفوذپذیری غشای میتوکندری، شبکه آندوپلاسمی و غشای پلاسمایی را تغییر داده و منجر به از دست رفتن کلسیم سلول و در نهایت تخریب سلول می‌گردد.

محصولات حاصل از پراکسیداسیون لیپیدها نظیر مالون دی‌آلدئید با اتصال به پروتئین‌ها از فعالیت آنزیم‌های مهم نیز جلوگیری می‌کند. به علاوه مسمومیت با تتراکلریدکربن می‌تواند منجر به هیپومتیلاسیون اجزا و ماکرومولکول‌های سلولی از جمله RNA و در نتیجه مهار سنتز پروتئین گردد. به طور کلی مجموعه‌ای از فرایندهای فوق منجر به مرگ سلولی حاصل از مسمومیت با تتراکلریدکربن می‌گردد (Muriel et al., 2001).

در تحقیقی که برای تعیین اثرات حفاظتی عصاره الکلی کلالة زعفران در مقابل سمیت کبدی سیسپلاتین در موش صحرایی انجام شد، نتایج نشان داد که دوز بالای عصاره الکلی کلالة زعفران (۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) میزان پروتئین تام سرم را به طور معنی‌دار و تا سطح طبیعی خود افزایش می‌دهد (Mohajeri and Doustar, 2012).

پروفایل چربی

نتایج مربوط به اثرات گروه‌های آزمایشی بر پروفایل چربی موش‌های صحرایی شامل کلسترول، HDL، LDL و تری‌گلیسیرید در جدول ۴ نشان داده شده است.

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر گروه‌های آزمایشی بر پروفایل چربی موش صحرایی

Table 4. Comparison of the mean effect of experimental groups on rat fat profile

گروه‌های آزمایشی		کلسترول	HDL	LDL	تری‌گلیسیرید	
experimental groups		Cholesterol	(mg/dl)	(mg/dl)	Triglyceride	
		(mg/dl)			(mg/dl)	
اثرات اصلی	عصاره گلبرگ زعفران	0	33.100 ^c	31.26 ^b	26.21 ^b	49.95
	(mg/kg)	100	49.05 ^b	35.35 ^{ab}	29.06 ^{ab}	63.98
	saffron petal	200	59.46 ^a	41.05 ^a	31.91 ^a	63.76
	extract					
	سطح معنی داری					
	P value	0.0001	0.08	0.05	0.09	
	اشتباه معیار میانگین					
	SEM	3.42	2.63	1.67	5.14	
	تتراکلرید کربن	0	62.66 ^a	42.400 ^a	30.21	57.93
	(CCl4)					
carbon	1	27.40 ^b	27.40 ^b	27.36	60.83	
tetrachloride						

سطح معنی داری	0.0001	0.0001	0.14	0.82
P value				
اشتباه معیار میانگین	2.82	2.24	1.33	4.3
SEM				

عصاره گلبرگ زعفران * تتراکلرید کربن

saffron petal extract* carbon tetrachloride

اثرات متقابل (اثر تیمارهای آزمایشی) Interaction effects (Effect of experimental treatments)	0	0	40.46 ^b	37.25 ^{abc}	29.50 ^a	53.48 ^{ab}
	100	0	69.76 ^a	42.35 ^{ab}	29.25 ^a	55.74 ^{ab}
	200	0	79.91 ^a	48.34 ^a	32.14 ^a	65.53 ^{ab}
	0	1	23.28 ^c	23.28 ^d	21.83 ^b	45.26 ^b
	100	1	28.35 ^{bc}	28.35 ^{cd}	28.87 ^{ab}	72.23 ^a
	200	1	30.84 ^{bc}	30.84 ^{bcd}	31.60 ^a	61.30 ^{ab}
	سطح معنی داری					
	P value		0.0001	0.0005	0.08	0.004
	اشتباه معیار میانگین		4.79	3.84	2.34	7.32
	SEM					

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

Means with different letters in each column have significant differences ($P < 0.05$).

نتایج نشان داد مقدار کلسترول در گروه‌هایی که عصاره گلبرگ زعفران ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (به ترتیب mg/dl ۶۹/۷۶ و ۷۹/۹۱) دریافت کرده بودند به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از سایر گروه‌ها بود. همچنین کمترین مقدار کلسترول در گروه دریافت کننده تتراکلرید کربن (۲۳/۲۸ mg/dl) مشاهده شد. با اینکه استفاده از عصاره گلبرگ زعفران به همراه تتراکلرید کربن، مقدار کلسترول را در مقایسه با تتراکلرید کربن افزایش داد اما با این حال از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در کلسترول موش‌های دریافت کننده تتراکلرید کربن به تنهایی و با عصاره گلبرگ زعفران مشاهده نشد. و در مقایسه دیگر می‌توان بیان کرد بین مقدار کلسترول گروه آزمایشی عصاره گلبرگ زعفران (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و شاهد نیز اختلاف قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد.

نتایج مقایسه میانگین حاکی از آن بود که گروه‌های دریافت کننده تتراکلرید کربن باعث کاهش سطح HDL می‌شود. به طوری که کمترین مقدار HDL به ترتیب از گروه‌های آزمایشی تتراکلرید کربن، عصاره گلبرگ زعفران ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم + تتراکلرید کربن و عصاره گلبرگ زعفران ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم + تتراکلرید کربن به دست آمد. همچنین نتایج نشان داد که عصاره گلبرگ زعفران ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به دنبال آن عصاره گلبرگ زعفران ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش

قابل ملاحظه HDL می‌شود.

کلسترول لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) تحت تاثیر تیمارهای آزمایش قرار گرفت ($P < 0.05$). طبق نتایج جدول ۴، گروه دریافت کننده تتراکلرید کربن ($21/83 \text{ mg/dl}$) کمترین مقدار کلسترول لیپوپروتئین با چگالی کم را دارا بودند و سایر گروه‌های آزمایشی مقدار LDL بیشتری نسبت به تتراکلرید کربن نشان دادند و بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. مقدار تری‌گلیسرید در گروه آزمایشی که تتراکلرید کربن دریافت کرده بودند کمترین مقدار را داشت ($45/26 \text{ mg/dl}$). همچنین بیشترین مقدار تری‌گلیسرید از تیمار تتراکلرید کربن + عصاره گلبرگ زعفران 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم (به ترتیب $72/26 \text{ mg/dl}$) حاصل شد. با این حال بین گروه آزمایشی تتراکلرید کربن + عصاره گلبرگ زعفران 100 و 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم، کنترل و عصاره گلبرگ زعفران در دزهای متفاوت اختلاف معنی‌داری از نظر آماری مشاهده نشد. کلسترول نقش اساسی در ترکیب ساختاری یاخته و بافت دارد و پیش‌ساز سنتز هورمون‌های استروئیدی و اسیدهای صفراوی است. همچنین تا میزان 97 درصد از کل سنتز کلسترول، می‌تواند در تمام بافت‌های بدن به ویژه کبد، روده و پوست صورت پذیرد. غلظت بالای کلسترول سرم بازتابی از میزان زیاد لیپوپروتئین‌های سرشار از کلسترول (LDL و HDL) است. غلظت کلسترول سرم، رابطه معکوسی با فعالیت هورمون‌های تیروئیدی دارد (Nazifi, 2006).

در تحقیق حاضر مشاهده شد گروه‌های دریافت کننده تتراکلرید کربن مقدار کلسترول و HDL کمتری نسبت به گروه شاهد داشتند و با استفاده از عصاره گلبرگ زعفران مقدار کلسترول و HDL سرم خون موش‌های صحرایی افزایش یافت. تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و گروه‌های مورد مطالعه در میزان تری‌گلیسرید در طی دوره آزمایش مشاهده نشد. از علل افزایش غلظت تری‌گلیسرید سرم خون معمولاً حضور شیلومیکرونها در خون و یا افزایش لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی کم است، که در این مطالعه مشاهده شد گروه‌های آزمایشی مختلف بر مقدار LDL نیز تاثیر قابل ملاحظه‌ای نداشتند. این تغییرات بعد از خوردن غذا و پس از بیماری‌های غدد درون‌ریز، کبد، پانکراس و کلیه رخ می‌دهند. لیپوپروتئین لیپاز، پلازما را از لیپوپروتئین‌های سرشار از تری‌گلیسرید پاک می‌کند. فعالیت این آنزیم به وسیله انسولین، هورمون تیروئید، گلوکاگون و هپارین افزایش می‌یابد (Nazifi, 2006).

نتیجه گیری کلی

استفاده از عصاره گلبرگ زعفران باعث بهبودی شاخص‌های عملکرد کبدی و کاهش سطح آنزیم‌های کبدی نظیر ALT و AST ناشی از تتراکلرید کربن می‌گردد. این نتایج نشان می‌دهد که عصاره گلبرگ زعفران به صورت بالقوه اثر محافظتی بر کبد دارد که این اثر وابسته به دوز می‌باشد. همچنین استفاده از عصاره گلبرگ زعفران باعث جلوگیری از کاهش پروتئین تام، کلسترول و چربی توسط تتراکلرید کربن در سرم خون موش‌های صحرایی می‌شود. احتمال دارد یکی از مکانیسم‌های حفاظتی

این گیاه خاصیت آنتی اکسیدانی آن بوده که مانع فعالیت رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط سیستم سیتوکروم P450 میشود و یا اینکه باعث افزایش ذخایر گلوکاتیون احیا در کبد می‌شود. با توجه به نتایج تحقیق حاضر، عصاره هیدروالکلی گلبرگ زعفران با دز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم در پیشگیری از مسمومیت حاد کبدی موثر است.

منابع

- Abd-Elhakim, Y. M., Ghoneim, M. H., Ebraheim, L. L., & Imam, T. S. (2020). Taurine and hesperidin rescues carbon tetrachloride-triggered testicular and kidney damage in rats via modulating oxidative stress and inflammation. *Life Sciences*, 254, 117782. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117782>
- Aggarwal, D., Sharma, M., & Singla, S. K. (2013). The role of natural antioxidants as potential therapeutic agent in nephrolithiasis. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(3), 48-53.
- Boll, M., Lutz, W. D., Becker, E., & Stampfl, A. (2001). Mechanism of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. Hepatocellular damage by reactive carbon tetrachloride metabolites. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 56(7-8), 649-659. doi: <https://doi.org/10.1515/znc-2001-7-826>
- Ebrahimzadeh, H., Rajabian, T., Karmian, R., Abrishamchi, P., Saboura, A. (2006). Iranian Saffron from a Research Perspective, Etelaat Publications, Tehran. First edition. 172-150. [in Persian]. doi: <https://doi.org/10.22077/JSR.2025.8535.1256>.
- Elhassaneen, Y., Sabry, S., Musalum, T., El-Eskafy, A., & El-Fatah, A. A. (2013). Effect of sweet violet (*Viola odorata* L.) blossoms powder on liver and kidney functions as well as serum lipid peroxidation of rats treated with carbon tetrachloride. *Journal of American Science*, 9(5), 88-95.
- Gil, M. I., kaber, A. A. (2002). Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids and vitamin C contents of nectarine, peach and plum cultivars from colifornia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 7976-4982. doi: <https://doi.org/10.1021/jf020136b>
- Gohari, A. R., Saeidnia, S., & Mahmoodabadi, M. K. (2013). An overview on saffron, phytochemicals, and medicinal properties. *Pharmacognosy reviews*, 7(13), 61. [in Persian]. doi: <https://doi.org/10.4103/0973-7847.112850>
- Hosseini, S.M., Naghous, M., Hoseinyan Bilondi, S. H. (2015). Effect of aqueous pennyroyal (*MenthaPulegium*) and saffron petals (*Crocus sativus* L.) extract on performance and meat quality in broiler, 2(1), 1-14. [in Persian]. doi: <https://doi.org/10.22077/jsr.2015.324>
- Kamalipour, M., & Akhondzadeh, S. (2011). Cardiovascular effects of saffron: An evidence-based review. *Journal of Tehran Heart Center*, 6(2), 59. [in Persian].
- Khosrawan, V. (2000). Study of the anticonvulsant effect of saffron. Thesis for PhD, Mashhad University of Medical Sciences. Mashhad, Iran.
- Li, X. W., Zhu, R., Li, B., Zhou, M., Sheng, Q. J., Yang, Y. P., ... & Li, Z. Q. (2010). Mechanism underlying carbon tetrachloride-inhibited protein synthesis in liver. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 16(31), 3950. doi: <https://doi.org/10.3748/wjg.v16.i31.3950>
- Mohajeri, D., Doustar, Y. (2012). Protective effect of ethanolic extract of *Crocus sativus* L. (Saffron) stigma against Cisplatin induced hepatotoxicity in rats. *Medical Sciences*, 21 (4), 251-261. [in Persian].

Moghaddasi, M. S. (2010). Saffron chemicals and medicine usage. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(6), 427-430.

Muriel, P., Alba, N., Pérez-Álvarez, V. M., Shibayama, M., & Tsutsumi, V. K. (2001). Kupffer cells inhibition prevents hepatic lipid peroxidation and damage induced by carbon tetrachloride. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 130(2), 219-226. doi: [https://doi.org/10.1016/s1532-0456\(01\)00237-x](https://doi.org/10.1016/s1532-0456(01)00237-x)

Naim, N., Bouymajane, A., Oulad El Majdoub, Y., Ezrari, S., Lahlali, R., Tahiri, A., ... & Madani, I. (2022). Flavonoid composition and antibacterial properties of *Crocus sativus* L. petal extracts. *Molecules*, 28(1), 186. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules28010186>

Nazifi, S., (2006). Clinical Pathology (Translation). Veterinary Laboratory Sciences. Shiraz University. P. 288. [in Persian].

Olagunjua, J.A., Adeneyeb, A.A., Fagbohunkac, B.S., Bisugac, N.A., Ketikuc, A.O., Benebod, A.S., Olufowobic, O.M., Adeoyec, A.G., Alimic, M.A., and Adelekec, A.G. (2009). Nephroprotective activities of the aqueous seed extract of *Carica papaya* Linn. in carbon tetrachloride induced renal injured Wistar rats: a dose- and time-dependent study. *Biology and Medicine*, 1 (1), 11-19.

Omidi, A., Torabi, Z., Hassanpoorfard, M., Zardast, M. (2012). Evaluation of protective effect of hydroalcoholic extract of *Crocus sativus* petals on preventing of gentamicin induced peliosis hepatis and hepatic telangiectasis in rats: short communication. *Journals of Birjand University of Medical Sciences*, 19 (4), 455-462. [in Persian].

Sadeghi, H., Gheitasi, I., marzooghi, N. (2007). Investigation of the hepatoprotective effects of Bilhar plant on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, 1 (9), 38-43. [in Persian]. 10.1080/13813455.2019.1702062

Slater, T. F., Cheeseman, K. H., & Ingold, K. U. (1985). Carbon tetrachloride toxicity as a model for studying free-radical mediated liver injury. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 311(1152), 633-645. doi: <https://doi.org/10.1098/rstb.1985.0169>

Stoyanovsky, D. A., & Cederbaum, A. I. (1999). Metabolism of carbon tetrachloride to trichloromethyl radical: An ESR and HPLC-EC study. *Chemical research in toxicology*, 12(8), 730-736. doi: <https://doi.org/10.1021/tx9900371>

Tajali, F., Hemmati Kakhki, A., Khatami Rad, M., and Gazrani, S. (2008). Determination of the antioxidant properties of saffron petals by two methods: DPPH and linoleic acid model system, 18th National Congress of Food Industries, Mashhad. [in Persian].

Teschke, R. (2018). Liver injury by carbon tetrachloride intoxication in 16 patients treated with forced ventilation to accelerate toxin removal via the lungs: A clinical report. *Toxics*, 6(2), 25. 10.3390/toxics6020025

Weber, L. W., Boll, M., & Stampfl, A. (2003). Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Critical reviews in toxicology*, 33(2), 105-136. doi: <https://doi.org/10.1080/713611034>

Wu, Y., Gong, Y., Sun, J., Zhang, Y., Luo, Z., Nishanbaev, S. Z., ... & Benito, M. J. (2023). Bioactive components and biological activities of *Crocus sativus* L. byproducts: a comprehensive review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(49), 19189-19206. doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04494>

Zhao, Z., Hou, Y., Zhou, W., Keerthiga, R., & Fu, A. (2021). Mitochondrial transplantation therapy inhibit carbon tetrachloride-induced liver injury through scavenging free radicals and protecting

hepatocytes. *Bioengineering & Translational Medicine*, 6(2), e10209. doi:
<https://doi.org/10.1002/btm2.10209>

پذیرفته شده نهایی - قبیل از چاپ