

اثر کروسین بر اختلال عملکردی کبد القا شده با لیپولی ساکارید/دی گالاکتوز آمین در موش کوچک آزمایشگاهی نر

امیررضا ناصری^۱، محسن خلیلی^۲، نرگس حدادزاده نیری^۳، مهرداد روغنی^{۴*}

تاریخ دریافت ۱۴۰۱/۰۶/۲۰ تاریخ پذیرش ۱۴۰۲/۰۲/۳۱

چکیده

پیش زمینه و هدف: آسیب حاد کبدی یک سندرم کشنده است که باعث از دست رفتن سریع عملکرد کبد می شود. کروسین ماده مؤثره زعفران با خواص آنتی اکسیدانی، محافظتی و آنتی آپوپتوتیک است. در این مطالعه اثر کروسین بر اختلال عملکرد کبد در موش کوچک آزمایشگاهی نر ارزیابی شد. **مواد و روش کار:** در این مطالعه پیژوهشی، ۲۸ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر (۲۰-۲۴ گرم) به گروه های کنترل، آسیب کبدی و دو گروه آسیب کبدی تحت تیمار با کروسین ۵۰ یا ۲۰۰ mg/kg تقسیم شدند. آسیب کبد با تزریق ترکیب لیپولی ساکارید/دی گالاکتوز آمین (LPS/D-Gal) به ترتیب با دوزهای ۵۰ micro/kg و ۴۰۰ mg/kg ایجاد شد. کروسین حل شده در آب مقطر به مقادیر ۵۰ و ۲۰۰ mg/kg از ۳ روز قبل تا ۱ ساعت قبل از القاء آسیب کبدی به طور روزانه گاوژ شد. ۲۴ ساعت بعد از القاء آسیب، موش ها با مخلوط کتامین ۱۲۰ mg/kg و گزیلازین ۱۰ mg/kg بی هوش و پس از گرفتن نمونه خون از قلب، با رعایت مسائل اخلاقی کشته شدند. مارک های کبدی ALT, AST, ALP و شاخص های MDA, SOD, Cat, MPO و TNF- α سنجش شدند. داده ها با نرم افزار Graphpad Prism 9.3 و با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی و سطح معنی دار $p < 0.05$ تجزیه و تحلیل آماری شدند. **یافته ها:** تجویز کروسین موجب کاهش سطوح سرمی مارک های کبد، TNF- α , MDA, MPO, SOD و افزایش SOD در گروه های درمان در مقایسه با گروه LPS/D-Gal گردید ($p < 0.05$) و تغییر Cat معنی دار نبود ($p > 0.05$). **بحث و نتیجه گیری:** کروسین با خاصیت آنتی اکسیدانی قوی توانست اختلال عملکردی کبد را از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب کم کند. **کلیدواژه ها:** آسیب حاد کبدی، کروسین، التهاب، لیپولی ساکارید، استرس اکسیداتیو

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و چهارم، شماره اول، ص ۳۴-۲۵، فروردین ۱۴۰۲

آدرس مکاتبه: گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران، تلفن: ۰۹۱۲۲۸۵۸۵۶۸

Email: mehjour@yahoo.com

مقدمه

استامینوفن، که شایع ترین علت نارسایی حاد کبد در ایالات متحده است، قابل پیش بینی و وابسته به دوز است. این مسئله می تواند خاص، غیر قابل پیش بینی و احتمالاً مستقل از دوز نیز باشد. جایی که عفونت های ویروسی (هیپاتیت A, B, E) علل غالب ایجاد بیماری های کبدی هستند، نارسایی حاد کبد در کشورهای توسعه یافته بسیار کمتر از کشورهای در حال توسعه است. جایی که آسیب کبدی ناشی از دارو شایع ترین علت نارسایی حاد کبدی است، اقدامات بهداشت عمومی (مانند واکسیناسیون و بهبود وضعیت بهداشتی) از جمله عواملی هستند که منجر به کاهش بروز این

نارسایی حاد کبدی یک بیماری بحرانی نادر اما تهدید کننده زندگی است که اغلب در بیمارانی رخ می دهد که از قبل بیماری کبدی ندارند. در سطح جهان، عفونت های هیپاتیت A و E احتمالاً مسئول اکثر موارد نارسایی حاد کبدی هستند و نرخ مرگ و میر در بیش از ۵۰ درصد از کشورهای در حال توسعه گزارش شده است. آسیب کبدی ناشی از دارو مسئول تقریباً ۵۰ درصد موارد نارسایی حاد کبدی در ایالات متحده است. چنین آسیبی ممکن است وابسته به دوز و قابل پیش بینی باشد، به طور مثال سمیت کبدی ناشی از

^۱ دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

^۲ استاد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

^۳ گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

^۴ استاد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

کبدی شده همچنین تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را در سلول‌های کبدی افزایش می‌دهد. بنابراین، D-GalN به‌تنهایی نیز به‌عنوان مدلی برای نارسایی حاد کبدی استفاده می‌شود. مطالعات بیشتر، نقش مهم فاکتور نکروز تومور (TNF-a) و گیرنده آن را در آپوپتوز هیپاتوسیت و کشندگی مرتبط با تجویز LPS و D-GalN، نمایان کرد. اکنون بسیاری از آزمایشگاه‌ها از تزریق LPS یا ترکیبی از LPS و D-GalN به‌عنوان یک مدل تجربی برای القای التهاب و مکانیسم‌های سلولی و مولکولی زیربنایی در کبد یا سایر اندام‌ها استفاده می‌کنند (۳). کاربرد داخل صفاقی لیپوپولی ساکارید (LPS) به‌تنهایی یا در ترکیب با سایر هیپاتوتوکسین‌ها یک مدل تجربی برای القاء التهاب سیستمیک و کبدی در جوندگان است که در سراسر جهان به کار می‌رود. اندوتوکسین توسط پروتئین متصل شونده به LPS شناسایی می‌شود. کمپلکس گیرنده فعال شده به‌نوبه خود سیگنال‌هایی را به آیش‌های درون‌سلولی انتقال می‌دهد که منجر به شبکه‌ای چندوجهی از پاسخ‌های درون‌سلولی شده و به التهاب ختم می‌شود. یک نمونه شاخص از پاسخ درون‌سلولی در این میان، فعال شدن مسیری NF- κ B و تولید تعداد زیادی از سایتوکین‌های التهابی است. اگرچه مصرف LPS به‌طور کلی آسان است، اما تغییرات ناخواسته در آماده‌سازی محلول تزریقی یا لمس زیاد حیوانات ممکن است بر تکرارپذیری یا نتیجه یک آزمایش خاص تأثیر بگذارد. محققان به این نتیجه رسیدند که اثرات مشاهده شده به‌احتمال زیاد با انتشار فاکتورهای کبدی از سلول‌های تک‌هسته‌ای در حال نفوذ ایجاد می‌شود (۳).

کلاله خشک‌شده زعفران دارای مزایای درمانی بالقوه متعددی است. اجزای فعال احتمالی آپوکارتونوئیدهای کروسین، کروسین، سافرانال و پیروکروسین هستند. کروسین که دی ساکارید جنتیوبیوز و دی کربوکسیلیک اسید کروسین است، مسئول رنگ شدید زعفران است و یکی از معدود کاروتنوئیدهای طبیعی محلول در آب است. کروسین که از آسیب شبکه چشم محافظت می‌کند، دارای اثرات ضدسرطان، محافظت‌کننده عصبی، ضدافسردگی و ضداضطراب، ضدآرتروز، کاهش چربی خون، محافظت از قلب، ریوی و ضد دیابت است پیروکروسین، پیش ساز سافرانال، دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد نفوپلاستیک است و به‌عنوان نشانگر هویت برای زعفران استفاده می‌شود. عصاره آبی زعفران پراکسیداسیون لیپیدی را مهار می‌کند و خاصیت مهار رادیکال‌های آزاد در شرایط آزمایشگاهی را دارد. کروسین و سافرانال تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را کاهش داده و در چندین مدل استرس اکسیداتیو در شرایط آزمایشگاهی، فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد قوی داشتند مطالعات *in vivo* و *in vitro* نشان داد که کروسین سطوح پلاسمایی لیپوپروتئین کم‌چگالی (LDL) اکسید شده را کاهش داده

عفونت‌ها در ایالات متحده و بسیاری از کشورهای اروپای غربی می‌شوند (۱). نارسایی حاد کبدی می‌تواند پیامد علل مختلف باشد که بیشتر موارد ناشی از سمیت کبدی ناشی از دارو در کشورهای غربی است. باوجود پیشرفت در این زمینه، مدیریت نارسایی حاد کبد همچنان یکی از چالش‌برانگیزترین مشکلات در پزشکی بالینی است. در دسترس بودن مدل‌های تجربی کافی برای ارائه درک بهتر از این شرایط و امکان شناسایی اهداف دارویی جدید، همچنین آزمایش‌های اثربخشی مداخلات درمانی جدید برای ارزیابی سمیت کبد بسیار مهم است (۲). سمیت کبدی می‌تواند به‌طور تجربی توسط چندین ماده شیمیایی در داخل بدن و همچنین در شرایط آزمایشگاهی القاء شود، که همه آن‌ها جنبه‌های خاصی از نارسایی حاد کبد را در بیماران انسانی ایجاد می‌کنند. فرض بر این است که یافته‌های مکانیکی با استفاده از این مدل‌های تجربی می‌تواند به پاتوفیزیولوژی انسانی بیماری‌های کبدی کمک کرده و در نهایت منجر به درمان‌های جدید شوند. با این حال، درحالی‌که برخی از مدل‌ها از نزدیک، کل فرآیند مشاهده شده در بیماران را تقلید می‌کنند، مانند مدل موش سمیت کبدی APAP، مدل‌های دیگر فقط برخی از رویدادهای بیماری انسانی را شبیه‌سازی می‌کنند. اگرچه پیشرفت قابل توجهی در چند سال اخیر حاصل شده است، اما به‌وضوح نیاز به ارتقاء نگرش در مورد مکانیسم‌های مولکولی آسیب کبدی و مرگ سلولی در همه مدل‌های تجربی وجود دارد (۲).

لیپوپولی ساکاریدها (LPS) مولکول‌های بزرگ حاوی لیپید و پلی ساکارید هستند که در غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی یافت می‌شوند. فعالیت سمی LPS، که در ابتدا "اندوتوکسین" نامیده می‌شد، اولین بار در سال ۱۹۰۴ توسط باکتری‌شناس ریچارد فایفر که با رابرت کخ در برلین کار می‌کرد شناسایی شد. دومین سم غیر ترشحی (که اکنون LPS یا اندوتوکسین نامیده می‌شود) به نظر می‌رسد به سلول باکتری متصل است و تنها زمانی آزاد می‌شود که باکتری تحت لیز قرار گیرد. این دسته از ماکروآمفیفیل‌ها جزء غالب لایه بیرونی غشای باکتری هستند و از باکتری در برابر محیط محافظت می‌کنند و از ورود ترکیبات سمی جلوگیری می‌کنند. محققان به این نتیجه رسیدند که اثرات مشاهده شده به‌احتمال زیاد با انتشار فاکتورهای کبدی از سلول‌های تک‌هسته‌ای در حال نفوذ ایجاد می‌شود. یک سال بعد، گزارش شد که درمان هم‌زمان جوندگان با عامل کبدی-D گالاتوز آمین (D-GalN) به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منجر به افزایش چندین هزار برابری در حساسیت آن‌ها به اثرات کشنده LPS می‌شود، به‌احتمال زیاد توسط مهار سنتز ماکرو مولکول‌های مختلف که منجر به افزایش آسیب سلولی و مرگ سلولی می‌شود. به‌خوبی شناخته شده است که این قند آمینه توسط سلول‌های کبدی متابولیزه می‌شود، باعث آسیب

وزارت بهداشت ایران و با نظارت کمیته مربوطه دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۹ انجام گردید. پس از گذشت یک هفته جهت سازش موش‌ها، در ابتدا برای تعیین مقدار دارو، موش‌ها را وزن کرده و مقدار مصرفی لیپوپولی ساکارید/دی‌گالاکتوز آمین و کروسین برای گروه‌های موردنظر بر اساس وزن آن‌ها مشخص شد. گروه کنترل فقط حلال دارو را دریافت نمود. برای القاء آسیب کبدی، از لیپوپولی ساکارید به میزان ۵۰ میکروگرم بر کیلوگرم و دی‌گالاکتوز آمین به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم حل شده در نرمال سالین به صورت داخل صفاقی استفاده شد. کروسین حل شده در آب مقطر به صورت خوراکی با استفاده از گاواژ و به میزان ۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از ۳ روز قبل از تزریق لیپوپولی ساکارید-دی‌گالاکتوز آمین و به‌طور روزانه تا ۱ ساعت قبل از تزریق لیپوپولی ساکارید-دی‌گالاکتوز آمین تجویز شد (۵). بعد از ۲۴ ساعت، با حفظ شرایط اخلاقی، موش‌ها را با دوز بالای کتامین (۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گزیلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به فرم داخل صفاقی بی‌هوش کرده و بافت کبد سریعاً برای سنجش‌های بیوشیمیایی جداسازی گردید و پس از ۲ بار شستشو در نرمال سالین سرد به فریزر -۷۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

تهیه هموژنه بافتی:

هموژنه‌ی بافتی ۱۰ درصد کبدی در بافر تریس هیدروکلراید ۱۵۰ میلی مولار تهیه شد. برای هموژنه نمودن از دستگاه میگروهومونیزه کننده (ایکا، آلمان) در سرما و دور ۵۰۰۰ rpm به مدت یک دقیقه استفاده شد. هموژنه به‌دست‌آمده با حفظ زنجیره‌ی سرمایی به سانتریفیوژ یخچال دار منتقل گردید و با دور ۷۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس سوپرناتانت حاصل به‌وسیله‌ی سمپلر از رسوبات جدا شده و به درون میکروتیوب انتقال داده شد.

سنجش MDA:MDA به‌عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی معرفی می‌شود. همچنین از خانواده‌ی شاخص‌های استرس اکسیداتیو دسته‌بندی می‌شود. برای سنجش MDA از کیت سنجش اختصاصی آن (سیگما آلدریج، آمریکا) استفاده شد. این کیت بر اساس واکنش با تیوباربیتریک اسید (TBA) است. مالون دی‌آلدئید (MDA) پس از واکنش با تیوباربیتریک اسید در دمای جوش باعث به وجود آمدن رنگ صورتی می‌شود که با حداکثر جذب نوری در طول موج ۵۳۲ نانومتر می‌توان آن را در اسپکتروفوتومتر موردبررسی قرارداد. برای این سنجش، به محلول معرف نیاز است که این محلول شامل ۱ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) ۲۰٪ و ۱ میلی‌لیتر تیوباربیتریک اسید ۱٪ است. ۲ میلی‌لیتر از این معرف با ۱۰۰ میکرولیتر نمونه‌ی سانتریفیوژ شده مخلوط شد. محلول‌های به‌دست‌آمده به مدت ۸۰ دقیقه در بن ماری آب جوش

و اثر آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهد. مهار پراکسیداسیون لیپیدی؛ فعالیت گلوتاتیون S-ترانسفرازها (GSTs)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، کاتالاز، و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) را افزایش داد. و آریل هیدروکربن هیدروکسیلاز (AHH)، لاکتات دهیدروژناز (LDH)، گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT) و آدنوزین دامیناز (ADA) کاهش یافت. کروسین سطح گلوتاتیون (GSH) را در موش‌های دیابتی و غیر دیابتی کاهش داد. اثر هم‌افزایی تمام اجزای زیست فعال گزارش شده است که به‌طور قابل توجهی در پتانسیل آنتی‌اکسیدانی زعفران نقش دارد. امروزه داروهای گیاهی به علت مناسب بودن قیمت و عوارض جانبی کمتر برای درمان بیماری‌ها بیشتر موردتوجه هستند. کروسین و کروسین کاروتنوئیدهای طبیعی ارزشمندی هستند که اثرات فارماکولوژیک گسترده‌ای دارند. تحقیقات زیادی بر روی خواص بیولوژیکی و فارماکولوژیک آن‌ها متمرکز شده است، اما خواص فارماکولوژیک هر دو عامل، به‌ویژه کروسین، مستحق تحقیقات بیشتر است زیرا مهم‌ترین ماده تشکیل‌دهنده و کنترل استاندارد زعفران است (۴). بعلاوه، گزارش تحقیقاتی در مورد اثربخشی کروسین در مدل آسیب کبدی القا شده با لیپوپولی ساکارید و دی‌گالاکتوز آمین یافت نمی‌شود. لذا هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر حفاظتی کروسین بر بافت کبد القاء شده با ترکیب لیپوپولی ساکارید و دی‌گالاکتوز آمین در موش آزمایشگاهی نر بود.

مواد و روش کار

گروه‌های مورد آزمایش:

در این مطالعه‌ی پژوهشی تعداد ۲۸ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد C57BL/6 به وزن ۲۴-۲۰ گرم از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه بقیه ا... تهران خریداری گردید. موش‌ها سپس با حفظ شرایط ایمنی و دمای مناسب، به مرکز مطالعات حیوانی دانشگاه شاهد انتقال داده شدند. در ادامه به‌طور تصادفی به ۴ گروه کنترل، آسیب کبدی، و دو گروه آسیب کبدی پیش‌درمان شده با کروسین در دوزهای ۵۰ یا ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. موش‌ها در شرایط مناسب و دمای طبیعی $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ، رطوبت ۴۵-۴۰٪ و رعایت سیکل تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. آب و غذای استاندارد بدون اعمال هیچ‌گونه محدودیتی در اختیارشان قرار داده شد.

مراحل انجام کار:

این اثر پژوهشی با شناسه اخلاق IR.Shahed.REC.1397.82 مصوب کمیته ملی اخلاق وزارت بهداشت و دانشگاه شاهد تصویب شد. کلیه مراحل انجام این مطالعه با پیروی از قوانین مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی مصوب

میکرولیتر سوبسترای HRP حاوی تترامتیل بنزیدین و آب اکسیژنه اضافه شد و در درجه حرارت اتاق به مدت ۵ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. سپس ۷۵ میکرولیتر محلول Stop (اسیدسولفوریک ۰/۱۸ مولار) اضافه شد تا رنگ زرد ظاهر شود و نهایتاً جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط میکروپلیت ریدر خوانده شد و غلظت ماده با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد.

سنجش MPO: سنجش فعالیت MPO به عنوان شاخصی از انفیلتراسیون نوتروفیلی شناخته می‌شود. در این روش از سوپرناتانت هموژنه‌ی بافت کبد استفاده شد. در این روش هموژنه به مدت ۲۰ دقیقه با ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس نمونه‌ها را در اتاق تاریک با آب اکسیژنه و تترامتیل بنزیدین (TMB) در دمای ۳۷°C در مدت ۵ دقیقه مخلوط گردید. سپس برای اتمام واکنش H₂SO₄ اضافه شد و در اسپکتروفتومتر میزان جذب آن در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شد (۶).

آزمایشات بیوشیمیایی خون:

خون‌هایی که از موش‌ها در پایان کار گرفته شد، در لوله‌های آزمایش ریخته شد و اجازه داده شد تا روند انعقاد کامل شود. بعد از گذشت ۲۰ دقیقه لوله‌های حاوی خون لخته شده در سانتریفیوژ قرار داده شد (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) تا سرم به‌طور کامل جدا شود. در نهایت سرم مربوط به هر موش سریعاً در میکروتیوب جداگانه ریخته شده و به فریزر -۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل گردید. در این مطالعه مارکرهای سرمی مربوط به عملکرد کبد شامل ALT, AST و ALP با استفاده از کیت‌های اختصاصی شرکت پارس آزمون (تهران، ایران) و بر اساس دستورالعمل آن‌ها مورد سنجش قرار گرفتند.

یافته‌ها

نتایج آنالیز شاخص‌های التهابی و استرس اکسیداتیو در

بافت کبد:

نتایج سنجش MDA:

طبق نمودار A-۱ با اندازه‌گیری میزان MDA به‌عنوان شاخص معتبر استرس اکسیداتیو در بافت کبد در گروه‌های مختلف مشخص شد که در گروه LPS/D-Gal یک افزایش معنی‌دار MDA در مقایسه با گروه کنترل اتفاق افتاد ($p < 0.001$). به‌علاوه همین افزایش معنی‌دار MDA در بافت کبد در گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 50 mg/kg نسبت به گروه کنترل در حد کمتری به دست آمد ($p < 0.01$). ضمن این‌که در گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 200 mg/kg نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌دار در حد ($p < 0.05$) بود. از طرف دیگر می‌توان گفت MDA در گروه LPS/D-Gal دریافت‌کننده کروسین

قرار داده شد تا واکنش مذکور رخ دهد. بعد از طی شدن مرحله‌ی استراحت در آب جوش، آن‌ها خارج شدند و پس از رسیدن به دمای محیط نمونه‌ها به یک لوله‌ی آزمایش منتقل گردید و به مدت ۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس به درون چاهک‌های میکروپلیت ریخته و به پلیت ریدر منتقل گردید و جذب آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. در نهایت بر اساس منحنی استاندارد که بر مبنای رقت‌های تترانوکسی پروپان رسم شده بود مقدار ماده تعیین شد.

سنجش SOD: برای سنجش میزان فعالیت سوپراکسید دسموتاز که یک آنزیم آنتی‌اکسیدانت درشت مولکول محسوب می‌شود، از محلولی شامل گزانتین-گزانتین اکسیداز (سیگما آلدریج، آمریکا) در بافر پتاسیم فسفات و نیتروبلوتترازولیوم (NBT) (سیگما آلدریج، آمریکا) استفاده شد. دلیل استفاده از این محلول این است که اساس این روش برای اندازه‌گیری مهار احیای NBT توسط سیستم گزانتین-گزانتین اکسیداز به‌عنوان تولیدکننده سوپراکسید می‌باشد. پس از انجام روش فوق جذب نوری نمونه‌ها را در طول موج ۵۵۰ نانومتر به مدت ۵ دقیقه هر ۳۰ ثانیه یک‌بار خوانده شدند. سپس با استفاده از فرمول، در صد مهار محاسبه شد و نهایتاً فعالیت آنزیم به دست آمد (۶).

سنجش کاتالاز: اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با روش اسپکتروفوتومتری در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام شد. در این روش، آنزیم کاتالاز موجود در نمونه با تجزیه پراکسید هیدروژن سبب کاهش جذب این ماده در طول موج ۲۴۰ نانومتر می‌شود و از تفاوت جذب در واحد زمان، فعالیت آنزیم اندازه‌گیری می‌شود. بر طبق تعریف، یک واحد کاتالاز مقدار آنزیمی است که موجب تجزیه یک میکرومول H₂O₂ در مدت یک دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد شود (۶).

سنجش TNF- α : مراحل این کار بر اساس دستورالعمل شرکت Abcam به ترتیب و شرح زیر انجام شد:

۷۵ میکرولیتر از آنتی‌بادی اولیه علیه فاکتورهای موردنظر ایجاد شده در خرگوش با رقت مناسب که در بافر PBS (pH=7.4) حل شده بود به ۷۵ میکرولیتر بافر پوشش‌دهنده (Coating Buffer) به چاهک‌های میکروپلیت اضافه شد و در درجه‌ی حرارت ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک‌شب باقی ماند. سه بار شست‌وشوی چاهک‌ها با بافر PBS انجام شده سپس ۱۰۰ میکرولیتر سوپرناتانت به چاهک‌ها اضافه شده و به مدت یک شب در درجه حرارت ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از سه بار شست‌وشوی چاهک‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی ثانویه‌ی کوئزوگه‌ی تولید شده در بز متصل به آنزیم HRP با غلظت مناسب به چاهک‌ها اضافه شده و در دمای اتاق به مدت ۲ ساعت نگهداری شد. در مرحله بعد، ۷۵

کنترل به دست آمد ($p < 0.001$). در مقابل، در گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 200 mg/kg نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌دار در حد کمتر به دست آمد ($p > 0.05$). از طرف دیگر می‌توان گفت TNF α در همین گروه یک کاهش معنی‌دار در حد کمتری در مقایسه با گروه LPS/D-Gal نشان داد ($p < 0.05$) که این نشان‌دهنده‌ی کاهش نسبی التهاب در این گروه است.

نتایج سنجش MPO:

طبق نمودار E-1 با اندازه‌گیری میزان MPO به‌عنوان شاخص معتبر انفیلتراسیون نوتروفیلی در بافت کبد در گروه‌های مختلف مشخص شد که در گروه LPS/D-Gal یک افزایش معنی‌دار MPO در مقایسه با گروه کنترل اتفاق می‌افتد ($p < 0.001$). به‌علاوه همین افزایش معنی‌دار MPO در بافت کبد گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 50 mg/kg نسبت به گروه کنترل در حد کمتر به دست آمد ($p < 0.01$). همچنین افزایش MPO در گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 200 mg/kg نسبت به گروه کنترل با معنی‌داری کمتری رخ داد ($p < 0.05$). از طرف دیگر می‌توان گفت MPO در گروه LPS/D-Gal دریافت‌کننده‌ی کروسین به میزان دوز 200 mg/kg یک کاهش تا حدی معنی‌دار در مقایسه با گروه LPS/D-Gal نشان داد ($p < 0.05$) که این نشان‌دهنده‌ی کاهش انفیلتراسیون نوتروفیلی توسط کروسین با دوز 200 mg/kg است.

نتایج سنجش سرمی پارامترهای کبد:

نتایج سنجش AST:

طبق نمودار A-2 با اندازه‌گیری میزان AST به‌عنوان شاخص معتبر عملکرد کبد در گروه‌های مختلف مشخص شد که در گروه LPS/D-Gal یک افزایش بارز و معنی‌دار AST در مقایسه با گروه کنترل اتفاق افتاد ($p < 0.001$). به‌علاوه همین افزایش معنی‌دار در بافت کبد در گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 50 mg/kg نسبت به گروه کنترل به دست آمد ($p < 0.001$). همچنین افزایش AST در گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 200 mg/kg نسبت به گروه کنترل در همین حد مشاهده شد ($p < 0.001$). از طرف دیگر AST در گروه LPS/D-Gal دریافت‌کننده‌ی کروسین به میزان دوز 200 mg/kg یک کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروه LPS/D-Gal نشان داد ($p < 0.01$) که این نشان‌دهنده‌ی کاهش شدت التهاب در گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین 200 mg/kg است.

نتایج سنجش ALT:

طبق نمودار B-2 با اندازه‌گیری میزان ALT به‌عنوان شاخص معتبر عملکرد کبد در گروه‌های مختلف مشخص شد که در گروه LPS/D-Gal یک افزایش بارز و معنی‌دار ALT در مقایسه با گروه

به میزان دوز 200 mg/kg در مقایسه با گروه LPS/D-Gal کاهش معنی‌دار در حد ($p < 0.05$) داشت که این نشان‌دهنده‌ی آن است که کروسین با میزان دوز 200 mg/kg تا حدی باعث کاهش MDA به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو در بافت کبد شد.

نتایج سنجش SOD:

طبق نمودار B-1 با اندازه‌گیری میزان SOD به‌عنوان شاخص معتبر آنتی‌اکسیدانی در بافت کبد در گروه‌های مختلف مشخص شد که در گروه LPS/D-Gal یک کاهش بارز معنی‌دار SOD در مقایسه با گروه کنترل اتفاق می‌افتد ($p < 0.001$). به‌علاوه همین کاهش معنی‌دار SOD در بافت کبد گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 50 mg/kg نسبت به گروه کنترل به دست آمد ($p < 0.001$). همچنین کاهش SOD در گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 200 mg/kg نسبت به گروه کنترل در حد کمتر مشاهده شد ($p < 0.05$). از طرف دیگر می‌توان گفت SOD در گروه LPS/D-Gal دریافت‌کننده‌ی کروسین به میزان دوز 200 mg/kg افزایش معنی‌دار در حد کم در مقایسه با گروه LPS/D-Gal نشان داد ($p < 0.05$) که این نشان‌دهنده‌ی کاهش استرس اکسیداتیو تا حدی در این گروه است.

نتایج سنجش Cat:

طبق نمودار C-1 با اندازه‌گیری میزان کاتالاز به‌عنوان شاخص معتبر آنتی‌اکسیدانی در بافت کبد در گروه‌های مختلف مشخص شد که در گروه LPS/D-Gal یک کاهش معنی‌دار کاتالاز در مقایسه با گروه کنترل اتفاق افتاد ($p < 0.001$). به‌علاوه، همین کاهش معنی‌دار کاتالاز در بافت کبد گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 50 mg/kg نسبت به گروه کنترل به دست آمد ($p < 0.001$). ضمن این‌که در گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 200 mg/kg تغییر معنی‌دار کاتالاز در بافت کبد در مقایسه با گروه کنترل در حد کمتری به دست آمد ($p < 0.05$). از طرف دیگر می‌توان گفت کاتالاز در گروه‌های LPS/D-Gal دریافت‌کننده‌ی کروسین در هر دو دوز نسبت به گروه LPS/D-Gal تغییر معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$) که این نشان‌دهنده‌ی ضعیف بودن کروسین در افزایش میزان کاتالاز در گروه‌های آسیب دیده است.

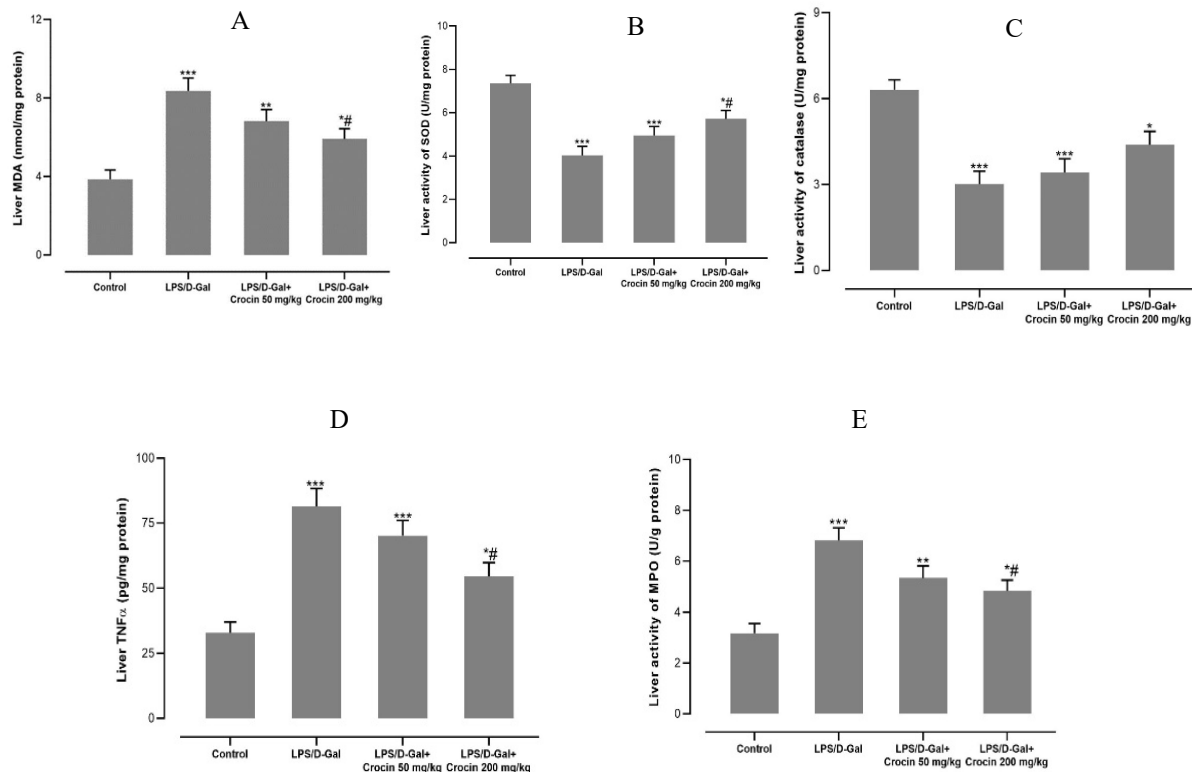
نتایج سنجش TNF- α :

طبق نمودار D-1 با اندازه‌گیری میزان TNF α به‌عنوان شاخص معتبر التهاب در بافت کبد در گروه‌های مختلف مشخص شد که در گروه LPS/D-Gal یک افزایش معنی‌دار قابل‌توجه TNF α در مقایسه با گروه کنترل اتفاق افتاد ($p < 0.001$). به‌علاوه همین افزایش معنی‌دار TNF α در بافت کبد در گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 50 mg/kg نسبت به گروه

طبق نمودار C-2 با اندازه گیری میزان ALP به عنوان شاخص معتبر عملکرد کبد در گروه های مختلف مشخص شد که در گروه LPS/D-Gal یک افزایش بارز و معنی دار ALP در مقایسه با گروه کنترل اتفاق افتاد ($p < 0.001$). به علاوه همین افزایش معنی دار ALP در بافت کبد در گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 50 mg/kg نسبت به گروه کنترل به دست آمد ($p < 0.001$). همچنین افزایش ALP در گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 200 mg/kg نسبت به گروه کنترل در همین حد مشاهده شد ($p < 0.001$). از طرف دیگر ALP در گروه LPS/D-Gal دریافت کننده کروسین به میزان دوز 200 mg/kg یک کاهش معنی دار در مقایسه با گروه LPS/D-Gal نشان داد ($p < 0.01$) که این نشان دهنده کاهش شدت التهاب در گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 200 mg/kg است.

کنترل اتفاق افتاد ($p < 0.001$). به علاوه همین افزایش معنی دار ALT در بافت کبد در گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 50 mg/kg نسبت به گروه کنترل به دست آمد ($p < 0.001$). همچنین افزایش ALT در گروه LPS/D-Gal تیمار شده با کروسین به میزان دوز 200 mg/kg نسبت به گروه کنترل در همین حد مشاهده شد ($p < 0.001$). از طرف دیگر ALT در گروه LPS/D-Gal دریافت کننده کروسین به میزان دوز 50 mg/kg یک کاهش معنی دار در مقایسه با گروه LPS/D-Gal نشان داد ($p < 0.05$). به علاوه در گروه LPS/D-Gal دریافت کننده کروسین به میزان دوز 200 mg/kg یک کاهش معنی دار در مقایسه با گروه LPS/D-Gal به دست آمد که این نشان دهنده کاهش شدت التهاب در گروه های تیمار شده با کروسین به خصوص به میزان دوز 200 mg/kg است ($p < 0.01$).

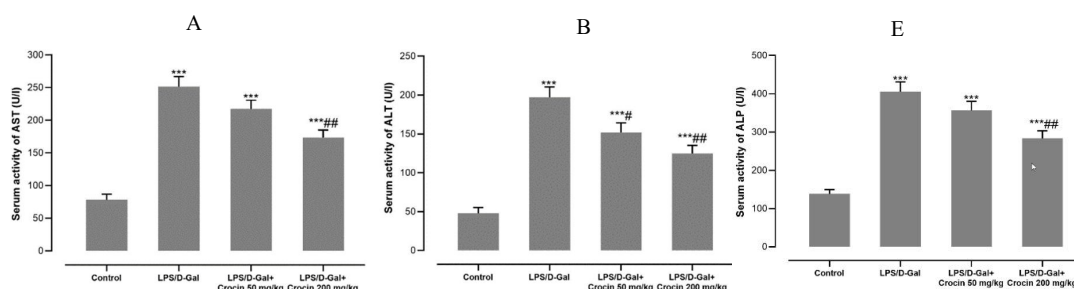
نتایج سنجش ALP:



نمودار (1): نتایج سنجش شاخص های استرس اکسیداتیو و التهاب در گروه های مورد آزمایش: کنترل، LPS/D-Gal با دوز 50 microg/kg+400 mg/kg، تحت تیمار با کروسین در دوزهای 50, 200 mg/kg. A-سنجش MDA، B-سنجش SOD، C-سنجش کاتالاز.

D-سنجش TNF-α، E-سنجش MPO

$P < 0.05$ مقایسه با گروه LPS/D-Gal. × $p < 0.05$ مقایسه با گروه کنترل. ×× $p < 0.01$ مقایسه با گروه کنترل. ××× $p < 0.001$ مقایسه با گروه کنترل



نمودار (۲): نتایج سنجش پارامترهای کبدی در گروه‌های مورد آزمایش: کنترل، LPS/D-Gal با دوز (50 microg/kg+400 mg/kg).

تحت تیمار با کروسین در دوزهای 50,200 mg/kg. A-سنجش AST. B-سنجش ALT. C-سنجش ALP

P<0.05 = مقایسه با گروه LPS/D-Gal. ## P<0.01 = مقایسه با گروه LPS/D-Gal. ### P<0.001 = مقایسه با گروه کنترل

بحث و نتیجه‌گیری

پتروستیلین در برابر آسیب کبدی ناشی از LPS/D-Gal را بررسی کردند. در این مطالعه LPS/D-Gal با افزایش انفیلتراسیون نوتروفیلی، IL-6، IL-1 β ، همچنین افزایش سطوح سرمی AST، ALT و ALP باعث آسیب حاد کبد شد (۱۰). این نتایج از یافته‌های ما پشتیبانی می‌کند. در مطالعه‌ای که Xia Wang و همکاران در سال ۲۰۲۲ انجام دادند، اثر مهارکننده دی متیلاز اختصاصی لیزین بر کاهش آسیب کبدی ناشی از LPS/D0Gal را بررسی کردند. در این مطالعه LPS/D-Gal با افزایش فسفریلاسیون LSD1 و هیستون H3 دی متیله بر بیان پروتئین لیزین ۴، باعث فعال شدن مسیر سیگنالینگ التهاب شده و با افزایش AST، ALT، TNF- α ، IL-6 و IL-1 β آسیب کبد را نمایان کرد (۱۱). یافته‌های ما با این نتایج نیز هم‌راستا است. برای حفاظت از کبد و جلوگیری از آسیب آن در برابر LPS/D-Gal تحقیقات زیادی صورت گرفته و از مواد مختلفی استفاده شده و اثرات هر کدام مورد بررسی قرار گرفته است. در مطالعه حاضر از کروسین به‌عنوان ماده محافظت‌کننده از کبد در دوز ۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در ۲ گروه آسیب‌دیده با LPS/D-Gal استفاده شد. کروسین توانست با افزایش SOD، همچنین کاهش ALT، AST، MPO، TNF- α ، MDA و ALP نسبت به گروه LPS/D-Gal اثرات ضد التهابی از خود نشان دهد. تغییرات Cat در هیچ‌کدام از گروه‌های تحت تیمار با کروسین معنی‌دار نبود. در مطالعه‌ای که Li Luo و همکاران در سال ۲۰۱۹ انجام دادند اثر کروسین بر کبد چرب در شرایط دیابتی و چاقی در موش‌های db/db را بررسی کردند. در این تحقیق کروسین به‌طور قابل‌توجهی فسفریلاسیون AMPK را افزایش و فسفریلاسیون mTOR در کبد را کاهش داد. کروسین از طریق فعال‌سازی AMPK لیپوژنز را مهار و اکسیداسیون اسیدهای چرب بتا را تقویت نموده منجر به بهبود کبد چرب شد. کروسین به‌علاوه باعث کاهش وزن کبد، کاهش سطوح سرمی ALT، AST و ALP و نیز محتوای

نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق در گروه‌های مختلف نشان داد که LPS/D-Gal باعث افزایش معنی‌دار شاخص استرس اکسیداتیو MDA، MPO، TNF- α و نیز شاخص‌های عملکرد کبد یعنی ALT، AST و ALP همچنین کاهش شاخص‌های آنتی‌اکسیدان Cat و SOD در گروه LPS/D-Gal نسبت به گروه کنترل شد. در مطالعه‌ای که Long Li و همکاران در سال ۲۰۱۸ انجام دادند نقش حفاظتی پودارین بر آسیب کبدی ناشی از LPS/D-Gal را بررسی کردند. در این مطالعه LPS/D-Gal توانست با افزایش سطح پلاسمایی ALT و AST و نیز تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی باعث آپوپتوز سلول‌های کبدی شود (۷). این نتایج از یافته‌های تحقیق ما پشتیبانی می‌کند. در مطالعه‌ای که Aiyun Liu و همکاران در سال ۲۰۱۸ انجام دادند، اثر حفاظتی اسکولین بر آسیب کبدی ناشی از LPS/D-Gal را بررسی کردند. در این مطالعه LPS/D-Gal با فعال‌سازی NF-kB، کاهش بیان فاکتور ۲ مرتبط با Nrf2 و افزایش هم‌اکسیناز ۱ (HO-1)، باعث ایجاد پاسخ‌های التهابی و اکسیداتیو در کبد شده و آن پاسخ‌های التهابی را به‌صورت افزایش مقادیر IL-1 β ، MDA، MPO، TNF- α و ALT، AST نشان داد (۸) که با یافته‌های تحقیق ما هم‌راستا است. در مطالعه‌ای که محمدی زارچ و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام دادند، اثر حفاظتی دیوسجینین بر آسیب کبدی ناشی از LPS/D-Gal را در موش‌های C57BL/6 را بررسی کردند. در این مطالعه LPS/D-Gal با فعال‌سازی NF-kB و تولید ROS باعث ایجاد التهاب و افزایش سطح سرمی ALT، AST، ALP، همچنین کاهش SOD، TNF- α ، IL-1 β ، IL-6، Nitrit، MDA و نیز کاهش کاتالاز و SOD و در ادامه باعث آسیب بافت کبدی گردید (۹). نتایج حاصل از تحقیق ما با این تحقیق نیز هم‌راستا است. در مطالعه‌ای که Ziyi Liu و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام دادند، اثرات حفاظتی

kB تأیید کرد (۱۴). در مطالعه‌ای که Wala A-Rashad و همکاران در سال ۲۰۲۲ انجام دادند، مقایسه اثر کروسین خوراکی و تزریقی در کاهش آسیب ریه ناشی از آکرولئین در موش صحرایی آلبینو را بررسی کردند. در این تحقیق کروسین تزریقی با تغییر بیان مارکرهای آپوپتوز در برابر آکرولئین، از خود خاصیت آنتی آپوپتوتیک نشان داده همچنین باعث کاهش استرس اکسیداتیو و بیومارکرهای التهابی و ارتشاح و آدم ریه در مقایسه با کروسین خوراکی در برابر آکرولئین شد (۱۵). نتایج این تحقیق یافته‌های ما را پشتیبانی می‌کند.

از محدودیت‌های این مطالعه عدم وجود گروه کنترل مثبت بود که برای مقایسه نتایج گروه آسیب کبدی و درمان شده با کروسین نسبت به آن لازم بود. همچنین، عدم وجود مطالعات بافت شناسی کبد از دیگر محدودیت‌های این مطالعه بود که انجام آن در مطالعات آینده در این حوزه پیشنهاد می‌گردد.

با توجه به نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر می‌توان گفت کروسین با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی خود توانست با کاهش شاخص‌های استرس اکسیداتیو و التهاب و نیز افزایش شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی از اختلال عملکردی کبد ناشی از LPS/D-Gal جلوگیری کند.

تری گلیسرید کبد شد (۱۲). نتایج این تحقیق از یافته‌های ما پشتیبانی می‌کند. در مطالعه‌ای که Fei Wang و همکاران در سال ۲۰۲۲ انجام دادند، نقش محافظتی کروسین در آسیب مغزی ناشی از خونریزی مغزی را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که کروسین با افزایش غلظت Fe^{2+} و بیان $SLC7AM$, $FTH1$, $GPX4$ و افزایش بیان و تسهیل انتقال هسته‌ای $Nrf2$ باعث افزایش SOD و گلوکاتایون و نیز کاهش MDA شده، فروپتوز عصبی ناشی از خونریزی داخل مغزی را کاهش داد (۱۳). نتیجه تحقیق ما در جهت کاهش MDA در گروه‌های تحت درمان با کروسین با این تحقیق هم‌راستا است. در مطالعه‌ای که Manar Ei Tabaa و همکاران در سال ۲۰۲۲ انجام دادند، اثر محافظت عصبی کروسین در برابر اختلالات شناختی ناشی از سیگار کشیدن به واسطه GLP_1 را بررسی کردند. در این تحقیق کروسین از طریق افزایش سطح و بیان GLP_1 ، شاخص $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ را سرکوب کرده، التهاب عصبی ناشی از سیگار کشیدن را کاهش داد. کروسین با کاهش MDA و افزایش TAC با استرس اکسیداتیو ناشی از سیگار کشیدن مقابله کرد و با کاهش نسبت Bax/Bcl_2 در ناحیه CA_2 هیپوکامپ، آپوپتوز عصبی را کاهش داد. این یافته‌ها عمل محافظت عصبی کروسین به واسطه GLP_1 را از طریق سرکوب محور $HMGB1$ -RAGE/TLR4-NF-

References:

- Bernal W, Wendon J. Acute liver failure. *N Engl J Med* 2013;369(26):2525-34.
- Maes M, Vinken M, Jaeschke H. Experimental models of hepatotoxicity related to acute liver failure. *Toxicol Appl Pharmacol* 2016;290:86-97.
- Hamesch K, Borkham-Kamphorst E, Strnad P, Weiskirchen R. Lipopolysaccharide-induced inflammatory liver injury in mice. *Lab Anim* 2015;49(1_suppl):37-46.
- Xi L, Qian Z. Pharmacological Properties of Crocetin and Crocin (Digentiobiosyl Ester of Crocetin) from Saffron. *Nat Prod Commun* 2006;1(1):1934578X0600100112.
- Černý D, Lekić N, Váňová K, Muchová L, Hořínek A, Kmoníčková E, et al. Hepatoprotective effect of curcumin in lipopolysaccharide/galactosamine model of liver injury in rats: relationship to HO-1/CO antioxidant system. *Fitoterapia* 2011;82(5):786-91.
- Binesh A, Devaraj SN, Halagowder D. Atherogenic diet induced lipid accumulation induced NFκB level in heart, liver and brain of Wistar rat and diosgenin as an anti-inflammatory agent. *Life Sci* 2018;196:28-37.
- Li L, Yin H, Zhao Y, Zhang X, Duan C, Liu J, et al. Protective role of puerarin on LPS/D-Gal induced acute liver injury via restoring autophagy. *Am J Transl Res* 2018;10(3):957.
- Liu A, Shen Y, Du Y, Chen J, Pei F, Fu W, et al. Esculin prevents lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury in mice. *Microb Pathog* 2018;125:418-22.
- Mohamadi-Zarch S-M, Baluchnejadmojarad T, Nourabadi D, Khanizadeh AM, Roghani M. Protective effect of diosgenin on LPS/D-Gal-induced acute liver failure in C57BL/6 mice. *Microb Pathog* 2020;146:104243.
- Liu Z, Wang J, Zhang Y, Wu D, Li S, Jiang A, et al. Pterostilbene exerts hepatoprotective effects

- through ameliorating LPS/D-Gal-induced acute liver injury in mice. *Inflammation* 2021;44(2):526-35.
11. Wang X, Sun Y, Fu Y, Wu H, Chen Y, Ye Y, et al. Lysine specific demethylase 1 inhibitor alleviated lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury. *Eur J Pharmacol* 2022;175227.
12. Luo L, Fang K, Dan X, Gu M. Crocin ameliorates hepatic steatosis through activation of AMPK signaling in db/db mice. *Lipids Health Dis* 2019;18(1):1-9.
13. Wang F, Li W-l, Shen L-j, Jiang T-t, Xia J-j, You D-l, et al. Crocin Alleviates Intracerebral Hemorrhage-Induced Neuronal Ferroptosis by Facilitating Nrf2 Nuclear Translocation. *Neurotox Res* 2022;40(2):596-604.
14. El Tabaa MM, El Tabaa MM, Anis A, Elgharabawy RM, El-Borai NB. GLP-1 mediates the neuroprotective action of crocin against cigarette smoking-induced cognitive disorders via suppressing HMGB1-RAGE/TLR4-NF- κ B pathway. *Int Immunopharmacol* 2022;110:108995.
15. Rashad WA, Sakr S, Domouky AM. Comparative study of oral versus parenteral crocin in mitigating acrolein-induced lung injury in albino rats. *Sci Rep* 2022;12(1):1-12.

THE EFFECT OF CROCIN ON LIVER DYSFUNCTION INDUCED BY LIPOPOLYSACCHARIDE/D-GALACTOSAMINE IN MALE MOUSE

Amirreza Naseri¹, Mohsen Khalili², Narges Haddadzadeh-Niri³, Mehrdad Roghani^{4*}

Received: 11 September, 2022; Accepted: 21 May, 2023

Abstract

Background & Aim: Acute liver injury is a fatal syndrome that causes rapid loss of liver function. Crocin is the active ingredient of saffron with antioxidant, protective and anti-apoptotic properties. In this study, the protective effect of crocin was evaluated on the liver dysfunction in male laboratory mice.

Materials & Methods: In this experimental study, 28 male mice (20-24 g) were divided into control, liver damage, and two groups treated with crocin at doses of 50 or 200 mg/kg. Liver damage was caused by the injection of lipopolysaccharide/D-galactosamine with doses of 50 microg/kg and 400 mg/kg, respectively. Crocin dissolved in distilled water was fed by gavage at 50 or 200 mg/kg, starting 3 days before and up to 1 hour before injury induction. 24 hours after injury induction, the mice were anesthetized with a mixture of 120 mg/kg ketamine and 10 mg/kg xylazine, and sacrificed in compliance with ethical rules after taking a blood sample from their hearts. Liver markers including MDA, SOD, Cat, MPO, and TNF- α were measured. Data was analyzed with GraphPad Prism 9.3 software using one-way ANOVA and Tukey's post hoc tests with significance level set at $p < 0.05$.

Results: Administration of crocin decreased serum levels of liver markers MDA, MPO, and TNF- α and increased SOD in crocin-treated groups as compared to the LPS/D-Gal group ($p < 0.05$); Cat change was not significant ($p > 0.05$).

Conclusion: Crocin with strong antioxidant activity was able to reduce liver dysfunction by reducing oxidative stress and inflammation.

Keywords: Acute Liver Damage, Crocin, Inflammation, Lipopolysaccharide, Oxidative Stress

Address: Neurophysiology Research Center, Shahid University, Tehran, Iran

Tel: +989121794950

Email: mehjour@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2023; 34(1): 34 ISSN: 2717-008X

Copyright © 2023 Studies in Medical Sciences

This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

¹ Medical student, School of Medicine, Shahid University, Tehran, Iran

² Professor of Physiology, Neurophysiology Research Center, Shahid University, Tehran, Iran

³ Department of physiology, School of Medicine, Shahid University, Tehran, Iran

⁴ Professor of Physiology, Neurophysiology Research Center, Shahid University, Tehran, Iran (Corresponding Author)