

Effects of Safranal on Lipopolysaccharide-Induced Acute Kidney Injury in C57BL/6 Mice

Moein Farhang-Nasab¹

Parinaz Zare¹

Adel Salari²

Mehrdad Roghani³

¹ Professional Doctorate, Faculty of Medical Sciences, Shahed University, Tehran, Iran

² PhD in Animal Physiology, Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

³ Professor, Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

(Received September 13, 2025; Accepted November 16, 2025)

Abstract

Background and purpose: Oxidative stress is a major contributor to kidney injury and plays a critical role in the pathogenesis of acute kidney injury (AKI) by promoting ischemia-reperfusion damage. Experimental models of AKI often employ the induction of oxidative stress using lipopolysaccharide (LPS). Safranal, a principal bioactive component of saffron, exhibits potent antioxidant and anti-inflammatory activities. The present study aimed to evaluate the protective effects of safranal against LPS-induced AKI in mice.

Materials and methods: In this experimental study, 32 male C57BL/6 mice (19–24 g) were randomly assigned to four groups: control, LPS, and LPS-treated groups receiving safranal at doses of 0.05 or 0.2 ml/kg. AKI was induced by intraperitoneal administration of LPS (10 mg/kg). Safranal was administered orally twice, with the final dose given one hour prior to LPS injection. After 24 hours, animals were anesthetized, and blood and kidney samples were collected. Serum levels of albumin, creatinine, and blood urea nitrogen (BUN) were assessed. Renal oxidative stress markers, including malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase, and nitrite, were quantified using commercial assay kits.

Results: LPS administration significantly elevated MDA and nitrite levels while reducing SOD and catalase activities compared with the control group. Serum BUN and creatinine were also significantly increased in the LPS group, whereas albumin levels remained unchanged. Treatment with safranal at 0.2 ml/kg significantly enhanced SOD activity and decreased MDA levels compared with the LPS group. At this dose, safranal also reduced BUN and creatinine levels, indicating improved renal function, although it had no significant effect on nitrite, catalase, or albumin. In contrast, safranal at 0.05 ml/kg did not produce significant changes in oxidative stress markers or renal function.

Conclusion: The results of this study demonstrate that safranal, owing to its antioxidant properties, ameliorates kidney function in LPS-induced AKI.

Keywords: Safranal, antioxidant, acute kidney injury, C57BL/6 mice

J Mazandaran Univ Med Sci 2025; 35 (251): 3-14 (Persian).

Corresponding Author: Mehrdad Roghani – Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran
(E-mail: mroghani@shahed.ac.ir)

اثرات سافرانال بر آسیب حاد کلیوی القاء شده توسط تزریق LPS در موش C57BL/6

معین فرهنگ-نسب^۱پریناز زارع^۱عادل سالاری^۲مهرداد روغنی^۳

چکیده

سابقه و هدف: استرس اکسیداتیو نقش مهمی در آسیب‌های کلیوی دارد و با ایجاد ایسکمی‌ها و پرفیوژن‌های مجدد مکرر باعث ایجاد آسیب حاد کلیه (AKI) می‌شود. لیپوپلی ساکارید (LPS) از طریق القاء استرس اکسیداتیو مدل تجربی و معتبر AKI را ایجاد می‌کند. سافرانال یکی از ترکیبات موثر زعفران است که دارای اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی می‌باشد. این مطالعه با هدف بررسی اثرات سافرانال بر AKI القاء شده با LPS در موش، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر، ۳۲ سر موش نژاد C57BL/6 در محدوده وزنی ۱۹-۲۴ گرم به‌طور تصادفی به ۴ گروه کنترل، LPS و LPS تحت درمان با سافرانال در دوزهای ۰/۰۵ و ۰/۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم تقسیم شدند. مدل تجربی AKI، با تزریق داخل صفاقی LPS با دوز ۱۰ mg/kg ایجاد گردید. گروه‌های تحت درمان، سافرانال را در دو نوبت تا یک ساعت قبل از تزریق LPS به‌صورت خوراکی دریافت نمودند. یک روز بعد از تزریق LPS، موش‌ها به صورت عمیق بیهوش شده و سطوح سرمی آل‌بو‌مین، کراتینین و نیتروژن اوره خون (BUN) و همچنین شاخص‌های استرس اکسیداتیو بافت کلیه شامل مالون دی‌آلدهید (MDA)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز و نیتريت با استفاده از کیت‌های اختصاصی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: تزریق داخل صفاقی LPS موجب افزایش معنی‌دار MDA و نیتريت و کاهش معنی‌دار فعالیت SOD و کاتالاز نسبت به گروه کنترل گردید. همچنین مقادیر BUN و کراتینین در گروه LPS افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. درمان موش‌های آسیب دیده و تحت درمان با سافرانال در دوز ۰/۲ ml/kg موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم SOD، کاهش معنی‌دار مقادیر BUN، کراتینین و MDA در مقایسه با گروه LPS گردید.

استنتاج: سافرانال با خواص آنتی اکسیدانی موجب بهبود عملکرد بافت کلیه به دنبال AKI القاء شده با LPS می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: سافرانال، آنتی اکسیدان، آسیب حاد کلیه، موش C57BL/6

مؤلف مسئول: مهرداد روغنی - تهران، خیابان کارگر شمالی، ساختمان مراکز تحقیقاتی دانشگاه شاهد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی E-mail: m.roghani@shahed.ac.ir

۱. دکتری حرفه‌ای، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲. دکتری تخصصی فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۳. استاد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۶/۲۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۴/۶/۲۹ تاریخ تصویب: ۱۴۰۴/۸/۲۵

مقدمه

آسیب حاد کلیه (AKI) یک سندرم با علل متنوع است که با کاهش سریع عملکرد کلیه مشخص می‌شود. این عارضه اغلب ناشی از عفونت‌های شدید (سپسیس)، هیپوولمی شدید، ناپایداری همودینامیک و آسیب‌های نفروتوکسیک است. در AKI، اختلال همزمان در دفع مواد زائد نیتروژنی، تعادل مایعات، الکترولیت‌ها و اسید-باز مشاهده می‌شود که شدت و قابلیت بازگشت آن متغیر است. بروز AKI به دلیل پیشرفت در روش‌های تشخیصی، افزایش سن جمعیت و شیوع بیش‌تر بیماری‌های همزمان رو به افزایش است. عوامل مؤثر شامل تغییرات در مراقبت‌های پزشکی، مانند استفاده بیش‌تر از داروهای نفروتوکسیک، عوامل کتراست تصویربرداری و مصرف چند دارو به طور همزمان (پلی‌فارماسی) می‌باشند (۱). فیزیولوژی کلیه‌ها آن‌ها را در برابر آسیب‌های ایسکمیک و التهابی در شرایط حاد آسیب‌پذیر می‌کند. اگر چه به‌طور سنتی AKI به کاهش خون‌رسانی کلیوی در شرایط شوک نسبت داده می‌شد، شواهد اخیر مکانیسم‌های چند عاملی شامل تغییرات در خون‌رسانی منطقه‌ای، آسیب لوله‌ای و اندوتلیال، ترومبوز میکروواسکولار و فرایندهای التهابی را نشان داده‌اند (۲). امروزه AKI به عنوان یک شرایط التهابی شناخته می‌شود و واسطه‌های شناسایی شده آن اهداف بالقوه‌ای برای درمان ارائه می‌دهند. ابزارهای تشخیصی سنتی برای AKI شامل سطح کراتینین سرم، نیتروژن اوره خون (BUN)، حجم ادرار، آزمایش‌های ادراری و هیستولوژی کلیه است. با این حال، کراتینین سرم، علی‌رغم محدودیت‌های خود هم‌چون تأخیر در افزایش پس از آسیب کلیوی، حساسیت به توده عضلانی و تغییرپذیری در بیماری‌های کبدی یا مزمن کلیوی (CKD)، همچنان نشانگر اصلی تشخیصی محسوب می‌شود (۳). مقادیر BUN و حجم ادرار نیز از شاخص‌های مهم هستند، اما به عوامل غیر کلیوی نیز حساس هستند (۱). لیوپلی ساکاریدها (LPS)، اجزای غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی، نقش کلیدی در آغاز واکنش‌های التهابی دارند. این ترکیبات با آزاد

شدن در طی لیز باکتریایی، باعث فعال‌سازی قوی سیستم ایمنی شده و به التهاب سیستمیک منجر می‌شوند که در بیماری‌هایی همچون سپسیس، دیابت و آلزایمر نقش دارد (۴). پاسخ التهابی شامل تولید بیش‌ازحد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است که منجر به استرس اکسیداتیو و آسیب سلولی می‌شود. مدل‌های تجربی با استفاده از التهاب ناشی از LPS ابزار مهمی برای بررسی پاتوفیزیولوژی AKI و ارزیابی مداخلات درمانی بالقوه به شمار می‌روند (۵). این مطالعه به بررسی مکانیسم‌های مرتبط با التهاب ناشی از LPS و توسعه AKI با تمرکز بر استرس اکسیداتیو و تأثیر آن بر عملکرد کلیوی می‌پردازد. درک این مسیرها می‌تواند به توسعه درمان‌های هدفمند برای کاهش AKI و عوارض آن کمک کند.

زعفران گیاهی است با نام باستانی زرپران و نام علمی (*Crocus sativus L.*) که قسمت مورد استفاده این گیاه، انتهای خامه و کلاله سه شاخه است که به نام زعفران مشهور و دارای بوی معطر با طعم کمی تلخ است. بیش‌ترین انتشار جغرافیایی آن در ایران و در شهرستان قائنات می‌باشد (۶). سافرانال (Safranal) با فرمول شیمیایی $C_{15}H_{14}O$ اساس فرار زعفران و مسئول بو و عطر آن است که در اثر جدا شدن قند از پیکروکرو سین تولید می‌شود. غلظت این ترکیب پس از برداشت محصول و بسته به روش استفاده شده برای خشک کردن، تغییر می‌کند (۷). زعفران و ترکیبات آن شامل کرو سین، کروس تین و سافرانال اثرات از بین برنده رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان داشته‌اند. سافرانال یکی از مواد موثر گیاه زعفران است که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی و ضد رادیکال‌های آزاد می‌باشد. از طرف دیگر زعفران با بهبود گردش خون و ایجاد اثرات ضد انعقادی باعث کاهش استرس‌های اکسیداتیو می‌شود (۸). مطالعات متعددی اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی سافرانال را نشان داده است. گزارش شده است که تزریق داخل صفاقی سافرانال (0.5 mg/kg/day) به مدت یک ماه در موش‌های مسن، آسیب اکسیداتیو ناشی از افزایش سن را

سرکوب کرده و سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی را بهبود می بخشد. سافرانال به احتمال زیاد به عنوان یک آنتی اکسیدان غیرمستقیم عمل می کند (۹). علاوه بر این، برخی از آنتی اکسیدان ها دارای فعالیت های پرواکسیدانی هستند که می توانند پاسخ های دفاعی آنتی اکسیدانی را القاء کنند و در نهایت اثرات مفیدی از خود نشان دهند (۱۰). در مطالعه دیگری، اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی سافرانال بر التهاب ناشی از تراکلرید کربن (CCl₄) و استرس اکسیداتیو در موش ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که دوزهای نسبتاً بالای سافرانال (۵۰ و ۱۰۰ میلی لیتر بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز خوراکی) می تواند سیستم آنتی اکسیدانی کبد را بهبود بخشد. سطوح IL-1 β تحت تأثیر سافرانال قرار نگرفت، اما سافرانال با دوز بالا به طور قابل توجهی سایتوکاین های IL-6 و TNF- α را در کبد کاهش داد (۱۱). با توجه به اثرات ضدالتهابی و آنتی اکسیدانی سافرانال، این مطالعه با هدف بررسی اثرات سافرانال بر آسیب حاد کلیوی القاء شده توسط تزریق LPS در موش آزمایشگاهی می باشد. اگرچه اثرات آنتی اکسیدانی سافرانال در مطالعات پیشین به اثبات رسیده است، اما در مطالعه حاضر بررسی این ترکیب در یک مدل استاندارد و مرتبط با «آسیب حاد کلیوی ناشی از عفونت» می باشد. این تحقیق نشان می دهد که تجویز خوراکی سافرانال نه تنها قادر به تعدیل شاخص های عمومی استرس اکسیداتیو مانند MDA و SOD در بافت کلیه است، بلکه به طور همزمان منجر به بهبود معنی دار نشانگرهای بالینی و عملکردی کلیه کراتینین و BUN پس از القاء LPS می شود. این یافته ها علاوه بر تأیید خواص آنتی اکسیدانی بر اثر محافظتی سافرانال در کنترل یک عارضه حیاتی و شایع در پزشکی با ارائه شواهد مستقیم از بهبود عملکرد عضو هدف به خوبی آشکار می سازد.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی با کد اخلاق IR.SHAHED.REC.1397.106، از موش های

آزمایشگاهی نر نژاد C57BL/6 به تعداد ۳۲ سر در محدوده وزنی ۲۴-۱۹ گرم استفاده شد. موش ها از مرکز تکثیر دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی خریداری و در حیوانخانه دانشکده پزشکی شاهد با شرایط روشنایی و تاریکی طبیعی در دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی گراد با دسترسی آزاد به غذا و آب نگهداری شدند. روش کار با حیوانات آزمایشگاهی براساس دستورالعمل های توصیه شده مؤسسه ملی بهداشت آمریکا انجام شد. در این تحقیق، حیوانات به طور تصادفی در چهار گروه، گروه کنترل، گروه دریافت کننده LPS، گروه LPS تحت تیمار با سافرانال در دوز ۰/۰۵ میلی لیتر بر کیلوگرم و LPS تحت تیمار با سافرانال در دوز ۰/۲ میلی لیتر بر کیلوگرم، تقسیم بندی شدند. سافرانال در حلال مربوطه رقیق شده و روزانه در دو نوبت تا یک ساعت پیش از تزریق LPS از طریق گاوژ تجویز گردید. برای القاء آسیب حاد کلیوی، LPS با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی تزریق شد. ۲۴ ساعت پس از تزریق LPS، حیوانات تحت بیهوشی با کتامین-گزیلازین قرار گرفته و نمونه های خون از قلب جمع آوری شد. سطوح سرمی کراتینین، نیتروژن اوره خون (BUN) و آلبومین با استفاده از کیت های تجاری (پارس آزمون، تهران، ایران) سنجیده شد. سپس کلیه ها جدا شده و هموژنیزه گردیدند. شاخص های استرس اکسیداتیو (MDA، SOD، کاتالاز و نیتريت) شاخص التهابی (TNF- α) در هموژنه بافت کلیه با استفاده از کیت های اختصاصی ارزیابی شدند. کلیه پروتکل های اخلاقی در این مطالعه رعایت گردید.

تهیه هموژنه بافت کلیه و سرم خون

هموژنیزاسیون بافت کلیه با استفاده از بافر تریس سرد در سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه انجام گرفت، جهت تهیه سرم خونی سانتریفیوژ در ۳۰۰۰ دور در دقیقه و جمع آوری لایه رویی شفاف انجام شد که برای اندازه گیری شاخص ها مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش پروتئین به روش برادفورد^۱ (Bradford Assay)

سنجش پروتئین با استفاده از معرف برادفورد و رنگ کوماسی آبی (Coomassie Brilliant Blue G-250) انجام شد و جذب نوری نمونه‌ها به وسیله دستگاه میکروپلیت خوان در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه گیری شد (۱۲).

سنجش مالون دی آلدئید (MDA)

اندازه گیری سطح مالون دی آلدئید بر اساس واکنش آن با تیوباربتوریک اسید (TBA) در دمای جوش انجام گرفت. منحنی استاندارد نیز بر اساس رقت‌های تترا اتوکسی پروپان تهیه شده و جذب‌های نوری به دست آمده از نمونه‌ها بر روی منحنی استاندارد تطبیق داده شد (۱۳).

سنجش میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase) (SOD)

اساس این اندازه‌گیری مهار احیاء نیتروبلو تترازولیوم (Nitro Blue Tetrazolium) (NBT) توسط سیستم گزانتین-گزانتین اکسیداز به عنوان تولید کننده سوپراکسید می‌باشد. در این آزمایش از محلول کاری شامل گزانتین، گزانتین اکسیداز در بافر پتاسیم فسفات و نیتروبلو تترازولیوم استفاده شد. جذب نوری هر نمونه در طول موج ۵۵۰ نانومتر به مدت ۵ دقیقه، هر ۳۰ ثانیه یک بار خوانده شد (۱۴).

سنجش کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با استفاده از پروتکل Claiborne در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در این روش که مبتنی بر سنجش نرخ تجزیه پراکسید هیدروژن (H_2O_2) است، کلیه مراحل شامل تهیه محلول‌های بافر فسفات و سوپسترا مطابق با پروتکل استاندارد در آزمایشگاه انجام گردید. نمونه‌های هموژنیزه شده بافت کلیه پس از سانتریفیوژ در دمای ۴ درجه سانتی گراد مورد سنجش قرار گرفتند و فعالیت آنزیم بر اساس H_2O_2 μmol مصرفی در دقیقه به ازای هر میلی گرم پروتئین تام محاسبه شد (۱۵).

سنجش غلظت نیتريت

در این آزمایش، واکنش گریس اساس سنجش غلظت نیتريت بافت کلیه است و در طول موج ۵۴۰ نانومتر جذب نوری آن اندازه گیری شد و با غلظت شناخته شده‌ای از سدیم نیتريت مقایسه گردید. از رقت‌های مختلف سدیم نیتريت جهت تهیه محلول‌های استاندارد استفاده شد (۱۶).

سنجش میزان $TNF-\alpha$

سطوح کلیوی فاکتور التهابی با استفاده از پروتکل الایزا تعیین شد (آنتی بادی برای $TNF-\alpha$ از SigmaAldrich (آمریکا) به دست آمد). میزان جذب نمونه‌ها توسط میکروپلیت خوان در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت شد.

سنجش عملکرد کلیه

خون نمونه‌ها از حیوانات پس از بیهوشی کامل گرفته شد. سپس سرم با استفاده از سانتریفیوژ در سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه تفکیک شد و پارامترهای مربوط به عملکرد کلیه شامل BUN، کراتینین و آلبومین با کیت‌های مخصوص (پارس آزمون، تهران، ایران) تعیین گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

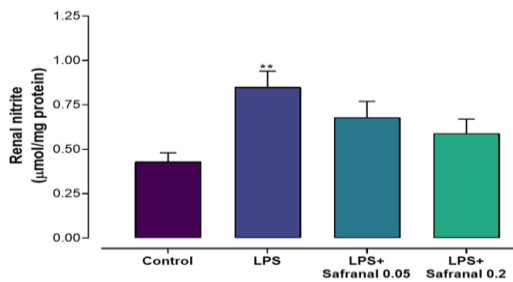
داده‌های حاصل از این مطالعه به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ گزارش شدند. تجزیه و تحلیل آن‌ها با استفاده از نرم افزار آماری (Graphpad Prism 8) و آزمون آماری پارامتریک ANOVA یک طرفه و در صورت اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) از آزمون Tukey استفاده شد.

یافته‌ها

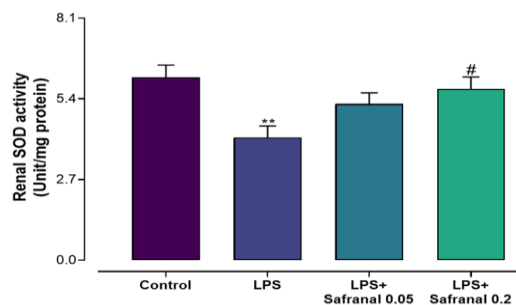
اثر سافرانال بر استرس اکسیداتیو بافت کلیه

در نمودار شماره ۱، نتایج در ارتباط با میزان مالون دی آلدئید بافت کلیه در موش‌های گروه‌های تحت بررسی به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی قابل

کم‌تر بود ($P < 0.01$). اما درمان با سافرانال در دوز ۰/۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بافت کلیه نسبت به گروه LPS شد ($P < 0.05$). در صورتی که افزایش این مقدار در گروه سافرانال در دوز ۰/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم نسبت به گروه LPS از نظر آماری معنی دار نبود ($P > 0.05$).



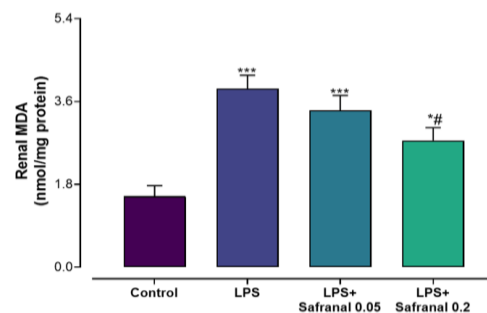
نمودار شماره ۲: میزان نیتريت بافت کلیه در گروه‌های کنترل، LPS و LPS تحت درمان با سافرانال در دوزهای ۰/۵ و ۰/۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم، ** $P < 0.01$ (در مقایسه با گروه کنترل)



نمودار شماره ۳: میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گروه‌های کنترل، LPS و LPS تحت درمان با سافرانال در دوزهای ۰/۵ و ۰/۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم، ** $P < 0.01$ (در مقایسه با گروه کنترل)، # $P < 0.05$ (در مقایسه با گروه LPS)

در نمودار شماره ۴، نتایج در ارتباط با میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بافت کلیه در موش‌های گروه‌های تحت بررسی مشاهده می‌شود. این پارامتر در گروه LPS نسبت به گروه کنترل به صورت معنی‌دار و بارز کم‌تر بود ($P < 0.05$). اما درمان با سافرانال در دوزهای ۰/۵ و ۰/۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم اگر چه باعث افزایش فعالیت این آنزیم نسبت به گروه LPS گردید، اما این افزایش در هر دو گروه تحت درمان نسبت به گروه لیپو پلی ساکارید از نظر آماری معنی دار نبود (در هر دو مورد $P > 0.05$).

مشاهده است. این شاخص در گروه LPS به صورت معنی‌دار و بارز نسبت به گروه کنترل بیش‌تر بود ($P < 0.01$). هم‌چنین، این شاخص در گروه LPS دریافت‌کننده سافرانال در دوزهای ۰/۵ و ۰/۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم نیز نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری بیش‌تر بود (به ترتیب $P < 0.05$ و $P < 0.01$) اما در گروه LPS دریافت‌کننده سافرانال با دوز ۰/۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم، میزان MDA بافت کلیه کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه LPS نشان داد ($P < 0.05$).



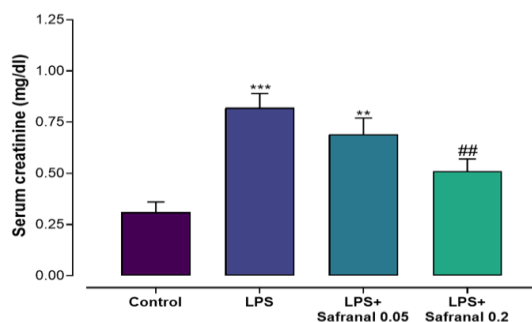
نمودار شماره ۱: میزان MDA به عنوان یک شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در گروه‌های کنترل، LPS و LPS تحت درمان با سافرانال در دوزهای ۰/۵ و ۰/۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم، *** $P < 0.001$ (در مقایسه با گروه کنترل)، # $P < 0.05$ (در مقایسه با گروه LPS)

در نمودار شماره ۲، نتایج در ارتباط با میزان نیتريت بافت کلیه در موش‌های گروه‌های تحت بررسی مشاهده می‌شود. این شاخص در گروه LPS به صورت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل بیش‌تر بود ($P < 0.01$). به علاوه، این پارامتر در گروه LPS دریافت‌کننده سافرانال در دوزهای ۰/۵ و ۰/۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم یک کاهش در مقایسه با گروه LPS نشان داد که البته از نظر آماری معنی دار نبود ($P > 0.05$).

اثر سافرانال بر فعالیت آنتی اکسیدانی بافت کلیه

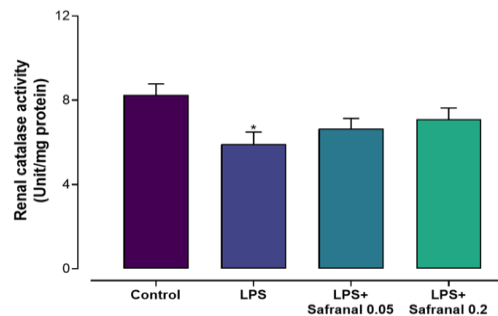
در نمودار شماره ۳، نتایج در ارتباط با میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بافت کلیه در موش‌های گروه‌های تحت بررسی مشاهده می‌شود. این شاخص در گروه LPS به صورت معنی‌دار و بارز نسبت به گروه کنترل

در نمودار شماره ۶، نتایج در ارتباط با میزان کراتینین سرم در موش‌های گروه‌های تحت بررسی مشاهده می‌شود. این شاخص در گروه LPS به صورت معنی‌دار و بارز نسبت به گروه کنترل بیش‌تر بود ($P < 0.01$). همچنین، این شاخص در گروه LPS دریافت‌کننده سافراناال در دوز ۰/۰۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم نیز نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری بیش‌تر بود ($P < 0.01$). اما در گروه LPS دریافت‌کننده سافراناال با دوز ۰/۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم، میزان کراتینین سرم کاهش معنی‌دار را در مقایسه با گروه LPS نشان داد ($P < 0.01$)، اگرچه درمان با سافراناال در دوز ۰/۰۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری در میزان کراتینین سرم نسبت به گروه LPS ایجاد نکرد ($P > 0.05$).



نمودار شماره ۶: میزان کراتینین سرم در گروه‌های کنترل، LPS و LPS تحت درمان با سافراناال در دوزهای ۰/۰۵ و ۰/۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم، *** $P < 0.001$; ** $P < 0.01$; # $P < 0.05$ (در مقایسه با گروه کنترل)، ## $P < 0.01$ (در مقایسه با گروه LPS).

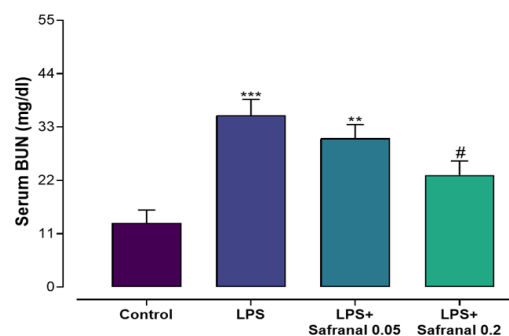
در نمودار شماره ۷، نتایج در ارتباط با میزان آلبومین سرم در موش‌های گروه‌های تحت بررسی مشاهده می‌شود. این شاخص در گروه LPS نسبت به گروه کنترل کم‌تر بود، اگرچه این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). درمان با سافراناال در دوزهای ۰/۰۵ و ۰/۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم اگرچه باعث افزایش این پارامتر نسبت به گروه LPS گردید، اما این افزایش در هر دو گروه تحت درمان نسبت به گروه لیوپلی ساکارید از نظر آماری معنی‌دار نبود (در هر دو مورد $P > 0.05$).



نمودار شماره ۷: میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کلیه در گروه‌های کنترل، LPS و LPS تحت درمان با سافراناال در دوزهای ۰/۰۵ و ۰/۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم، * $P < 0.05$ (در مقایسه با گروه کنترل).

اثر سافراناال بر عملکرد بافت کلیه

در نمودار شماره ۵، نتایج در ارتباط با میزان BUN سرم در موش‌های گروه‌های تحت بررسی مشاهده می‌شود. این شاخص در گروه LPS به صورت معنی‌دار و بارز نسبت به گروه کنترل بیش‌تر بود ($P < 0.01$). همچنین، این پارامتر در گروه LPS دریافت‌کننده سافراناال در دوز ۰/۰۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل بیش‌تر بود ($P < 0.01$)، اما درمان با سافراناال در دوز ۰/۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم توانست میزان BUN سرم را نسبت به گروه LPS کاهش دهد ($P < 0.05$). در حالی که کاهش این مقدار در گروه سافراناال در دوز ۰/۰۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم نسبت به گروه LPS از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

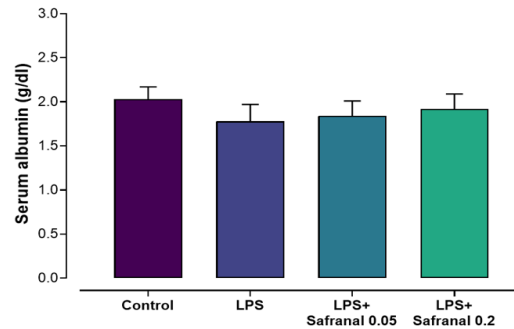


نمودار شماره ۵: میزان BUN سرم در گروه‌های کنترل، LPS و LPS تحت درمان با سافراناال در دوزهای ۰/۰۵ و ۰/۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم، *** $P < 0.001$; ** $P < 0.01$; # $P < 0.05$ (در مقایسه با گروه کنترل)، ## $P < 0.01$ (در مقایسه با گروه LPS).

بحث

آسیب حاد کلیه یک اختلال عملکردی یا ساختمانی ویژه است که با کاهش عملکرد کلیه همراه می‌باشد. شیوع آسیب حاد کلیه رو به افزایش بوده و متأسفانه درمان مناسب و قطعی برای آن وجود ندارد (۱۷). به‌طور کلی استرس اکسیداتیو نقش مهمی در آسیب‌های کلیوی داشته به‌طوری که با ایجاد ایسکمی‌ها و پرفیوژن‌های مجدد مکرر در بافت‌های مختلف اعم از کلیه باعث ایجاد آسیب در آن‌ها مانند آسیب حاد کلیه می‌شود (۱۷، ۱۸). تیمار LPS با افزایش سطح ROS داخل سلولی، NF-KB، TNF- α و IL-6 سبب استرس اکسیداتیو و التهاب در سلول‌های اپیتلیال A549 ریه می‌گردد (۱۹). گزارش شده است سافرانال از طریق اثر بیولوژیکی خود استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد و با تضعیف پاسخ التهابی از آپوپتوز جلوگیری می‌کند (۱۸). با توجه به تاثیر ضد التهابی و آنتی اکسیدانی سافرانال، این مطالعه با هدف بررسی اثرات سافرانال بر آسیب حاد کلیوی القاء شده توسط تزریق LPS در موش آزمایشگاهی انجام شد.

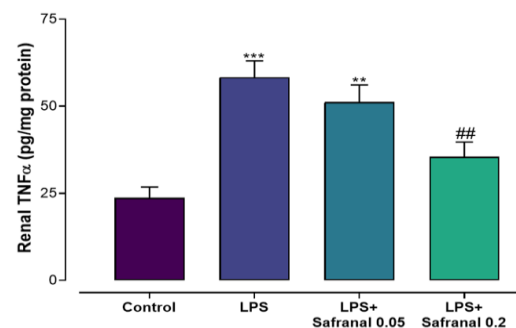
نتایج این مطالعه نشان داد، تزریق داخل صفاقی LPS به میزان ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم موجب افزایش معنی‌دار شاخص‌های استرس اکسیداتیو مالون دی آلدئید و نیتريت و کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در گروه لیپو پلی ساکارید نسبت به گروه کنترل گردید. هم‌چنین از نظر عملکرد کلیوی، مقادیر BUN و کراتینین در گروه LPS افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد، اگر چه تفاوت در مقادیر آلبومین از نظر آماری معنی‌دار نبود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد، درمان موش‌های ضایعه دیده با سافرانال در دوز ۰/۲ میلی لیتر بر کیلوگرم موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاهش معنی‌دار مالون دی آلدئید در مقایسه با گروه LPS گردید در حالی که تفاوت معنی‌داری در مقادیر نیتريت و فعالیت آنزیم کاتالاز ایجاد نکرد. هم‌چنین تاثیر سافرانال در دوز ۰/۰۵



نمودار شماره ۷: میزان آلبومین سرم در گروه‌های کنترل، LPS و LPS تحت درمان با سافرانال در دوزهای ۰/۰۵ و ۰/۲ میلی لیتر بر کیلوگرم

اثر سافرانال بر التهاب بافت کلیه

در نمودار شماره ۸، نتایج در ارتباط با میزان TNF- α در موش‌های گروه‌های تحت بررسی مشاهده می‌شود. این شاخص در گروه LPS به‌صورت معنی‌دار و بارز نسبت به گروه کنترل بیش‌تر بود ($P < 0.001$). هم‌چنین، این شاخص در گروه LPS دریافت‌کننده سافرانال در دوز ۰/۰۵ میلی لیتر بر کیلوگرم نیز نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود ($P < 0.001$). اما در گروه LPS دریافت‌کننده سافرانال با دوز ۰/۲ میلی لیتر بر کیلوگرم، میزان این فاکتور کاهشی معنی‌دار را در مقایسه با گروه LPS نشان داد ($P < 0.001$), اگر چه درمان با سافرانال در دوز ۰/۰۵ میلی لیتر بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری در میزان این پارامتر نسبت به گروه LPS ایجاد نکرد ($P > 0.05$).



نمودار شماره ۸: میزان TNF- α در گروه‌های کنترل، LPS و LPS تحت درمان با سافرانال در دوزهای ۰/۰۵ و ۰/۲ میلی لیتر بر کیلوگرم، *** $P < 0.001$; ** $P < 0.01$; # $P < 0.05$ (در مقایسه با گروه کنترل)، ## $P < 0.01$ (در مقایسه با گروه LP)

میلی لیتر بر کیلو گرم بر شاخص های استرس اکسیداتیو از نظر آماری معنی دار نبود.

در مطالعه Memarzia و همکاران در سال ۲۰۲۴، گزارش شد که زعفران و سافرانال التهاب سیستمیک و استرس اکسیداتیو ناشی از پاراکوات استنشاقی را مشابه دگزامتازون بهبود می بخشد و اثرات سینرژیک با پیوگلیتازون نشان دادند که نشان دهنده اثرات احتمالی گیاه و اجزای آن با واسطه گیرنده PPAR γ است (۲۰).

گزارش شده است که سافرانال در موش های بزرگ آزمایشگاهی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین سبب کاهش میزان MDA در موش های دیابتی بود که نتایج این مطالعه نیز همراستا با نتایج مطالعه حاضر می باشد (۲۱).

Bao و همکاران در سال ۲۰۲۵ مطالعه ای با هدف بررسی نقش سافرانال در مدل موش بزرگ آزمایشگاهی گلومرولونفریت غشایی (MGN) ناشی از آلبومین سرم گاوی کاتیونی (C-BSA) انجام دادند. یافته های آن ها نشان داد که C-BSA سطح پروتئین ادرار را به ۱۱۷/۶۸ میلی گرم در روز افزایش داد و باعث اختلال در تنظیم شاخص های عملکرد کلیه و القاء انبساط گلومرولی و نفوذ سلول های التهابی در نمونه های کلیه موش شد. تمام تغییرات بیوشیمیایی و بافت شناسی با تجویز سافرانال بهبود یافتند (۲۲). Tort و همکاران در سال ۲۰۲۳ به بررسی اثرات حفاظتی سافرانال در برابر آسیب کلیوی ناشی از ایسکمی - خون رسانی مجدد پرداختند. سطح کراتینین و نیتروژن اوره خون در میان سایتو کاین های بیش التهابی، سطوح IL-6 و IL-1 β به طور قابل توجهی در گروه آسیب دیده بیش تر از گروه های دیگر بود که با تیمار سافرانال معکوس گردید. بنابراین سافرانال ممکن است اثرات محافظتی در برابر آسیب کلیوی ناشی از آسیب ایسکمی - خون رسانی مجدد داشته باشد (۲۳). گزارش شده است که سافرانال با تعدیل مسیر NLRP3/Caspase-1، اثرات منفی ناشی از سرکوب RUNX3 را در شرایط *in vivo* و *in vitro* به طور قابل توجهی کاهش می دهد (۲۴).

Geng و همکاران در سال ۲۰۲۵ اثرات سافرانال و

مکانیسم های اساسی آن را در ماکروفاژهای RAW264.7 تحت شرایط آترواسکلروز بررسی کردند. سافرانال فرآورده های پاتوفیزیولوژیک استرس اکسیداتیو (کاهش سطح ROS و MDA و افزایش بیوسنتز GSH)، ERS (کاهش سطح پروتئین فاکتور رونویسی فعال کننده ۶، پروتئین اتصال X-Box 1 و پروتئین تنظیم شده با گلوکز، ۷۸ کیلو دالتون) و التهاب (کاهش سطح سرمی TNF- α ، IL-1 β و IL-6) را در شرایط *in vivo* سرکوب کرد. از نظر مکانیسمی، سافرانال مسیرهای سیگنالینگ PI3K/Akt و NF- κ B را در شرایط *in vivo* مهار می کند (۲۵). یافته های Cellat و همکاران در سال ۲۰۲۴ نشان داد که سطوح کاتالاز و هم اکسیژناز-۱ پس از درمان سافرانال اندکی بهبود یافت (۲۶).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد درمان با سافرانال در دوز ۰/۲ میلی لیتر بر کیلو گرم موجب کاهش معنی دار مقادیر BUN و کراتینین در مقایسه با گروه LPS گردید، اگر چه تاثیر معنی داری بر مقادیر آلبومین نداشت. از سوی دیگر تاثیر سافرانال در دوز ۰/۰۵ میلی لیتر بر کیلو گرم بر پارامترهای مذکور از نظر آماری معنی دار نبود.

در این رابطه زارع زاده و همکاران که در سال ۱۳۹۶ به بررسی اثر عصاره الکلی گلبرگ زعفران بر عملکرد کلیوی موش های دیابتی پرداختند، نشان دادند که تیمار موش های دیابتی با عصاره زعفران، سبب کاهش حجم ادرار و نیتروژن اوره خون گردید؛ اما نتوانست سبب تعدیل پروتئین ادرار و کراتینین خون شود (۲۷). از طرف دیگر نتایج مطالعه کارآزمایی بالینی میلاجردی و همکاران در سال ۱۳۹۵ بر روی بیماران دیابتی نیز موید تاثیر عصاره هیدروالکلی زعفران بر کاهش BUN بود در حالی که اثرات این ماده بر سطح کراتینین از نظر آماری معنی دار نبود (۲۸). در مقایسه با نتایج دو مطالعه فوق، در مطالعه حاضر علاوه بر سطح BUN، کراتینین نیز تحت تاثیر درمان با سافرانال کاهش معنی داری پیدا کرد. البته در دو مطالعه فوق موش های دیابتی و بیماران دیابتی مورد بررسی قرار گرفتند در

حالی که در مطالعه حاضر مدل تجربی التهاب تحت تاثیر LPS ایجاد گردید که این تفاوت در طراحی مطالعه ممکن است توجیه کننده اختلاف در نتایج مطالعه حاضر با دو مطالعه مذکور باشد.

در مطالعه Abdalla و همکاران در سال ۲۰۲۲ اثر سافرانال را بر روی سرطان کبد ناشی از دی اتیل نیتروزامین (DEN) در موش مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که سافرانال با مهار نشانگرهای التهابی مانند TNF- α ، iNOS، COX2، NF-kB و گیرنده آن اثرات ضد التهابی دارد (۲۹). Alayunt و همکاران در سال ۲۰۲۴ مطالعه ای با هدف بررسی خواص محافظتی و درمانی سافرانال در کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو ناشی از افزایش دوز استامینوفن (APAP) در مدل موش انجام دادند، نتایج آن ها نشان داد که پیش درمان با سافرانال ممکن است با کاهش استرس اکسیداتیو و پاسخ التهابی (IL-6، TNF- α ، IL-1 β)، یک اثر محافظتی در برابر سمیت کبدی ارائه دهد (۳۰). یافته های آن ها همراستا با نتایج این مطالعه می باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، تزریق داخل صفاقی LPS موجب افزایش معنی دار شاخص های استرس اکسیداتیو مالون دی آلدهید، نیتريت و TNF- α و کاهش معنی دار فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز نسبت به گروه کنترل گردید. هم چنین از نظر عملکرد کلیوی، مقادیر BUN و کراتینین در گروه LPS افزایش معنی داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد اگرچه تفاوت در مقادیر آلبومین از نظر آماری معنی دار نبود. درمان موش های ضایعه دیده با سافرانال در دوز ۰/۲ میلی لیتر بر کیلو گرم

موجب افزایش معنی دار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاهش معنی دار مالون دی آلدهید و TNF- α در مقایسه با گروه LPS گردید در حالی که تفاوت معنی داری در مقادیر نیتريت و فعالیت آنزیم کاتالاز ایجاد نکرد. هم چنین سافرانال در این دوز موجب کاهش معنی دار مقادیر BUN و کراتینین در مقایسه با گروه LPS گردید اگر چه تاثیر معنی داری بر مقادیر آلبومین نداشت. تاثیر سافرانال در دوز ۰/۰۵ میلی لیتر بر کیلو گرم بر پارامترهای استرس اکسیداتیو و عملکرد کلیه از نظر آماری معنی دار نبود.

از جمله محدودیت های این مطالعه، عدم ارزیابی مکانیسم های مولکولی سافرانال در بافت کلیه بود. هم چنین، بررسی اثرات محافظتی سافرانال در مدل های مزمن آسیب کلیوی و ارزیابی پارامترهای همودینامیک کلیوی پیشنهاد می شود. مطالعات آتی می بایست بر ارزیابی دوز-پاسخ دقیق تر، تجویز سافرانال پس از القاء آسیب (درمانی) و استفاده از روش های پیشرفته تری مانند هیستوپاتولوژی کمی و سنجش آپوپتوز سلولی متمرکز شوند. تعیین پروفایل فارماکو کینتیک سافرانال و تأثیر آن بر سایر اندام های درگیر در سپسیس نیز جهت کاربردهای بالینی آینده ضروری است.

سپاسگزاری

مطالعه حاضر بر اساس پایان نامه دکترای حرفه ای است که در دانشگاه شاهد انجام شده است. از تمام کسانی که در این مطالعه همکاری داشتند تشکر و قدردانی می گردد. قابل ذکر است که نویسندگان مقاله حاضر هیچ گونه تعارض منافع نداشته اند.

References

- Xu G, Player P, Shepherd D, Brunskill NJ. Identifying acute kidney injury in the community—a novel informatics approach. *Jou Nep* 2016; 29: 93-8. PMID: 25779026.
- Group K. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Ped Nep Kidney Int Suppl* 2012; 2: 1. PMID: 40515780.

3. Kim DY, Jun J-H, Lee H-L, Woo KM, Ryoo H-M, Kim G-S, et al. N-acetylcysteine prevents lps-induced pro-inflammatory cytokines and mmp2 production in gingival fibroblasts. *Arc Pha Res* 2007; 30: 1283-92. PMID: 18038907.
4. Karimi Zandi L, Noorbakhshnia M, Ehsanpour AA, Rajaeian S. Effect of hydro-alcoholic *Portulaca-Oleracea* extract on oxidative damage induced by bacterial Lipopolysaccharide (LPS) in liver of rat. *Shahrekord Uni Med Sci* 2016; 17(6): 124-35.
5. Hoshyar R, Bathaie SZ, Etemadikia B. Quantitative and comparative analysis of major metabolites (crocin, picrocrocin and safranal) in different packages of Iranian saffron by HPLC. *Pathobiol Re* 2010; 13(2): 63-71.
6. Xuan B, ZHOU Y-H, Li N, MIN Z-D, CHIOU GC. Effects of crocin analogs on ocular blood flow and retinal function. *J ocul pharmacol therap* 1999; 15(2): 143-52. PMID: 10229492.
7. Assimopoulou A, Sinakos Z, Papageorgiou V. Radical scavenging activity of *Crocus sativus* L. extract and its bioactive constituents. *Phytothera Res* 2005; 19(11): 997-1000. PMID: 41095092.
8. Alavi MS, Fanoudi S, Fard AV, Soukhtanloo M, Hosseini M, Barzegar H, et al. Safranal attenuates excitotoxin-induced oxidative OLN-93 cells injury. *Dru Res* 2019; 69(06): 323-9. PMID: 30463091.
9. Farahmand SK, Samini F, Samini M, Samarghandian S. Safranal ameliorates antioxidant enzymes and suppresses lipid peroxidation and nitric oxide formation in aged male rat liver. *Bio* 2013; 14: 63-71. PMID: 23179288.
10. Rattan SI. Rationale and methods of discovering hormetins as drugs for healthy ageing. *Exp Opi Dru Dis* 2012; 7(5): 439-48. PMID: 22509769.
11. Alayunt ÖN, Aksoy L, Karafakioğlu YS, Sevimli S. Assessment of anti-inflammatory and antioxidant properties of safranal on CCI4-induced oxidative stress and inflammation in rats. *Ana Da Aca Bra De Cie* 2019; 91(02): e20181235. PMID: 31141017.
12. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Ana Bio* 1976; 72(1-2): 248-54. PMID: 942051.
13. Sedaghat R, Roghani M, Khalili M. Neuroprotective effect of thymoquinone, the *nigella sativa* bioactive compound, in 6-hydroxydopamine-induced hemiparkinsonian rat model. *Ira Jou Pha Res : Ijp* 2014; 13(1): 227. PMID: 24734075.
14. Kiasalari Z, Roghani M, Khalili M, Rahmati B, Baluchnejadmojarad T. Antiepileptogenic effect of curcumin on kainate-induced model of temporal lobe epilepsy. *Pha Bio* 2013; 51(12): 1572-8. PMID: 24004105.
15. Greenwald R. Catalase activity. *Sci Rep* 1985; 1-447. PMID: 41145550.
16. Majithiya JB, Balaraman R. Metformin reduces blood pressure and restores endothelial function in aorta of streptozotocin-induced diabetic rats. *Lif Sci* 2006; 78(22): 2615-24. PMID: 16318863.
17. Varrier M, Fisher R, Ostermann M. Acute kidney injury-an update. *EMJ Nephrol* 2015; 3(1): 75-82. PMID: 38400561.

18. Lei X, Zhou Z, Wang S, Jin LH. The protective effect of safranal against intestinal tissue damage in *Drosophila*. *Tox App Pha* 2022; 439: 115939. PMID: 35217026.
19. Sul O-J, Ra SW. Quercetin prevents LPS-induced oxidative stress and inflammation by modulating NOX2/ROS/NF- κ B in lung epithelial cells. *Molecul* 2021; 26(22): 6949. PMID: 34834040.
20. Memarzia A, Ghasemi SZ, Amin F, Gholamnezhad Z, Boskabady MH. Effects of *Crocus sativus* and its constituent, safranal, and pioglitazone, on systemic inflammation and oxidative stress induced by paraquat aerosol in rats. *Ira Jou Bas Med Sci* 2024; 27(5): 640. PMID: 38629099.
21. Rooshenas F, Ashrafi M, Nazifi S, Aminlari M, Talebanzadeh S. Evaluation the effect of saffron aqueous extract on oxidative stress parameters and important biochemical enzymes of liver tissue in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Arak Uni Med Sci* 2018; 21(5): 77-87.
22. Bao Y, Ge Y-m, Wang Z, Wang H-y, Wang Q, Yuan J. Safranal Ameliorates Renal Damage, Inflammation, and Podocyte Injury in Membranous Nephropathy via SIRT/NF- κ B Signalling. *Cur Med Sci* 2025; 45(2): 288-300. PMID: 40035996.
23. Tort M, Sevil H, Sevil FC, Becit N, Aksu U, Saritaş ZK, et al. Protective effects of safranal on kidney tissue in a rat model of distant ischemiareperfusion injury with infrarenal aortic occlusion. *Turkish J Med Sci* 2023; 53(6): 1574-81.
24. Zhang X, Li X, Wang P, Zhao S, Zhao Y. Safranal restores RUNX3-mediated immunoregulation by inhibiting the NLRP3 inflammasome in allergic asthma. *Nau Arc Pha* 2025: 1-17. PMID: 40163148.
25. Geng Y, Song M, Huang B, Lin R, Wu S, Lin A. Safranal ameliorates atherosclerosis progression partly via repressing PI3K/Akt and NF- κ B signaling pathways in ApoE (-/-) mice. *Jou Nat Med* 2025: 1-12. PMID: 40366560.
26. Cellat M, Kuzu M, Güvenç M, Yüksel M, Kanat Ö, Akaydın Bozkurt Y, et al. Safranal's therapeutic effects in rat models of polycystic ovary syndrome. *Jou Ste Bio Mol Bio* 2024; 34(2): 301-12. PMID: 41161612.
27. Zarezadeh M, Vazifeshenas-Darmiyani K, Afshar M, Valavi M, Serki E, Hosseini M. Effects of extract of *Crocus sativus* petal on renal function in diabetic rats. *J Mazandaran Uni Med Sci* 2017; 27(147): 11-24.
28. Milajerdi A, Djazayeri A, Jazayeri S, Hashemzadeh N, Shirzadi E, Derakhshan Z, et al. The effect of saffron (*Crocus sativus* L.) hydroalcoholic extract on metabolic control in type 2 diabetes mellitus: A triple-blinded randomized clinical trial. *J Res Med Sci* 2016. PMID: 15707766.
29. Abdalla Y, Abdalla A, Hamza AA, Amin A. Safranal prevents liver cancer through inhibiting oxidative stress and alleviating inflammation. *Frontier Pharmacol* 2022; 12: 777500. PMID: 35177980.
30. Alayunt NÖ, Parlak AE, Türkoğlu S, Taş F. Hepatoprotective effects of safranal on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Open Chemis* 2024; 22(1): 20240029.