

## Effect of Intrapertonal Injection of Crocin on Cardiovascular Parameters in Angiotensin II- Induced Hypertensive Rats

Anaigoudari A.<sup>1</sup> *PhD*, Faramarzi A.<sup>2</sup> *MSc*, Abbasnezhad A.<sup>3</sup> *PhD*, Shafei M.N\* *PhD*

\*Neurogenic Inflammation Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

<sup>1</sup>Department of Physiology, School of Medicine, Jiroft University of Medical Sciences, Jiroft, Iran.

<sup>2</sup>Department of Physiology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

<sup>3</sup>Department of Physiology, Faculty of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran.

### Abstract

**Aims:** The antihypertensive effect intravenous injection of Cronin has been observed in our previous study. In this study, the effect of intraperitoneal (ip) injection of Crocin on hypertension induced by angiotensin II (Ang II) with dose of 50 ng/kg was investigated in rats.

**Materials & methods:** In current excremental study, thirty male Wistar rats were randomly divided into 5 groups: Control (Cont), Ang II50, Losartan (Los) + Ang II, (Cro) 100 + Ang II and Cro200 + Ang II (n = 6 in each group). To induce hypertension, Ang II (50 ng/kg, i.v) was administered. Los (10 mg/kg, i.v) and Cro (100 and 200 mg/kg, ip) were administered 30 min before Ang II. Systolic blood pressure (SBP), mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) after cannulation of the artery were continuously recorded by power lab system then, ( $\Delta$ ; difference before and after injection) were calculated and compared between the groups. Differences were considered significant when  $P < 0.05$ .

**Findings:** Ang II significantly increased SBP, MAP and decreased HR in several minutes ( $P < 0.001$ ). Losartan reduced these effects of angiotensin II. Pre-treatment with crocin (ip) significantly attenuated increased SBP and MAP induced by AngII ( $P < 0.01$ ) but it has not important effect on HR

**Conclusion:** Injection of crocin (ip) and it's effect on the AT1 receptor reduces hypertension induced by the dose of 50 ng/kg of Ang II, which is comparable to that of Losartan. Therefore, the cardiovascular effect of crocin probably is mediated by this receptor of AngII.

### Keywords:

Hypertension [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68006977>]

Crocin [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=crocin>]

Angiotensin II [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68000809>]

---

\*Corresponding Author: Mohammad Naser Shafei

Tel: +98-51-38828565

Fax: +98-51-38828564

Address: Neurogenic Inflammation Research Centre, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

E-mail: Shafeimn@mums.ac.ir

Received: 06 Jun 2018

Accepted: 22 Sep 2018

ePublished: 10 Oct 2018

## اثر تزریق داخل صفاقی کروسین بر پارامترهای قلبی-عروقی در موش‌های صحرایی پر فشار خونی القا شده به وسیله آنژیوتانسین ۲

اکبر آثانی گودری PhD

گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جیرفت، جیرفت، ایران.

عبدالعلی فرامرزی MSc

گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

عباسعلی عباس نژاد PhD

گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران.

محمد ناصر شافعی \* PhD

مرکز تحقیقات التهاب نوروزنیک، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

### چکیده

**اهداف:** اثر ضد پرفشاری (Hypertension) تزریق وریدی کروسین در مطالعه قبلی ما مشاهده شده است. در این مطالعه اثر تزریق داخل صفاقی (ip) کروسین (Crocic) بر پرفشاری ناشی از آنژیوتانسین ۲ (Angiotensin II: Ang II) با دوز ۵۰ ng/kg در موش‌های صحرایی بررسی شد.

**مواد و روش‌ها:** در مطالعه تجربی حاضر، ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به ۵ گروه:

Control (Cont) + Ang II ۵۰، Losartan (Los) + Ang II ۵۰، Crocin (Cro) + Ang II ۵۰ + Cro ۲۰۰ تقسیم شدند (تعداد ۶ سر موش صحرایی در هر گروه). برای القا پرفشاری، آنژیوتانسین ۲ (۵۰ نانوگرم/کیلوگرم، i.v) تزریق شد. لوسارتان (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، i.v) و کروسین (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، ip) ۳۰ دقیقه قبل از آنژیوتانسین ۲ تزریق شدند. فشار خون سیستولیک (Systolic Blood Pressure: SBP)، فشار متوسط شریانی (Mean Arterial Pressure: MAP) و ضربان قلب (Heart Rate: HR) پس از کانول گذاری شریانی به طور مدام توسط سیستم پاورلب ثبت، سپس ماکزیمم تغییرات ( $\Delta$ ) اختلاف قبل و بعد از تزریق) محاسبه و بین گروه‌ها مقایسه گردیدند.  $p < 0.05$  بعنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** آنژیوتانسین ۲ بطور معنی داری باعث افزایش تغییرات SBP و کاهش HR در دقایق مختلف گردید ( $p < 0.001$ ). و لوسارتان این اثرات آنژیوتانسین ۲ را کاهش داد. پیش درمانی با تزریق داخل صفاقی کروسین به طور معنی داری افزایش SBP، MAP ناشی از آنژیوتانسین ۲ را کاهش داد ولی اثر مهمی بر برادیکاردی ناشی از آنژیوتانسین ۲ نداشت. نتیجه گیری: تزریق داخل صفاقی کروسین از طریق اثر بر گیرنده AT1 باعث کاهش پرفشاری ناشی از دوز ۵۰ ng/kg آنژیوتانسین ۲ گردید که قابل مقایسه با لوسارتان است. لذا احتمالاً اثر قلبی-عروقی کروسین توسط این گیرنده آنژیوتانسین ۲ صورت می‌گیرد. کلیدواژه‌ها: پرفشاری، کروسین، آنژیوتانسین ۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۳۱

\* نویسنده مسئول: Shafeimn@mums.ac.ir

### مقدمه

امروزه میلیون‌ها انسان از بیماری پرفشاری خون (Hypertension) رنج می‌برند [1]. این بیماری به علت ایجاد عوارض کلیوی، عروقی و سکنه مغزی به عنوان سومین فاکتور مرگ و میر در جهان شناخته شده است [2,3]. اگرچه مکانیسم دقیق ایجاد آن به طور کامل مشخص نشده ولی یکی از سیستم‌هایی که در ایجاد آن نقش دارد سیستم

رنین-آنژیوتانسین (RAS) می‌باشد. سیستم RAS بصورت سیستمیک و موضعی وجود داشته [4] و عملکرد دستگاه قلب و عروق را تحت تأثیر قرار می‌دهد [5]. مهمترین محصول آن یک اکتاپتید به نام آنژیوتانسین ۲ است که دارای اثرات متعددی بر دستگاه قلب و عروق از جمله انقباض عروقی، القاء رشد سلول‌های عضله صاف عروق، تحریک بیان پروتئوکوزن‌ها، تنظیم هیپرتروفی میوکارد قلب و رمودلینگ عروقی می‌باشد [6,7]. در این راستا مشخص شده که مهارکننده‌های گیرنده یک آنژیوتانسین ۲ (AT1) [8] و مهارکننده‌های آنزیم مبدل آنژیوتانسین [9] در کاهش فشار خون مؤثر می‌باشند.

درمان دارویی پرفشاری تحت تأثیر دسترس بودن، قیمت و اثرات مضر آنها می‌باشد [1]. شواهدی نشان می‌دهد که بعضی از علائم مربوط به پرفشاری توسط داروهای معمول بطور کامل قابل برطرف شدن نمی‌باشد و در زمانهایی پرفشاری غیرقابل کنترل می‌باشد، بنابراین بعضی از بیماران به درمان‌های مکمل و جایگزین از جمله طب سنتی با امید به بهبود علائم فشار خون بالای خود روی آورده‌اند [1,10]. زعفران (Saffron) با نام علمی کروکوس ساتیوس (Crocus sativus) گیاهی از تیره زنبق بوده که در ایران بخصوص استانهای خراسان جنوبی و رضوی کشت می‌شود [11]. این گیاه با خواص دارویی متعدد دارای چندین ترکیب مهم مؤثر بر سلامتی انسان شامل آنتوسیانین، فلاونوئیدها، ویتامین‌ها از جمله ویتامین ریوفلاوین و تیامین، ترکیبات معدنی، فیبر، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و چربی‌ها می‌باشد [12]. علاوه بر این ارزش کروکوس ساتیوس به وجود سه متابولیت ثانویه مهم موجود در عصاره این گیاه یعنی کروسین، پیکروکروسین و سافرانال نسبت داده می‌شود [13]. کروسین به عنوان یکی از مواد با ارزش زعفران یک ترکیب کاروتنوئیدی است که باعث رنگ زرد-طلایی مواد غذایی می‌شود. کروسین دارای اثرات مفیدی همچون ضد تومور، آنتی‌اکسیدان و ضد افزایش لیپیدها می‌باشد [12,14,15]. علاوه بر این، کروسین به همراه کروسستین دارای اثرات حفاظت کننده روی دستگاه قلب و عروق می‌باشند [16]. بعنوان مثال ایمن‌شده‌ی و همکاران نشان داده‌اند که زعفران و کروسین اثر مفیدی در موش‌های صحرایی با فشار خون طبیعی و پرفشار داشته‌اند [17]. همچنین کروسین از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و مرگ برنامه‌ریزی شده سمیت ایجاد شده بر دستگاه قلب و عروق توسط دیازینون را بهبود داده است [18]. در مطالعه قبلی ما اثر بهبود دهنده تزریق وریدی سه دوز کروسین را بر پرفشاری ناشی از تزریق وریدی آنژیوتانسین با دوز ۳۰۰ نانوگرم بر کیلوگرم را نشان دادیم [4]. چون دوز ۳۰۰ نانوگرم بر کیلوگرم غلظت بالایی است و همچنین تزریق وریدی کروسین که در مطالعه قبلی بررسی شد همراه با عوارض است. لذا در این مطالعه آنژیوتانسین ۲ با دوز کمتر ۵۰ نانوگرم بر کیلوگرم و کروسین بصورت داخلی صفاقی تزریق گردید و تأثیر کروسین با این روش تزریق بر پارامترهای قلبی-عروقی در موش‌های صحرایی پر فشار آنژیوتانسینی بررسی شد.

## مواد و روش ها

در مطالعه تجربی حاضر از ۳۰ سر موش صحرایی نر (محدوده وزنی  $23.0 \pm 1.0$  گرم) خریداری شده از لانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی مشهد استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد (چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته، دما  $20 \pm 2$  درجه سانتی گراد) با دسترسی کامل به آب و غذا نگهداری شدند. کار با حیوانات براساس دستورالعمل تایید شده توسط کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی مشهد (شماره مجوز ۹۰۰۵۵۹) انجام گرفت. این پژوهش در بازه زمانی ۲۱/۳/۹۳ الی ۶/۸/۹۴ انجام شده است. حیوانات بطور تصادفی به ۵ گروه به شرح زیر طبقه بندی شدند (تعداد ۶ سر موش صحرایی در هر گروه): گروه کنترل (Cont)، آنژیوتانسین ۲ ( $Ang II 50 ng/kg$ )، لوسارتان ۱۰ + آنژیوتانسین ۲ ( $Los + Ang II$ ) و دو گروه کروسین + آنژیوتانسین ۲ ( $Cro100 + Ang II$  و  $Cro200 + Ang II$ ). در گروه کنترل، سالیین بعنوان حلال دارو ها به صورت داخل وریدی تزریق شد. در گروه لوسارتان داروی لوسارتان (خریداری شده از شرکت داروپخش ایران) به میزان ۱۰ میلی گرم / کیلوگرم، ۲ دقیقه قبل از تزریق آنژیوتانسین ۲ به صورت داخل وریدی تزریق شد. در گروه های آنژیوتانسین ۲ و کروسین، آنژیوتانسین ۲ (Sigma- Aldrich, USA) به میزان ۵۰ نانوگرم / کیلوگرم به صورت داخل وریدی تزریق گردید. در گروه های دریافت کننده کروسین، کروسین به میزان ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم / کیلوگرم [4,17] ۳۰ دقیقه قبل از تزریق آنژیوتانسین ۲ به صورت داخل صفاقی تزریق گردید.

## روش انجام آزمایشات

به منظور انجام آزمایشات ابتدا حیوانات توسط اورتان ( $Sigma- Aldrich, USA$ ) به میزان ۱/۵ گرم / کیلوگرم و دوز تکمیلی ۰/۷ گرم / کیلوگرم به صورت تزریق داخل صفاقی بیهوش گردیدند. برای ثبت فشار خون و ضربان قلب، شریان فمورال توسط یک کاتتر پلی اتیلن ( $PE=50$ ) که از محلول سالیین هیپرنه ( $50u/ml$ ) پر شده بود کانول گذاری گردید. جهت گذاشتن کاتتر شریانی، حیوان را بر روی میز جراحی به پشت خوابانده، به وسیله تیغ جراحی برشی در قسمت داخلی ران چپ ایجاد کرده، پس از تمیز کردن ناحیه، شریان و ورید فمورال را مشخص و با دقت شریان را از ورید جدا شد. سپس با کشیدن پنست روی شریان، آن را پر خون کرده و پس از ایجاد یک شکاف کوچک روی شریان، کاتتر در داخل شریان قرار داده شد و توسط نخ بخیه ۶ صفر به بدن حیوان نیز فیکس گردید. سپس کاتتر شریانی به یک دستگاه ترانسدوسر از قبل هواگیری شده متصل گردید. به روشی مشابه شریان، کانول گذاری ورید فمورال جهت تزریق دارو انجام شد. پس از کانول گذاری موفق، تغییرات فشار خون سیستولیک (SBP)، متوسط فشار شریانی (MAP) و ضربان قلب (HR) با استفاده از دستگاه پاورلب (AD instrument, Australia) و برنامه Lab Chart 7 مربوطه به طور مداوم ثبت گردید. در این تحقیق، به منظور القا پرفشاری از تزریق داخل وریدی

آنژیوتانسین ۲ بر اساس مطالعات قبلی استفاده شد [4]. به طور خلاصه، آنژیوتانسین ۲ (۵۰ نانوگرم / کیلوگرم) به مدت ۲ دقیقه برای ایجاد یک فشار خون ثابت و بالا انفوزیون شد. قبل از تزریق داروها، فشار شریانی و ضربان قلب به مدت حداقل ۱۵ دقیقه ثبت می شد تا از ثابت ماندن آنها اطمینان حاصل شود. در گروه های کروسین، دو دوز (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم / کیلوگرم) از این ماده جداگانه و به صورت داخل صفاقی ۳۰ دقیقه قبل از آنژیوتانسین ۲ تزریق گردید. حجم تزریقی ۰/۵ میلی لیتر بود. بعد از تزریق داروها و حلال، ماکزیمم تغییرات ( $\Delta$ ): اختلاف بین قبل و بعد از تزریق (HR و MAP، SBP) محاسبه و بین این نتایج مقایسه صورت گرفت. در تمام مراحل آزمایش با استفاده از یک لامپ، دما در ۳۷ درجه سانتی گراد ثابت نگه داشته می شد.

## تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۸ انجام شد. داده ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین نشان داده شدند. ماکزیمم تغییرات ( $\Delta$ ) در دقایق متعدد بدست آمد و با استفاده از Repeated measures ANOVA و تست تعقیبی توکی مقایسه شدند. حداکثر تغییرات نیز توسط t-test آنالیز گردید.  $p < 0.05$  بعنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

## یافته ها

اثر تزریق سالیین بر پارامترهای قلبی و عروقی

به منظور بررسی اثر سالیین بر پارامترهای قلبی و عروقی، ابتدا پارامترهای SBP، MAP، HR اندازه گیری شد. سپس ۰/۵ میلی لیتر سالیین به صورت داخل وریدی تزریق و سپس این پارامترها اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که تغییرات SBP، MAP، HR نسبت به قبل از تزریق اختلاف معنی داری نداشت.

اثرات قلبی - عروقی تزریق داخل وریدی آنژیوتانسین ۲ (۵۰ نانوگرم / کیلوگرم)

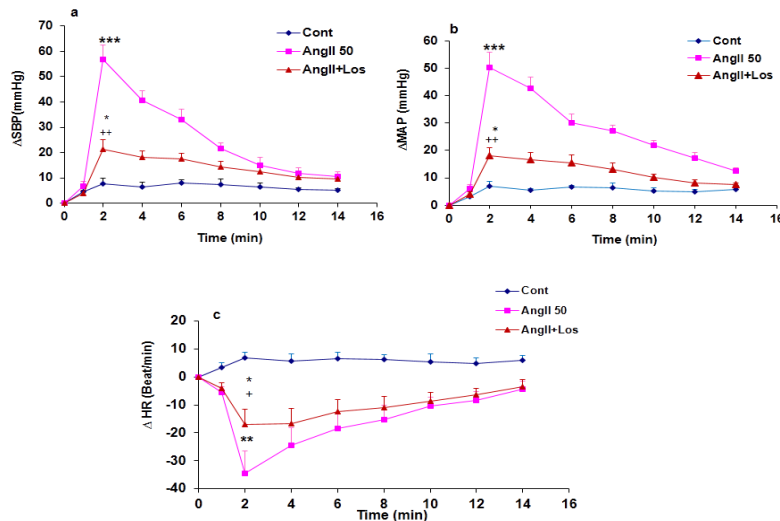
در مطالعه حاضر جهت القا پرفشاری، آنژیوتانسین ۲ به میزان ۵۰ نانوگرم / کیلوگرم به صورت داخل وریدی انفوزیون گردید و تغییرات در پارامترهای قلبی و عروقی (SBP، MAP و HR) در دقایق مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. براساس نتایج به دست آمده تزریق آنژیوتانسین ۲ باعث افزایش معنی دار SBP و MAP در گروه  $Ang II 50$  در مقایسه با گروه کنترل گردید ( $p < 0.01$ ; Repeated measures ANOVA) (شکل ۱a، ۱b). ضربان قلب نیز در دقایق مختلف نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ( $p < 0.05$  شکل ۱c). حداکثر تغییرات SBP و MAP نیز اختلاف معنی داری با کنترل داشت ( $p < 0.01$ ). حداکثر ضربان قلب نیز نسبت به کنترل بطور معنی داری کاهش یافت ( $p < 0.01$ ).

اثرات پیش درمانی لوسارتان بر پارامترهای قلبی - عروقی القا شده بوسیله آنژیوتانسین ۲

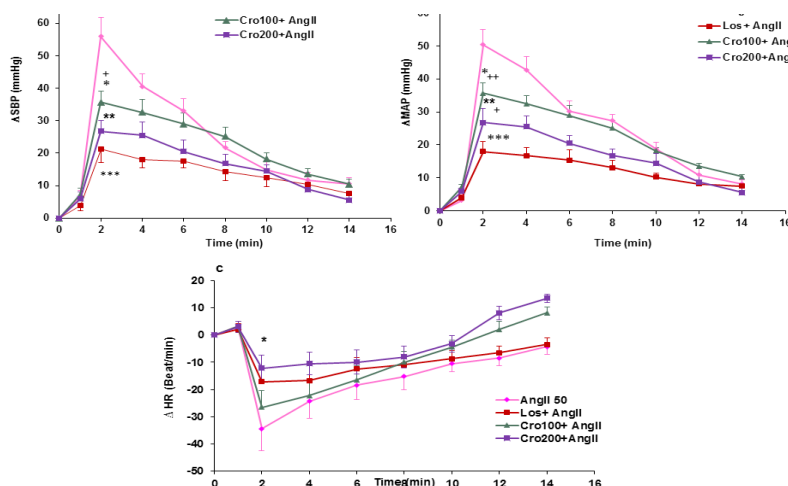
پیش درمانی با تزریق وریدی لوسارتان افزایش فشار خون (SBP و MAP) ناشی از آنژیوتانسین را در دقایق مختلف بطور معنی داری کاهش داد ( $p < 0.01$ ) (Repeated measures ANOVA). ماکزیمم تغییرات

میزان  $p < 0.05$ ، و در گروه  $200 \text{ Cro} + \text{Ang II}$  به میزان  $p < 0.01$  کاهش یافت. ماکزیمم تغییرات SBP و MAP در گروه های  $200 \text{ Cro} + \text{Ang II}$  و  $100 \text{ Cro} + \text{Ang II}$  نیز در مقایسه با گروه آنژیوتانسین ۲ معنی دار بود (به ترتیب  $P < 0.05$  و  $P < 0.01$ ) (شکل ۲a و ۲b). اثر معنی داری در تعداد ضربان قلب در دقایق مختلف در گروه  $100 \text{ Cro} + \text{Ang II}$  در مقایسه با گروه آنژیوتانسین ۲ مشاهده نشد، ولی در گروه  $200 \text{ Cro} + \text{Ang II}$  ضربان قلب نسبت به گروه آنژیوتانسین ۲ افزایش معنی داری داشت ( $p < 0.05$ ) (شکل ۲c). حداکثر تغییرات ضربان قلب نیز فقط در گروه  $200 \text{ Cro} + \text{Ang II}$  معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). در گروه

MAP و SBP در گروه  $\text{AngII} + \text{Los}$  در مقایسه با گروه  $\text{Ang II}$  ۵۰ نیز کاهش داشتند ( $p < 0.01$ ) (شکل ۱a و ۱b). برادیکاردی القا شده به وسیله آنژیوتانسین ۲ در گروه  $\text{AngII} + \text{Los}$  در مقایسه با گروه  $\text{Ang II}$  ۵۰ در دقایق مختلف کاهش یافت ( $p < 0.05$ ) (شکل ۱c). حداکثر میزان برادیکاردی نیز به میزان  $p < 0.05$  نسبت به آنژیوتانسین کاهش یافت. اثر پیش درمانی با کروسین روی پرفشاری القا شده با آنژیوتانسین ۲ در این آزمایش کروسین (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم / کیلوگرم) ۳۰ دقیقه قبل از آنژیوتانسین ۲ بصورت داخل صفاقی تزریق گردید. SBP و MAP در دقایق مختلف در گروه  $100 \text{ Cro} + \text{Ang II}$  به



شکل ۱: تغییرات زمانی (Time course) فشار خون سیستولیک (a)  $(\Delta SBP)$ ، فشار متوسط شریانی (b)  $(\Delta MAP)$  و ضربان قلب (c)  $(\Delta HR)$  در حیوانات پرفشار القا شده به وسیله آنژیوتانسین ۲.  $\Delta SBP$ ،  $\Delta MAP$  و  $\Delta HR$  ناشی از تزریق آنژیوتانسین ۲ در دقایق مختلف با گروه های کنترل (Cont) و لوسارتان ( $\text{Los} + \text{Ang II}$ ) مقایسه شده است (Repeated measures ANOVA). حداکثر تغییرات نیز توسط t-test انجام شد و سیمبول ها نشان دهنده حداکثر تغییرات می باشد.  $p < 0.05$  \* و  $p < 0.01$  \*\*\* مقایسه آنژیوتانسین ۲ و لوسارتان با گروه کنترل  $p < 0.05$  + مقایسه گروه لوسارتان با آنژیوتانسین ۲



شکل ۲: مقایسه تغییرات زمانی (Time course) فشار خون سیستولیک (a)  $(\Delta SBP)$ ، فشار متوسط شریانی (b)  $(\Delta MAP)$  و ضربان قلب (c)  $(\Delta HR)$  بین ۲ گروه مورد آزمایش.  $\Delta SBP$ ،  $\Delta MAP$  و  $\Delta HR$  ناشی از تزریق کروسین (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم / کیلوگرم) در دقایق مختلف با گروه های آنژیوتانسین ۲ و لوسارتان مقایسه شده است (Repeated measures ANOVA). حداکثر تغییرات نیز توسط t-test انجام شد و سیمبول ها نشان دهنده حداکثر تغییرات می باشد.  $p < 0.05$  \*\*،  $p < 0.01$  \*،  $p < 0.001$  \*\*\* مقایسه گروه ها با آنژیوتانسین ۲،  $p < 0/05$  +،  $p < 0/01$  + مقایسه لوسارتان (AngII + Los) با گروه های کروسین

Ang II + Cro100 حداکثر تغییرات MAP به میزان  $p < 0.05$  و در گروه Cro200 + Ang II SBP و MAP به ترتیب به میزان  $p < 0.05$  و  $p < 0.01$  نسبت به گروه AngII + Los دار بودند (شکل ۲a و ۲b).

### بحث

ما در این مطالعه اثر بهبود دهنده تزریق داخل صفاقی کروسین بعنوان یکی از مواد فعال زعفران را بر پرفشاری القا شده توسط آنژیوتانسین ۲ مورد مطالعه قرار دادیم. نتایج نشان داد که تزریق آنژیوتانسین ۲ به طور معنی داری باعث افزایش MAP، SBP و کاهش HR در مقایسه با گروه کنترل گردید. پرفشاری یک موضوع نگران کننده جهانی است که تعداد زیادی از افراد مسن در جهان درگیر آن می باشند و در صورت عدم درمان باعث افزایش خطر سکته مغزی، انفارکتوس میوکارد، بیماری های عروقی و بیماری های حاد کلیوی می شود [19]. شواهد علمی نشان می دهند که تشخیص و درمان به موقع فشار خون بالا برای جلوگیری از مرگ و میر ضروری می باشد [20]. سیستم RAS یک سیستم هورمونی تنظیم کننده مایعات بدن، هموستاز الکترولیت ها و تون عروقی می باشد [21]. این اعمال کلاسیک سیستم RAS از طریق افکتورهای پپتیدی شامل آنژیوتانسین ۲ و ۳ میانجی گری می شوند [22]. آنژیوتانسین ۲ بعنوان افکتور اصلی این سیستم باعث چندین اثر روی کلیه ها، غدد فوق کلیه، سیستم عصبی سمپاتی، و رفلکس های بارورسپتوری می شود [21,23]. همچنین محققین گزارش کرده اند که پرفشاری القا شده توسط همچنین گزارش شده که پرفشاری القا شده توسط آنژیوتانسین ۲ می تواند به روشهای مختلف از جمله افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی یا کاهش رهایش نیتریک اکساید صورت گیرد [4,24]. در این مطالعه آنژیوتانسین ۲ باعث کاهش ضربان قلب شد که ممکن است به علت فعال شدن بارورفلکسها باشد.

بر اساس نتایج حاصل از مطالعه حاضر تزریق داخل صفاقی کروسین باعث پیشگیری از افزایش فشار خون ناشی از آنژیوتانسین ۲ شده است. مکانیسم این اثر کروسین مشخص نیست ولی ممکن است به روشهای متعددی اثر داشته باشد. مثلا مانجینی و همکارانش نشان داده اند که کروسین مشتق شده از زعفران باعث افزایش مواد گشاد کننده عروقی از جمله نیتریک اکساید می شوند [25]. گزارشات علمی همچنین نشان دادند که کروسین می تواند باعث مهار رهایش کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی عضله صاف عروق شود [26]. همچنین عصاره زعفران باعث مهار کانال های کلسیمی در قلب ایزوله خوکچه های هندی شده است [27]. با توجه به این شواهد علمی پیشنهاد می شود که احتمالا اثر تضعیف کننده کروسین روی پرفشاری ایجاد شده به وسیله آنژیوتانسین ۲ از طریق حداقل یکی از این مسیرهای فوق میانجی گری شده باشد. علاوه بر این استرس اکسیداتیو و تولید بیش از حد رادیکال های آزاد بعنوان یکی از مهم ترین فاکتورهای سهم در پاتوژنز بیماری قلبی عروقی در نظر گرفته می شود [28]. بر اساس گزارشات علمی بروز بیماری های قلبی عروقی می تواند همراه با تولید بیش از حد گونه های اکسیژنی واکنش دهنده (Reactive Oxygen Species: ROS) و کاهش فعالیت

سیستم آنتی اکسیدان اندوژن باشد [29]. محققین نشان دادند که آنژیم های آنتی اکسیدانی از جمله آنژیم سوپراکسید دیسموتاز بعنوان یک عامل مهم در خنثی سازی گونه های اکسیژنی واکنش دهنده عمل می کند و اولین خط دفاعی بر ضد آسیب های اکسیداتیو می باشند [30]. مطالعات فارماکولوژیکال نیز نشان می دهند که کروسین دارای خواص آنتی اکسیدانی قوی می باشد [31]. بعنوان مثال کروسین می تواند با افزایش فعالیت آنژیم سوپراکسید دیسموتاز علاوه بر کاهش مالون دی آلدئید در انفارکتوس میوکارد باعث حفاظت قلب در مقابل آسیب اکسیداتیو بشود [32]. از طرف دیگر در پاتولوژی اختلال عملکرد عروقی پاسخ های التهابی نیز نقش دارند [33]. احتمال اینکه آنژیوتانسین ۲ از طریق التهاب باعث افزایش فشار خون شود وجود دارد. چون کروسین خاصیت ضد التهابی دارد. ممکن است از این طریق نیز در کاهش فشار خون موثر باشد.

در این مطالعه اثر آنژیوتانسین ۲ توسط لوسارتان کاهش یافت. چون لوسارتان بلوک کننده گیرنده های AT1 روی اندوتلیوم عروق است می تواند اثر آنژیوتانسین ۲ بر عروق را کاهش دهد. همچنین بلوک آنژیوتانسین ۲ احتمالا باعث افزایش نیتریک اکساید یا کاهش گونه های اکسیژنی واکنش دهنده به ویژه آنیون سوپر اکساید بشود [34]. گرچه اثر حد آنژیوتانسین ۲ بررسی شده است ولی احتمالا زمان لازم جهت اثر کروسین بر گونه های فعال اکسیژن کم باشد.

گیرنده های AT1 گیرنده های در سیستم عصبی مرکزی و عروق می باشند که اثر تحریکی آنژیوتانسین ۲ از جمله انقباض عروقی را روی فشار خون میانجی گری می کنند [35,36]. احتمال اینکه کروسین در سیستم عصبی مرکزی نیز باعث بلوک گیرنده های AT1 و کاهش مرکزی فشار خون شوند نیز وجود دارد. یافته های علمی نشان می دهند که استفاده از لوسارتان بعنوان مهار کننده انتخابی گیرنده های AT1 می تواند باعث کاهش فشار و وابسته به رنین در بیماران با پرفشاری اساسی بشود [37]. لذا احتمال اینکه کروسین از طریق اثر بر روی رنین باعث کاهش فشار خون شود نیز وجود دارد.

در این مطالعه ما اثر آنژیوتانسین ۲ را ۳۰ دقیقه بعد از تزریق کروسین بررسی کردیم و اثرات خوبی نیز مشاهده شد. در مطالعه قبلی نیز ۱۰ دقیقه بعد از تزریق عصاره اثر مفید عصاره مشاهده شد [4]. ولی اینکه دوره اثر کروسین چقدر است مشخص نیست و نیاز به مطالعات بیشتری دارد. همچنین در دوز ۳۰۰ علاوه بر افزایش فشار خون افزایش ضربان قلب نیز مشاهده شد که احتمالا به علت افزایش فعالیت سمپاتی یا اثر مستقیم بر قلب میتواند باشد. ولی در این مطالعه دوز ۵۰ استفاده شده که دوز مناسبی برای بررسی اثر آنژیوتانسین ۲ است. کاهش ضربان قلب نیز در دوز ۵۰ آنژیوتانسین ۲ مشاهده شد و این برادیکاردی توسط عصاره ها کاهش زیادی نداشت که به نظر میرسد عصاره بر این برادیکاردی اثر ندارد.

### نتیجه گیری

به طور خلاصه، دوز ۵۰ ng/kg آنژیوتانسین باعث افزایش فشار خون و کاهش ضربان قلب گردید. افزایش فشار خون توسط کروسین تضعیف گردید ولی بر ضربان قلب اثر مهمی نداشت.

Physiol Cell Physiol. 2007;292(1):C82-C97.

7- Rajagopalan S, Kurz S, Münzel T, Tarpey M, Freeman BA, Griendling KK, et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest.* 1996;97(8):1916-23.

8- Timmermans PB, Wong PC, Chiu AT, Herblin WF, Benfield P, Carini D, et al. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol Rev.* 1993;45(2):205-51.

9- Cockcroft JR. ACE inhibition in hypertension. *Am J Cardiovasc Drugs.* 2007;7(5):303-17.

10- Xu H, Chen K-j. Complementary and alternative medicine: is it possible to be mainstream? *Chin J Integ Med.* 2012;18(6):403-4.

11- Hosseinzadeh H, Ziaee T, Sadeghi A. The effect of saffron, *Crocus sativus* stigma, extract and its constituents, safranal and crocin on sexual behaviors in normal male rats. *Phytomedicine.* 2008;15(6-7):491-5.

12- José Bagur M, Alonso Salinas GL, Jiménez-Monreal AM, Chaouqi S, Llorens S, Martínez-Tomé M, et al. Saffron: An Old Medicinal Plant and a Potential Novel Functional Food. *Molecules.* 2017;23(1):30.

13- Alavizadeh SH, Hosseinzadeh H. Bioactivity assessment and toxicity of crocin: a comprehensive review. *Food Chem Toxicol.* 2014;64:65-80.

14- Hosseinzadeh H, Shamsaie F, Mehri S. Antioxidant activity of aqueous and ethanolic extracts of *Crocus sativus* L. stigma and its bioactive constituents, crocin and safranal. *Pharmacogn Mag.* 2009;5(20):419.

15- Sun Y, Xu H-J, Zhao Y-X, Wang L-Z, Sun L-R, Wang Z, et al. Crocin exhibits antitumor effects on human leukemia HL-60 cells in vitro and in vivo. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013.

16- Goyal S, Arora S, Sharma A, Joshi S, Ray R, Bhatia J, et al. Preventive effect of crocin of *Crocus sativus* on hemodynamic, biochemical, histopathological and ultrastructural alterations in isoproterenol-induced cardiotoxicity in rats. *Phytomedicine.* 2010;17(3-4):227-32.

17 - Imenshahidi M, Hosseinzadeh H, Javadpour

چون اثر کروسین بر فشار خون با لوسارتان قابل مقایسه است میتوان گفت اثر قلبی عروقی کروسین احتمالاً از طریق گیرنده AT1 آزیوتانسین ۲ صورت می گیرد

تشکر و قدر دانی: نتایج توصیف شده در این مقاله برگرفته شده از پایان نامه کارشناسی ارشد دانشجویی می باشند. نویسندگان بر خود لازم می دانند که از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد در اعطای تسهیلات مالی لازم جهت انجام این پروژه صمیمانه تشکر نمایند.

تعارض منافع: هیچ گونه تعارض منافی توسط نویسندگان بیان نشده است.

سهام نویسندگان: اکبر آنائی گودری (نویسنده اول) ۲۵٪، عبدالعلی فرامرزی (نویسنده دوم) ۲۵٪، عباسعلی عباس نژاد (نویسنده سوم) ۲۵٪، محمد ناصر شافعی (نویسنده مسئول) ۲۵٪.

تائیدیه اخلاقی: مطابق مجوز شماره ۹۳۸۳۴ معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد و براساس قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی، ملاحظات اخلاقی با نظارت کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مشهد رعایت شد.

منابع مالی: منابع مالی این پروژه توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد تأمین شده است.

## منابع

- 1- Wang J, Xiong X. Outcome measures of Chinese herbal medicine for hypertension: an overview of systematic reviews. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012;2012.
- 2- MacMahon S, Alderman MH, Lindholm LH, Liu L, Sanchez RA, Seedat YK. Blood-pressure-related disease is a global health priority. *J Hypertend.* 2008;26(10):2071-2.
- 3- Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet.* 2005;365(9455):217-23.
- 4- Shafei MN, Faramarzi A, Rad AK, Anaegoudari A. Crocin prevents acute angiotensin II-induced hypertension in anesthetized rats. *Avicenna J Phytomed.* 2017;7(4):345.
- 5- Ferreira JCB, Bacurau AV, Evangelista FS, Coelho MA, Oliveira EM, Casarini DE, et al. The role of local and systemic renin angiotensin system activation in a genetic model of sympathetic hyperactivity-induced heart failure in mice. *Am J Physiol Regul Integ Comp Physiol.* 2008;294(1):R26-R32.
- 6- Mehta PK, Griendling KK. Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *Am J*

- in oxidative stress: a new look at the mechanisms for cardiovascular diseases. *J Cell Mol Med.* 2017;21(5):1024-32.
- 29- Chandra M, Surendra K, Kapoor R, Ghatak A, Kaur G, Pandey N, et al. Oxidant stress mechanisms in heart failure. *Boll Chim Farm.* 2000;139(3):149-52.
- 30- Bashar T, Akhter N. Study on oxidative stress and antioxidant level in patients of acute myocardial infarction before and after regular treatment. *Bangladesh Medi Res Counc Bull.* 2015;40(2):79-84.
- 31- Zheng Y-Q, Liu J-X, Wang J-N, Xu L. Effects of crocin on reperfusion-induced oxidative/nitrative injury to cerebral microvessels after global cerebral ischemia. *Brain Res.* 2007;1138:86-94.
- 32- Wang Y, Wang Q, Yu W, Du H. Crocin Attenuates Oxidative Stress and Myocardial Infarction Injury in Rats. *Int Heart J.* 2018;59(2):387-93.
- 33- Husain K, Hernandez W, Ansari RA, Ferder L. Inflammation, oxidative stress and renin angiotensin system in atherosclerosis. *World J Biol Chem.* 2015;6(3):209.
- 34- Trejo-Moreno C, Mendez-Martinez M, Zamilpa A, Jimenez-Ferrer E, Perez-Garcia MD, Medina-Campos ON, et al. Cucumis sativus Aqueous Fraction Inhibits Angiotensin II-Induced Inflammation and Oxidative Stress In Vitro. *Nutrients.* 2018 Feb 28;10(3).
- 35- Jackson KL, Marques FZ, Lim K, Davern PJ, Head GA. Circadian differences in the contribution of the brain renin-angiotensin system in genetically hypertensive mice. *Front Physiol.* 2018;9:231.
- 36- Cavka A, Cosic A, Grizelj I, Koller A, Jelaković B, Lombard JH, et al. Effects of AT1 receptor blockade on plasma thromboxane A2 (TXA2) level and skin microcirculation in young healthy women on low salt diet. *Kidney Blood Press Res.* 2013;37(4-5):432-42.
- 37- Tsunoda K, Abe K, Hagino T, Omata K, Misawa S, Imai Y, et al. Hypotensive effect of losartan, a nonpeptide angiotensin II receptor antagonist, in essential hypertension. *Ame J Hypertens.* 1993;6(1):28-32.
- rats. *J Am Soc Nephrol.* 1995;6(4):1295-9.
- Y. Hypotensive effect of aqueous saffron extract (*Crocus sativus* L.) and its constituents, safranal and crocin, in normotensive and hypertensive rats. *Phytother Res.* 2010 Jul;24(7):990-4.
- 18- Razavi BM, Hosseinzadeh H, Movassaghi AR, Imenshahidi M, Abnous K. Protective effect of crocin on diazinon induced cardiotoxicity in rats in subchronic exposure. *Chem Biol Interact.* 2013;203(3):547-55.
- 19- Ghods R, Gharouni M, Amanlou M, Sharifi N, Ghobadi A, Amin G. Effect of *Onopordon acanthium* L. as Add on Antihypertensive Therapy in Patients with Primary Hypertension Taking Losartan: a Pilot Study. *Adv Pharm Bull.* 2018;8(1):69.
- 20- Sever PS, Messerli FH. Hypertension management 2011: optimal combination therapy. *Eur Heart J.* 2011;32(20):2499-506.
- 21- Gebre AK, Altaye BM, Atey TM, Tuem KB, Berhe DF. Targeting Renin-Angiotensin System Against Alzheimer's Disease. *Front Pharmacol.* 2018;9.
- 22- Atlas SA. The renin-angiotensin aldosterone system: pathophysiological role and pharmacologic inhibition. *J Manag Care Pharm.* 2007;13(8 Supp B):9-20.
- 23- Dasgupta C, Zhang L. Angiotensin II receptors and drug discovery in cardiovascular disease. *Drug Discov Today.* 2011;16(1-2):22-34.
- 24- Crowley SD, Gurley SB, Herrera MJ, Ruiz P, Griffiths R, Kumar AP, et al. Angiotensin II causes hypertension and cardiac hypertrophy through its receptors in the kidney. *Proc Natl Acad Sci.* 2006;103(47):17985-90.
- 25- Mancini A, Serrano-Díaz J, Nava E, D'alessandro AM, Alonso GL, Carmona M, et al. Crocetin, a carotenoid derived from saffron (*Crocus sativus* L.), improves acetylcholine-induced vascular relaxation in hypertension. *J Vascul Res.* 2014;51(5):393-404.
- 26- He SY, Qian ZY, Tang FT. Effect of crocin on intracellular calcium concentration in cultured bovine aortic smooth muscle cells. *Yao Xue Xue Bao.* 2004;39(10):778-81.
- 27- Boskabady M, Shafei M, Shakiba A, Sefidi HS. Effect of aqueous-ethanol extract from *Crocus sativus* (saffron) on guinea-pig isolated heart. *Phytother Res.* 2008;22(3):330-4.
- 28- Kander MC, Cui Y, Liu Z. Gender difference