Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol.13, No.1, Spring 2013, Pages 78 - 85

Effect of the Aqueous Saffron Extract *(Crocus sativus L.)* on Skeletal System in Fetus of Rats

Najafzadeh H [*1], Khaksari Mahabadi M[1], Rezaie S[1], Ardalani P[1]

[1] Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

*Corresponding Author. Tel: +989166182496 Fax: +986113360807 E-mail: najafzadeh@scu.ac.ir

Received: 29 January 2012 Accepted: 2 March 2013

ABSTRACT

Background: *Crocus sativus* L., commonly known as saffron is used for different purposes such as an antispasmodic and expectorant. Recent studies have demonstrated that saffron extracts have antitumor, radical scavenger, hypolipidemic, anticonvulsant effects and it improves activity on learning and memory. The aim of the present study was to assess the effect of aqueous saffron extract on weight, length, macroscopic and microscopic skeletal malformation in fetuses of rats.

Methods: Study was carried on 3 groups of female Wistar rats. Group1 was kept as control and received normal saline with equal volume of extract; Group 2 received saffron extract with 80mg/kg-IP on 10th and 11th day of gestation; Group 3 received saffron extract with 200mg/kg-IP on 10th and 11th day of gestation. Rats were dissected on day 20 of gestation, embryos harvested by cesarean section. The living status and weight and length of fetuses were detected. After examination for determination of gross malformations, fetuses were placed in alcohol and stained by Alizarin red-Alcian blue method; then evaluation was carried by stereomicroscope.

Results: Saffron extract at dose of 80 mg/kg significantly increased the weights and body-lengths of fetuses in compare with saline and extract at dose 200 mg/kg. Macroscopic and Microscopic studies did not show any skeletal abnormalities by two above doses of saffron.

Conclusion: The results show short time administration of saffron aqueous extract does not cause malformation on skeletal system.

Key words: Saffron; Skeletal system; Malformation; Rats

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-12-31]

بررسی اثر تجویز عصاره آبی زعفران بر سیستم اسکلتی جنین های رت

حسین نجف زاده[1]*، محمود خاکساری مهابادی[1]، ساره رضایی[1]، پگاه اردلانی[1]

[1] گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن:۰۹۱۶۶۱۸۲۴۹۶ فاکس: ۰۶۱۱۳۳۶۰۸۰۷ E-mail: najafzadeh@scu.ac.ir

خلاصه

زمینه و هدف: زعفران (*Crocus sativus L.*) برای مقاصد مختلفی از جمله به عنوان ضد اسپاسم و خلط‌آور استفاده می‌شود. مطالعات اخیر نشان داده است که عصارهٔ زعفران اثرات ضد توموری، جمع‌آوری کنندهٔ رادیکال‌های آزاد، کاهندهٔ چربی خون و ضد تشنجی دارد و فعالیت یادگیری و حافظه را بهبود می‌بخشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر عصارهٔ آبی زعفران بر روی وزن، طول و ناهنجاری های ماکروسکوپی و میکروسکوپی ساختار اسکلت جنین رت (موش صحرایی) بود.

روش کار: مطالعه بر روی ۳ گروه از رت های ماده نژاد ویستار انجام شد. گروه اول به عنوان شاهد نگهداری شدند و نرمال سالین را هم حجم عصاره زعفران دریافت کردند، گروه دوم عصاره آبی کلاله زعفران را با دوز ۸۰ میلی گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن رت بصورت داخل صفاقی در روز های ۱۰ و ۱۱ آبستنی دریافت کردند، گروه سوم همانند گروه دوم عصارهٔ آبی زعفران را دریافت کردند ولی دوز مصرفی ۲۰۰ میلی گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن رت بصورت داخل صفاقی بود. در روز بیستم آبستنی، رت ها آسان کشی شدند و با سزاریین جنین ها خارج شدند. وضعیت زنده بودن، وزن و طول جنین ها (از سر تا مهره اول دم) اندازه گیری شد. وضعیت جنین ها بررسی شد تا هرگونه ناهنجاری ماکروسکوپی مشخص شود. سپس جنین ها در الکل قرار داده شدند و پس از رنگ آمیزی با رنگ آلیزارین قرمز و آلسین آبی، ناهنجاری های اسکلتی با استریومیکروسکوپ ارزیابی گردد.

یافته ها: نتایج نشان داد که عصارهٔ آبی زعفران در دوز ۸۰ میلی گرم وزن و طول جنین ها را در مقایسه با گروه شاهد و گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ میلی گرم افزایش معنی داری داد. عصارهٔ آبی زعفران در بررسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی در دو دوز فوق هیچ گونه ناهنجاری اسکلتی ایجاد نکرده بود.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد تجویز کوتاه مدت عصاره آبی زعفران سبب ایجاد ناهنجاریهای اسکلتی نمی شود.

کلمات کلیدی: عصارهٔ آبی زعفران، سیستم اسکلتی، ناهنجاری، رت

دریافت: ۹۰/۱۱/۹ **پذیرش:** ۹۱/۱۲/۱۲

مقدمه

در معرض بودن جنین با مواد شیمیایی از جمله داروها ممکن است منجر به ناهنجاری های جنینی یا سقط گردد. نواقص تکاملی هنوز یکی از مشکلات مهم بهداشتی محسوب می شود و در آمریکا ۳٪ تا ۵ ٪ نوزادان به دنیا آمده دچار نواقص تکاملی هستند. حدود ۲٪ تا ۳٪ از جمعیت عمومی دچار ناهنجاری های ناشی از عوامل تراتوژن می باشند که در حدود ۱٪ آنها به دارو درمانی در دوره آبستنی بر می‌گردد. اگر چه تقریباً ٤٠ ماده به عنوان تراتوژن برای جنین انسان معرفی می شوند، اما داروهای بسیار زیادی در حیوانات آزمایشگاهی ناهنجاری های جنینی ایجاد می کنند [۱].

زعفران یک چاشنی غذایی پرمصرف است. زعفران (*Crocus sativus* L.) گیاهی کوچک و چند ساله از خانواده زنبق به ارتفاع ۳۰ - ۱۰ سانتی متر و پیازدار که پیاز آن تقریباً کروی و پوشیده از غشاهای نازک قهوه ای است. قسمت مورد استفاده این گیاه، انتهای

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-12-31]

خامه و کلاله سه شاخه است که به نام زعفران مشهور و دارای بوی معطر با طعم کمی تلخ است. طعم تلخ زعفران ناشی از وجود ماده ای به نام پیکروکروسین است. این ماده بر اثرتجزیه حرارتی یا آنزیمی به آلدییدی به نام سافرانال تبدیل می شود. کروسین ها مسؤول رنگ زعفران محسوب می شوند. کاروتنوییدهای دیگری مانند بتاکاروتن، لیکوپن و گزانتین و ویتامین ها به خصوص ریبوفلاوین و تیامین نیز در زعفران یافت می شوند. کروسین، کروستین و سافرانال مواد موثره اصلی زعفران هستند [۲].

مطالعات اخیر نشان داد که عصارهٔ زعفران اثرات ضد توموری داشته و جمع‌آوری کنندهٔ رادیکال‌های آزاد می باشد و چربی خون را می کاهد[۳]. زعفران می تواند فشار خون را کاهش دهد[٤] و اثرات ضد تشنجی دارد [۵]. عصاره زعفران توانست از تخریب حافظه در رت جلوگیری نماید [۷،۶]. همچنین عصاره زعفران اثر ضد اضطرابی و خواب آوری در رت داشته است [۸]. در یک مطالعه دوسویه کور بر روی زنان مشاهده شد که زعفران می تواند در بهبود سندرم قاعدگی مفید باشد [۹].

در مطالعه ایی در ایران، سقط جنین ناشی از تماس با زعفران در زنان بررسی شد و مشاهده گردید که فراوانی سقط جنین در زنانی که در مزارع زعفران مشغول بکار بوده اند ۱۰/۵٪ بوده است [۱۰]. بعلاوه گزارشی هم از جذب جنین رت کوچک در اثر تجویز جوشانده زعفران وجود دارد [۱۱]. از طرفی زعفران می تواند بر روی دستگاه تولید مثلی موثر باشد که احتمالا از طریق تغییرات هورمونی یا مستقیم بافتی این اثرات را اعمال می کند [۱٤-۱۲].

بنابراین با توجه به اثرات زعفران بر دستگاه تولید مثلی و تغییرات هورمونی، هدف از این مطالعه بررسی اثر عصارهٔ آبی زعفران بر روی تغییرات وزن، طول و ناهنجاری های ماکروسکوپی و میکروسکوپی ساختار اسکلت جنین رت (رت صحرایی) بوده است.

روش کار

مطالعه بر روی ۳ گروه از رت های ماده نژاد ویستار انجام شد. در هر گروه از ۸ سر رت جفت گیری شده استفاده گردید و با مشاهده پلاک واژینال روز صفر آبستنی تلقی شد. رت ها در دمای ۲٤-۲۲ درجه سانتیگراد و با سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. رت ها در طی مطالعه از غذای پلیت شده کارخانه ایی و آب لوله کشی شهر استفاده کردند. گروه اول به عنوان شاهد نگهداری شدند و نرمال سالین را هم حجم عصاره زعفران دریافت کردند، گروه دوم عصاره آبی کلاله زعفران را با دوز ۸۰ میلی گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن رت بصورت داخل صفاقی در روز های ۱۰ و ۱۱ آبستنی دریافت کردند، گروه سوم همانند گروه دوم عصارهٔ آبی زعفران را دریافت کردند ولی دوز مصرفی ۲۰۰ میلی گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن رت بصورت داخل صفاقی بود. در روز بیستم آبستنی، رت ها آسان کشی شدند و با سزاریین جنین ها خارج شدند. وضعیت زنده بودن، وزن و طول جنین ها اندازه گیری شد. وضعیت جنین ها بررسی شد تا هرگونه ناهنجاری ماکروسکوپی مشخص شود. سپس جنین ها در الکل قرار داده شدند و پس از رنگ آمیزی با رنگ آلیزارین قرمز و آلسین آبی، ناهنجاری های اسکلتی با استریومیکروسکوپ مدل SMZ 800 ساخت نیکون ژاپن ارزیابی گردید. در این رنگ آمیزی قسمت های غضروفی به رنگ آبی و قسمت های استخوانی به رنگ قرمز مشاهده می شوند. هرگونه ناهنجای اسکلتی اعم از شکاف کام، بدشکلی های دنده ها و ستون مهره ها و دست و پا بوسیله این رنگ آمیزی و استریومیکروسکوپ قابل شناسایی می باشد.

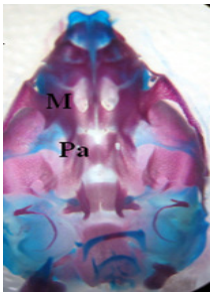
نتایج بوسیله نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ آنالیز آماری شد و بوسیله آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی LSD مقایسه گردید. داده ها بصورت

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-12-31]

میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شد و تفاوت میانگین ها با p<۰/۰۵ معنی دار تلقی شد.

یافته ها

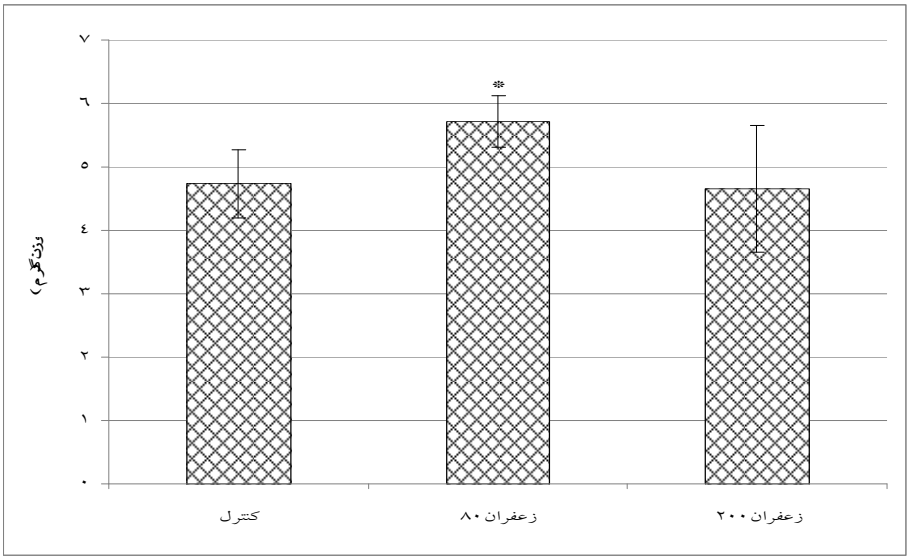
با تجویز عصاره آبی زعفران با دو دوز ۸۰ و ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز دهم و یازدهم حاملگی رت های صحرایی هیچ عارضه ماکروسکوپی اسکلتی در جنین ها مشاهده نشد (شکل ۱).



شکل ۱. نمای جلویی سر جنین رت ۲۰ روزه که با آلسین بلو و- آلزارین رد رنگ آمیزی شده است. نواحی قرمز رنگ استخوانی بوده و نواحی آبی رنگ غضروفی می باشند.

همچنین جنین های جذب شده یا کوچک شده (عدم رشد) در هیچ یک از رتها مشاهده نگردید. همانطوری که در نمودار ۱ مشاهده می شود، (میانگین ± خطای استاندارد) وزن جنین ها در گروه شاهد (دریافت کننده نرمال سالین) ۰/۵۳ ± ٤/۷۳ گرم بوده است که این میانگین با میانگین وزن جنین ها در گروه دریافت کننده زعفران با دوز ۸۰ میلی گرم (٥/۷۱±۰/٤ گرم) تفاوت معنی داری داشته است (p<۰/۰۰۱). بطوری که افزایش قابل ملاحظه ایی در وزن جنین ها مشاهده شد.

بعلاوه میانگین فوق در گروه های دریافت کننده زعفران با دوز ۲۰۰ میلی گرم ۰/۹۹±٤/٦٥ گرم بوده است که این مقدار در مقایسه با گروه دریافت کننده زعفران با دوز ۸۰ میلی گرم کمتر بوده و اختلاف معنی داری با آن داشته است (p<۰/۰۰۱). میانگین وزن جنین ها در گروه دریافت کننده زعفران با دوز ۲۰۰ میلی گرم با گروه شاهد تفاوت معنی داری نداشته است (نمودار ۱).

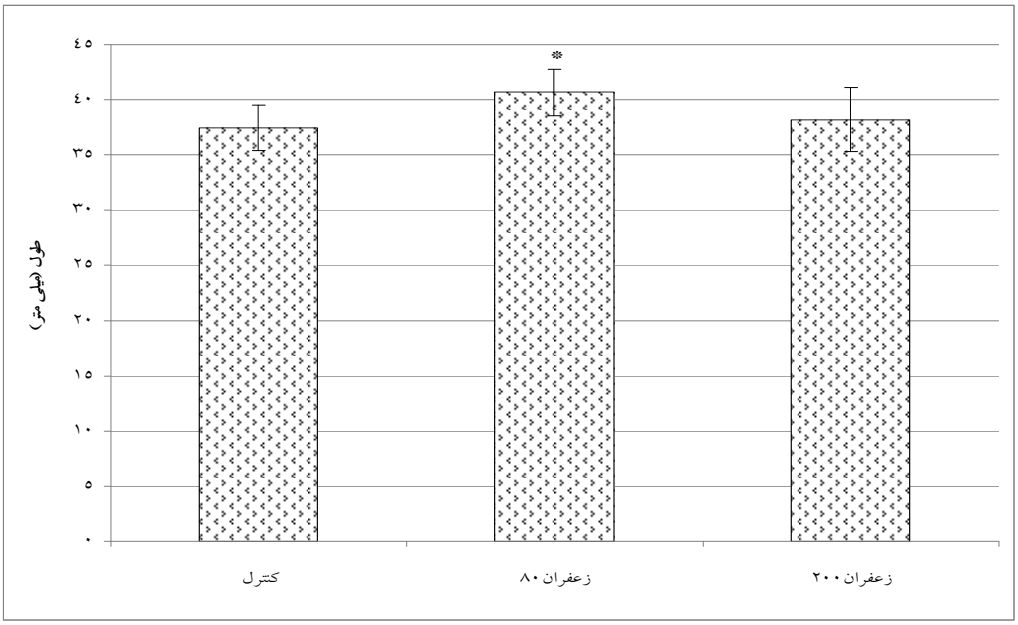


نمودار ۱. میانگین ± خطای استاندارد وزن (بر حسب گرم) جنین رت های صحرایی که دوزهای ۸۰ و ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن را در روز دهم و یازدهم آبستنی دریافت کردند. علامت ستاره بیانگر اختلاف معنی دار با سایر گروه ها می باشد (p<0.05).

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-12-31]

همان طوری که در نمودار ۲ مشاهده می شود، میانگین طول جنین ها (± خطای استاندارد) در گروه شاهد (دریافت کننده نرمال سالین) ۳۷/۴۸±۲/۰۸ میلی متر بوده است که این میانگین با میانگین طول جنین ها در گروه دریافت کننده زعفران با دوز ۸۰ میلی گرم (۴۰/۶۸±۲/۱۲ میلی متر) تفاوت معنی داری داشته است (p<۰/۰۱). بعلاوه میانگین فوق در گروه های دریافت کننده زعفران با دوز ۲۰۰ میلی گرم ۳۸/۲۱±۲/۸۹ میلی متر بوده است که این مقدار در مقایسه با گروه دریافت کننده زعفران با دوز ۸۰ میلی گرم کمتر بوده و اختلاف معنی داری با آن داشته است (p<۰/۰۱).

میانگین طول جنین ها در گروه دریافت کننده زعفران با دوز ۲۰۰ میلی گرم با گروه شاهد تفاوت معنی داری نداشته است (نمودار ۲).



نمودار ۲. میانگین ± خطای استاندارد طول (بر حسب میلی متر) جنین رت های صحرایی که دوزهای ۸۰ و ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن را در روز دهم و یازدهم آبستنی دریافت کردند. علامت ستاره بیانگر اختلاف معنی دار با سایر گروه ها می باشد (p<0.05).

بحث

در این مطالعه با استفاده از رنگ آمیزی آلیزارین قرمز- آلسین آبی به خوبی اسکلت جنین رت کوچک آزمایشگاهی در روز بیستم جنینی رنگ آمیزی شده، به طوری که استخوان ها و غضروف ها قابل تفکیک بودند. عصارهٔ آبی زعفران در دوز ۸۰ میلی گرم وزن و طول جنین ها را در مقایسه با گروه شاهد و گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ میلی گرم افزایش معنی داری داد ولی اختلاف میانگین وزن و طول جنین ها در گروه شاهد و گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ میلی گرم زعفران معنی‌دار نبود. این عصاره در بررسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی در دو دوز فوق هیچ گونه ناهنجاری اسکلتی ایجاد نکرد.

دودو و همکاران (۲۰۰۹) از این تکنیک برای رنگ آمیزی اسکلت جنین رت صحرایی برای بررسی آنومالی های اسکلتی ایجاد شده توسط استیل سالیسیلیک اسید استفاده کردند [۱۵]. همچنین نجف زاده و همکاران (۲۰۰۶ و ۲۰۰۹) در بررسی ناهنجاری های جنینی از این تکنیک برای بررسی ناهنجاری های اسکلتی رت استفاده کردند [۱،۱۶].

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-12-31]

بـا اسـتریو میکروسـکوپ ناهنجـاری هـای جنینـی را می تـوان شناسـایی کـرد. اسـتفاده از ایـن تکنیـک در مطالعات بررسی اسکلت جنین هـا بـه خصـوص سـیر تکاملی و شناخت نواقص آن ها بـه صـورت روزمـره استفاده می گردد. به عنوان مثال می توان به استفاده از این روش در مطالعه هولادای و همکـاران (۲۰۰۰) برای بررسی ناهنجاری های جنینی رت سفید کوچـک ناشی از کاربرد داروهای تراتوژنیک اشاره کرد [۱۷]. به علاوه شاروا و همکاران (۲۰۰۰) در بررسی بیـان ژن در ایجاد ناهنجاری های جنینی رت از ایـن تکنیـک استفاده کردند [۱۸].

محققین دیگـر از جملـه بـوردان و همکـاران (۲۰۰۰) مطالعه اثر مجاورت کوتاه مدت جنین بـا کـافئین بـر رشد تکاملی اسـکلت در رت صـحرایی[۱۹]، منگـولا و همکاران (۲۰۰۱) بررسی اسکلت طبیعی رت صحرایی به هنگـام تولـد[۲۰] و ناهنجـاری هـای ایجـاد شـده توسط سدیم والپروات در رت صحرایی با اسـتفاده از رنـگ آمیـزی دوگانـه[۲۱]، پـادمن ابهـان (۲۰۰٤) مطالعات تجربی روی دنده های گردنی و کمـری در جنـین رت سـفید کوچـک [۲۲] و تومـو و همکـاران (۱۹۹۷) رشـد غضـروف هـای مانـدیبولی در رت صـحرایی [۲۳] را انجـام داده و از ایـن روش بـرای ارزیابی اسکلت جنین استفاده کرده اند.

در مطالعه حاضر تجویز عصاره زعفران در دوز های ۸۰ و ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بـدن رت در روزهای ۱۰ و ۱۱ آبستنی ناهنجـاری اسـکلتی در جنین را بدنبال نداشت. البته مقدار و زمان تجویز در ایجاد ناهنجاری های جنینی می تواند نقش تعیـین کننده ایی داشـته باشـد. تفضـلی و همکـاران (۱۳۸۳) تاثیر جوشانده زعفران را بر ناهنجاری زایی جنین رت سوری بررسی کردند. آنها با تجویز عصاره ۰/۲٪ بـه آب آشـامیدنی رت هـا از روز ششـم تـا دوازدهـم حاملگی مشاهده کردند که عصاره فوق موجب جذب جنین ها در ۷/۲٪ رت ها گردید. همچنـین در ۰/۵٪ جنین ها عارضه تراتوم ساکروم مشاهده کردنـد کـه این عوارض را بـه وجـود کاتـالاز و کروسـین نسـبت دادند [۱۱]. نتیجه مطالعه فوق با نتیجه مطالعه حاضر تفاوت دارد که می تواند به دلیل مدت تجویز (۶ روز متوالی) در مطالعه فوق باشد در حالی که در مطالعه حاضر دو تجویز (روزهای دهـم و یـازدهم حـاملگی) انجام شد و یـا بـه دلیـل تفـاوت بـین گونـه ایـی رت سوری یا رت صحرایی باشد.

در مطالعه حاضر دوز ۸۰ میلی گرم عصـاره زعفـران بر روی وزن و قد جنین ها تـاثیر مفیـدی داشـت در حالی که با افزایش دوز این تاثیر مفید برداشـته شـد. در برخی از مطالعات بیان شـده اسـت کـه دوزهـای زیاد زعفران می تواند اثرات نامطلوب از جمله سـقط جنین ایجاد نماید. بطوری کـه طـی مطالعـه ایـی در سال ۲۰۱۲ بیان گردید که زعفران در دوزهای زیـاد با تحریک عضلات رحم می تواند سـقط جنـین بدهـد بنـابراین در زمـان حـاملگی منـع مصـرف دارد [۲٤]. سالاری و همکاران (۱۳۸۳) بـه بررسـی سـقط جنـین ناشی از تماس با زعفران در زنانی پرداختنـد کـه در مزارع زعفـران مشـغول بکـار بـوده انـد و مشـاهده کردند که تماس با زعفران در ۱۰/۵٪ زنـان موجـب سقط گردید [۱۰].

نتیجه گیری

نتایج مطالعـه حاضـر نشـان داد تجـویز کوتـاه مـدت عصـاره آبـی زعفـران سـبب ایجـاد ناهنجـاری هـای اسکلتی نمی شود.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمـران اهـواز در تامین اعتبار مالی این تحقیق (گرنت سال ۱۳۸۹) تشکر و قدردانی می شود.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-12-31]

References

1- Najafzadeh H, Khaksari Mahabadi M. A comparison study of the effects of *Echinacea purpurea* ethanolic extract and mesna on cyclophosphamide -induced macroscopic fetal defects in rats. Iran J Basic Med Scie. 2009 Spring; 12(1): 61-66.

2- Kiyanbakht S. Systematic pharmacological review of saffron (*Crocus sativus L.*) and its compounds. Medicinal plants. 2008 Autumn; 7(28): 1-27 (Full text in Persian).

3- Mohajeri D, Mesgari Abbasi M, Delazar A, Doustar Y, Mousavi G, Amouoghli Tabrizi B. Histopathological study of subacute toxicity of *Crocus sativus L.* (Saffron) stigma total extract on liver and kidney tissues in the rat. Pharmaceut Scie. 2009; 15(2): 115- 124 (Full text in Persian).

4- Modaghegh MH, Shahabian M, Esmaeili HA, Rajabi O, Hosseinzadeh H. Safety evaluation of saffron (*Crocus sativus*) tablets in healthy volunteers. Phytomed. 2008 Dec; 15(12): 1032-7.

5- Sadeghnia HR, Cortez MA, Liu D, Hosseinzadeh H, Snead OC. Antiabsence effects of safranal in acute experimental seizure models: EEG and autoradiography. J Pharm Pharmaceut Sci. 2008 May; 11(3):1-14.

6- Imenshahidi M, Hosseinzadeh H, Javadpour Y. Hypotensive effect of aqueous saffron extract (*Crocus sativus L.*) and its constituents, safranal and crocin, in normotensive and hypertensive rats. Phytother Res: PTR. 2010 Jul; 24(7):990-994.

7- Naghibi SM, Hosseini M, Khani F, Rahimi M, Vafaee F, Rakhshandeh H, et al. Effect of aqueous extract of *Crocus sativus L.* on morphine-induced memory impairment. Adv Pharmacol Sci. 2012 Oct; doi: 10.1155/2012/494367.

8- Hosseinzadeh H, Noraei NB. Anxiolytic and hypnotic effect of *Crocus sativus* aqueous extract and its constituents, crocin and safranal, in mice. Phytother Res. 2009 Jun; 23(6): 768-74.

9- Agha-Hosseini M, Kashani L, Aleyaseen A, Ghoreishi A, Rahmanpour H, Zarrinara A et al. *Crocus sativus L.* (saffron) in the treatment of premenstrual syndrome: a double -blind, randomised and placebo-controlled trial. Inter J Obstet Gynecol. 2008 Mar; 115(4): 515-9.

10- Salari H, Reyhani T, Zarea Z. Evaluation effect of contact to saffron *(Crocus sativus L.)* in abortion prevalence. Ofogh-Danesh. 2004; 10(1):10-13 (Full text in Persian).

11- Tafazzoli M, Kermani T, Saadatjou SRA. Effect of aqueous extract of *Crocus sativus L.* on fetus absorbtion (abortion) and its side effects in mice. Ofogh-Danesh. 2004; 10(3): 53-56 (Full text in Persian).

12- Shamsa A, Hosseinzadeh H, Molaei M, Shakeri MT, Rajabi O. Evaluation of Crocus sativus L. (saffron) on male erectile dysfunction: a pilot study. Phytomed. 2009 Aug; 16(8): 690-3.

13- Mokhtari M, Sharifi E, Daneshi A. Effects of hydro-alcoholic extract of red dried stigmas of *Crocus sativus L.* flowers (saffron) on the levels of pituitary-ovary hormones and folliculogenesis in rats. Inter J Fertil Steril. 2010 Feb-Mar; 3(4):185-190.

14- Khayatnouri M, Safavi SE, Safarmashaei S, Mikailpourardabili B, Babazadeh D. Effect of saffron on histomorphometric changes of testicular tissue in rat. Am J Anim Vet Sci. 2011 Sep; 6(4): 153-159.

15- Dodo T, Fukuta T, Uchida K, Mineshima H, Okuda Y, Okada F, et al. A comparative investigation of fetal skeletal anomalies in rats induced by acetylsalicylic acid with single- and double-staining techniques. Regul Toxicol Pharmacol. 2009 Aug; 54(3): 308-13.

16- Khaksary Mahabady M, Ranjbar R, Arzi A, Papahn AA, Najafzadeh H. A comparison study of effects of Echinacea extract and levamisole on phenytoin-induced cleft palate in mice. Regul Toxicol pharmacol. 2006 Dec; 46(3): 163-166.

17- Holladay SD, Sharova LV, Smith BJ, Gogal Jr RM, Ward DL, Blaylock BL. Nonspecific stimulation of the maternal immune system. I. Effects on teratogen-induced fetal malformations. Teratol. 2000 Dec; 62(6): 413-419.

18- Sharova L, Sura P, Smith BJ, Gogal RM, Sharov AA, Ward DL. Nonspecific Stimulation of the maternal immune system.II. Effects on the gene expression in the fetus. Teratol. 2000 Dec; 64(6): 420-428.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-12-31]

19- Burdan F, Madej B, Wojtowicz H. The effect of short-time caffeine administration on skeleton development in Wistar rats. Folia morphologica. 2000 Jon; 59(2): 91-95.
20- Menegola E, Brocuia ML, Giavini E. Atlas of rat fetal skeleton double stained for bone and cartilage. Teratol. 2001 Sep; 64 (3): 125-33.
21- Menegola E, Brocia ML, Direnzo F, Giavini E. Comparative study of sodium valproate-induced skeletal malformations using single or double staining methods. Reprod Toxicol, 2002 Nov-Dec; 16(6): 815-23.
22- Padmanabhan R, Padmanabhan RR. Experimental studies on cervical and lumbar ribs in mouse embryos. Congenital Anomalies, 2004 Sep; 44(3):156-171.
23- Tomo S, Ogita M, Tomo I. Development of mandibular cartilages in the rat. Aanatomical Record, 1997 Oct; 249(2): 233-239.
24- Poma A, Fontecchio G, Carlucci G, Chichiriccò G. Anti-inflammatory properties of drugs from saffron crocus Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem. 2012 Jun; 11(1): 37-51.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-12-31]