15(1) 113-122, Spring 2023
Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Effect of saffron extract antioxidants and treated saffron with chitosan and isoniazid on biochemical parameters of liver enzymes in rats

Shahriar Saeidian [*1], Bahaaldin Rashidzadeh [2], Mohammad Haidari [3], Zhila Zareie [3]

[1] *Department of Biochemistry, Faculty of Science, Payam Noor University, Tehran, Iran*
[2] *Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Payam Noor University, Tehran, Iran*
[3] *Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Payam Noor University, Tehran, Iran*

Key Words

Crocus Sativus L.
Chitosan
Serum biochemical parameters
Wistar rat
DPPH

Abstract

Introduction: Saffron for 3000 years ago was valued as culinary condiment, dye, perfume and medicinal herb. The aim of research was to examine the effects of saffron supplementation on glucose levels, lipids and liver enzymes.

Materials & Methods: In present study, the homogenate of saffron and saffron treated with chitosan was extracted after drying using 96% ethanol. Then, ethanol solvent was removed using rotary equipment. 60 Wistar rats (200-250g) were divided into six groups, including normal group, saffron group, saffron group treated with Chitosan, isoniazid group, isoniazid-saffron group and isoniazid-saffron group treated with Chitosan. For induction of oxidative effect, oral extract of saffron and saffron treated with chitosan was used as gavage. The DPPH method was used to compare the antioxidant effects of chitosan extract.

Results: The use of extract of saffron led to decreasing of triglyceride (31%), cholesterol (35%), LDL (22%), ALP (16%) and increasing of HDL levels until to 32%. Chitosan-treated saffron extract also led to decreasing of LDL to 21%, ALT to 7% and increasing of HDL to 26%. In group receiving isoniazid and saffron, serum levels of enzymes of ALT (7%-16%), ALP (26%-69%), cholesterol (3%-31%), triglycerides (18%-44%) and glucose (4%-14%) showed a significant increasing compared to the control group.

Conclusion: Considering these positive effects of saffron and chitosan-treated saffron, it is obvious the enhancing effects of the evaluated factors. Regarding the effects of saffron on blood glucose and triglycerides and also Liver enzymes, they have a positive effect on blood glucose and lipid control. The results of this study confirmed the undesirable effects of isoniazid on the cells of body.

* Corresponding Author's email: saeedyan@pnu.ac.ir
Received: 23 August 2021; Reviewed: 24 September 2021; Revised: 25 November 2021; Accepted: 27 December 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.314306.2683

مقاله پژوهشی

اثر آنتی‌اکسیدان‌های عصاره زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان و ایزونیازید بر پارامترهای بیوشیمیایی آنزیم‌های کبدی در رت

شهریار سعیدیان[1]، بهاالدین رشیدزاده[2]، محمد حیدری[3]، ژیلا زارعی[3]*

[1] گروه بیوشیمی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

[2] گروه شیمی آلی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

[3] گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

کلمات کلیدی

پارامترهای بیوشیمیایی
زعفران
رت ویستار
کیتوزان
DPPH

چکیده

مقدمه: زعفران از ۳۰۰۰ سال پیش به‌عنوان چاشنی، رنگ، عطر و هم‌چنین به‌عنوان گیاه دارویی استفاده شده است. هدف این تحقیق بررسی اثر زعفران بر گلوکز پلاسما، چربی و آنزیم‌های کبدی است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ٦٠ سر موش سفید آزمایشگاهی نژاد ویستار نر بالغ با میانگین وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم، به شش گروه شاهد، عصاره خوراکی زعفران، عصاره زعفران تیمار شده با کیتوزان، تیمار با ایزونیازید، تیمار با ایزونیازید (همراه با زعفران) و گروه ایزونیازید (زعفران و زعفران تیمار شده با ایزونیازید) تقسیم شدند. عصاره زعفران و تیمار کیتوزان برای القاء اثر اکسیداتیو ایزونیازید به‌صورت گاواژ استفاده شد. برای مقایسه اثرات آنتی‌اکسیدانی زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان از روش DPPH استفاده گردید.

نتایج: استفاده از عصاره گیاه زعفران در مقایسه با گروه شاهد با کاهش تری‌گلیسیرید (۳۱٪)، کلسترول (۳۵٪)، LDL (۲۲٪) و ALP (١٦٪) همراه بود ونیز باعث افزایش HDL (۳۲٪) سرم شد. هم‌چنین عصاره زعفران تیمار باکیتوزان باعث‌کاهش LDL (۲۱٪)، ALT (۷٪) و باعث افزایش HDL (٢٦٪) سرم گردید. در گروه‌های دریافت‌کننده ایزونیازید، گروه دریافت‌کننده ایزونیازید و زعفران، سطح سرمی آنزیم‌های ALT (افزایش ۷٪ تا ١٦٪)، ALP (افزایش ٢٦٪ تا ٦٩٪) ونیز کلسترول (افزایش ۳٪ تا ۳۱٪)، تری‌گلیسیرید (افزایش ١٨٪ تا ٤٤٪) و گلوکز (افزایش ٤٪ تا ١٤٪) نسبت به گروه شاهد افزایش قابل‌توجهی نشان دادند.

بحث و نتیجه گیری: باتوجه به اثرات مثبت استفاده از زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان، اثرات بهبوددهنده فاکتورهای ارزیابی‌شده قابل‌توجه است و باتوجه به تأثیرات زعفران بر قند خون و تری‌گلیسیرید و نیز آنزیم‌های کبدی می‌تواند در کنترل قند خون و چربی خون اثر مثبت داشته باشد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: saeedyan@pnu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱ شهریور ۱۴۰۰؛ تاریخ داوری: ۲ مهر ۱۴۰۰؛ تاریخ اصلاح: ٤ آذر ۱۴۰۰؛ تاریخ پذیرش: ٦ دی ۱۴۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.314306.2683

مقدمه

استفاده از گیاهان‌دارویی از دیرباز مورد توجه بوده و تحقیقات اخیر نشان‌داده است علاوه بر اثراتی که گیاهان دارویی دارند، عصاره قسمت‌های مختلف گیاهان دارای اثرات ناشناخته دیگری نیز است (۱). در زندگی صنعتی با افزایش مصرف ترکیب‌های اکسیدان و یا مواد حاصل از متابولیسم داروها، با مصرف دخانیات، الکل و نیز قرار گرفتن در معرض تشعشعات یونیزه و غیریونیزه، مواد اکسیدان زیادی در بدن تولید می‌شود و آسیب‌های فراوانی بر DNA، پروتئین‌ها، چربی‌ها و هیدرات‌های کربن وارد می‌سازند (۲). گیاه زعفران از خانواده زنبقیان با نام علمی *Crocus sativus L* دارای کاربردهای فراوانی در دنیاست. علاوه بر کاربرد آن به‌عنوان رنگ و اسانس، دارای خواص و کاربردهای دارویی و درمانی متعددی می‌باشد. دو کاروتنوئید طبیعی اصلی زعفران کروسین و کروستین هستند که عامل ایجاد رنگ زعفران است. مهم‌ترین ترکیبات موجود در زعفران شامل ترکیبات زرد رنگ که به‌خوبی در آب محلولند (مشتقات کروستین)، ترکیبات تلخ از جمله پیکروکروسین که به‌ویژه مقوی معده می‌باشند، مواد معطر که مهم‌ترین ترکیب آن سافرانال می‌باشد که گاهی تا ۱درصد زعفران را تشکیل می‌دهد. کیتوزان-(N‌استیل گلوکز آمین (اثرات ضدمیکروبی قابل توجهی دارا است، به‌نحوی که برای کنترل عفونت‌های ویروسی و قارچی نسبت به عفونت‌های باکتریایی اثر بخش‌تر است. از مکانیسم‌های ضدمیکروبی کیتوزان، اتصال به سطح باکتری می‌باشد که با ایجاد آگلوتیناسیون، افزایش نفوذپذیری دیواره میکروب و سرانجام تراوش ترکیبات داخل سلول به بیرون می‌شود. کیتوزان به عنوان یک پلی‌ساکارید طبیعی زیست سازگار است که اغلب به‌عنوان حامل در دارورسانی هدفمند مورد استفاده قرار می‌گیرد. کیتوزان و محصولات زیست تخریب‌پذیر آن ویژگی‌هایی دارند که در سطح مولکولی سلول‌های عصبی و سد خونی مغزی توانایی اعمال وظایف زیستی را به آن‌ها می‌دهد. ازجمله این ویژگی‌ها می‌توان به انعطاف بالا در ایجاد تغییرات سطحی، توانایی اتصال به مولکول‌های مختلف لیگاند و ایجاد کمپلکس‌های پایدار نانو در شرایط فیزیولوژی نام برد (۳). کیتوزان دارای گروه‌های NH_2 و OH است که به تشکیل پیوندهای هیدروژنی منجر می‌شود و مولکول خطی با زنجیره انعطاف‌پذیر ایجاد می‌کند (۴). کیتوزان با شلاته کردن فلزات در مقادیر کم، فعالیت آنزیم‌ها و رشد میکروب‌ها را متوقف می‌نماید. یکی از مهم‌ترین محدودیت‌ها جهت استفاده از کیتوزان، انحلال‌پذیری پایین این نانو ذره می‌باشد. به‌طوری‌که مشتقات انحلال‌پذیر کیتوزان در مقایسه با کیتوزان طبیعی دارای فعالیت ضدمیکروبی شدیدتری هستند (۵، ۶، ۷). هم‌چنین گسترش بسیاری از بیماری‌ها مانندسرطان، آسیب‌های سلول‌های کبدی و حتی بیماری‌های قلبی و عروقی ناشی از حضور رادیکال‌های آزاد در بدن می‌باشد. آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله ترکیباتی هستند که می‌توانند با مهار رادیکال‌های آزاد نقش ارزنده‌ای در به حداقل رساندن آسیب‌های اکسیداتیو و درمان بیماری‌های مرتبط با آن داشته باشند (۸). کیتوزان ازجمله آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است که قادر است باگونه‌های فعال اکسیژنی (Reactive Oxygen Species ROS) واکنش دهد و از اکسایش لیپیدها، وارد شدن به پروتئین‌های غشا و جهش اسیدنوکلئیک غذایی و سیستم‌های زیستی جلوگیری نماید (۹). ایزونیازید یک آنتی‌بیوتیک باکتریواستاتیک است که با تداخل در سنتز دیواره سلولی موجب مرگ باکتری می‌شود. اما چون ایزونیازید قادر به القای اثر استرس اکسیداتیو است در نتیجه در افزایش سطح آنزیم‌های کبدی موثر می‌باشد. لذا در این تحقیق که هدف بررسی سطح آنزیم‌های کبدی و پارامترهای بیوشیمیایی کبدی است از کیتوزان و ایزونیازید استفاده شده تا مقایسه‌ای صحیح از روند اثرگذاری عصاره بر این پارامترها حاصل گردد. با توجه به خواص بسیار ارزنده زعفران، اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان و تأثیر آن بر روی فاکتورهای بیوشیمیایی HDL (لیپوپروتئین با چگالی بالا)، LDL (لیپوپروتئین با چگالی پایین)، AST (آسپارتات ترانس آمیناز)، ALP (آلکالین فسفاتاز)، ALT (آلانین ترانس‌آمیناز)، پروفایل چربی کلسترول، تری‌گلیسیرید و گلوکز سرم در رت‌های نر نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

بعد از خریداری زعفران، مراحل تهیه عصاره‌های زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه پیام نور در شرایط دمایی مطلوب ۱۳ تا ۱۵ درجه انجام گردید. بدین منظور زعفران پس از خشک‌کردن به‌مدت ۸ روز در سایه در دو گروه به طور مجزا، آسیاب شده تا زعفران به شکل ذرات خرد شده با اندازه زیر ۴ میلی‌متر به‌دست آمد. پودر آماده شده وزن شده، در دستگاه عصاره‌گیری سرد به میزان ۹۰٪ اتانول به آن اضافه شد و عصاره آبی پودر زعفران قطره‌قطره جمع‌آوری شد و عصاره رقیق حاصله به‌وسیله روتاری تغلیظ گردید. برای ایجاد گروه زعفران تیمار شده با کیتوزان، پودر تجاری کیتوزان را در حلال اسید استیک حل و محلول ۰/۴٪ ایجاد کرده و به نسبت یک به سه عصاره زعفران: محلول کیتوزان ترکیب گردید و گروه تیمار شده با کیتوزان به‌دست آمد. نمونه زعفران تیمار شده با کیتوزان را پس از خشک‌کردن وزن کرده و حلال اتانول (۹۰٪) را به آن اضافه کرده و ۷۲ ساعت در دمای زیر نقطه جوش اتانول (۴۵-۵۰ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت و بعدازاین زمان

نمونه محلول رویی را با کاغذ صافی جدا کرده و توسط دستگاه روتاری حلال از عصاره جدا گردید (۰/۵ گرم زعفران و ۱۰۰ میلی‌لیتر الکل). در مرحله بعد نمونه‌ها را برای اطمینان بیش‌تر از حذف اتانولی، به مدت ۲۴ ساعت در آون در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و در نهایت از نمونه‌ها برای انجام تحقیقات با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استفاده شد (۱۰).

حیوانات مورد استفاده آزمایش: در این مطالعه تحقیقاتی از نوع تجربی، ۶۰ سرموش بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۲۰-۱۸۰ گرم از مرکز تحقیقاتی دانشگاه آزاد کردستان خریداری شد. در طول زمان آزمایش موش‌ها در قفس‌های پلی‌کربنه و به صورت ۱۰ تایی و در شرایط استاندارد در دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد و دوره روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته نگه‌داری شدند، به طوری که دسترسی آسان به آب و غذا داشتند. موش‌ها به‌طور تصادفی به ۶ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. گروه اول: گروه شاهد که هیچ ترکیب دارویی به‌غیر از آب مقطر و غذا دریافت نکردند. گروه دوم: گروه دریافت‌کننده عصاره گیاه زعفران به‌میزان ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن. گروه سوم: گروه دریافت کننده عصاره گیاه زعفران تیمار شده با کیتوزان به‌میزان ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن. گروه چهارم: گروه دریافت‌کننده داروی ایزونیازید به‌میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن. گروه پنجم: گروه دریافت‌کننده داروی ایزونیازید به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به همراه عصاره گیاه زعفران به میزان ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن. گروه ششم: گروه دریافت‌کننده داروی ایزونیازید به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به همراه عصاره گیاه زعفران تیمار شده با کیتوزان به میزان ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن بود (۱۱).

نحوه تجویز عصاره و ایزونیازید: دو عصاره موردنظر زعفران و تیمار کیتوزان با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ایزونیازید با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم هر روز در زمان مشخص ۹ صبح به‌صورت گاواژ خورانده شد. برای گروه شاهد فقط از آب مقطر استفاده گردید. پس از گذشت ۱۴ روز و در پایان دوره مطالعه موش‌ها و با درنظرگرفتن کلیه مسائل اخلاقی مربوط به حیوانات بدون هیچ موردی از اذیت و آزار توسط کلروفرم ۹۶/۴٪ شرکت مرک آلمان، در دسیکاتور به‌صورت استنشاقی بیهوش شدند. پس از بی‌هوشی از هر موش خونگیری به‌صورت مستقیم از قلب انجام شد و به این منظور از هر موش ۲ میلی‌لیتر خون گرفته شد و در یک لوله بدون ماده ضدانعقاد برای جداسازی سرم و اندازه‌گیری فاکتورهای لیپوپروتئین باچگالی پایین، لیپوپروتئین با چگالی بالا، آلانین ترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، کلسترول، گلوکز و تری‌گلیسیرید استفاده شد. برای انجام آزمایش میزان لیپوپروتئین با چگالی پایین، لیپوپروتئین با چگالی بالا، آلانین ترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، کلسترول، گلوکز و تری‌گلیسیرید از خون بدون ماده ضدانعقاد استفاده شد، به‌طوری‌که پس از تشکیل لخته خون و جداسازی سرم میزان فاکتورها توسط کیت‌های اسپکتروفتومتری شرکت پادتن علم با دستگاه اتوآنالیزر آلفا ساخت کشور ایتالیا در آزمایشگاه تشخیصی سنندج اندازه‌گیری شد.

انجام آزمایش DPPH: این روش یکی از روش‌های مرسوم برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های گیاهی است. این روش مبتنی بر به‌دام‌اندازی میزان رادیکال‌های آزاد ماده‌ای به‌نام ۲،۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) با استفاده از عوامل آنتی‌اکسیدانی است که سبب کاهش میزان جذب در جذب نوری ۵۱۷ نانومتر می‌شود (۱۲). موقعی که محلول DPPH با ماده‌ای که می‌تواند دهنده اتم هیدروژن باشد مخلوط شود فرم احیای رادیکال تشکیل می‌شود که همراه با کاهش رنگ است. این واکنش سبب از بین‌رفتن رنگ بنفش می‌شود که شاخص آن تشکیل باند جذبی در ۵۱۷ نانومتر است. در تهیه محلول ذخیره DPPH مقدار ۱۳ میلی‌گرم از DPPH در اتانول مرک در بالن ژوژه ۵۰۰ میلی‌لیتر به حجم رسانده شد و پس از آن جذب نوری محلول فوق در دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد (جذب نوری باید بین ۰/۷ تا ۰/۸ باشد). مقدار ۳/۹ میلی‌لیتر از محلول ذخیره ساخته‌شده را در لوله‌های آزمایش ریخته و مقدار ۱۰۰ ماکرولیتر از غلظت‌های مختلف عطرمایه زعفران و تیمار کیتوزان را اضافه و در محل تاریک به‌مدت ۳۰ دقیقه نگه‌داری شد و نمونه‌های زعفران و تیمار کیتوزان به‌صورت مجزا از غلظت‌های بالا به پایین توسط اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد و با فرمول ۱ محاسبه گردید درصد IC_{50} با استفاده از نمودار اکسل به‌دست آمد:

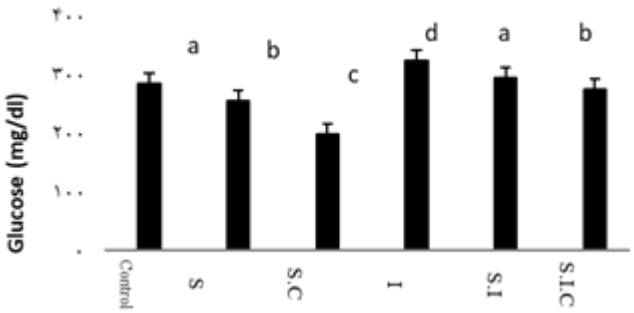
$$\left[1-\frac{AA}{AB}\right]\times 100 \qquad (1$$

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها: پس از به‌دست‌آوردن داده‌های حاصل از گروه‌های رت‌های شش‌گانه شاهد، دریافت‌کننده زعفران، زعفران تیمار شده با کیتوزان، ایزونیازید، ایزونیازید و زعفران و گروه دریافت‌کننده ایزونیازید و زعفران تیمار شده با کیتوزان، برای تجزیه و تحلیل آن‌ها پس از اطمینان از نرمال بودن، داده‌ها در جدول‌های اکسل توسط برنامه نرم‌افزاری SAS ۲۰۰۰ آنالیز آماری شد. آنالیز واریانس (ANOVA) مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال (P<۰/۰۵) انجام شد. غلظت سرمی تمامی پارامترهای

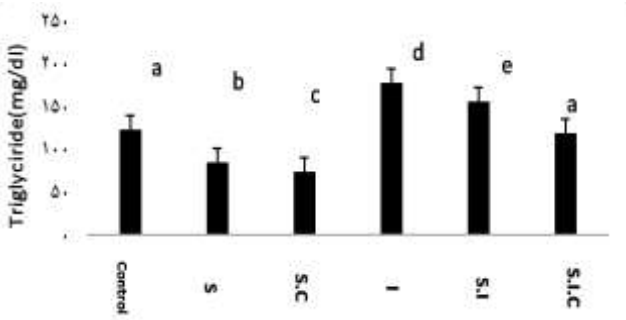
بیوشیمیایی تحقیق به‌صورت میانگین± خطای معیار (Mean±SEM) ارائه شد.

نتایج

نتایج حاصل از این تحقیق در استفاده از عصاره گیاه زعفران و زعفران تیمارشده با کیتوزان و هم‌چنین ایزونیازید در موش‌های نژاد ویستار نشان داد که میزان گلوکز در گروه دوم که عصاره زعفران را دریافت کردند از ۳۰۰ به ۲۶۷ میلی‌گرم/دسی‌لیترکاهش پیدا کرد (شکل ۱). میزان تری‌گلیسیرید در گروه زعفران با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری داشته و باعث‌کاهش آن‌از ۱۲۵به ۶۸ میلی‌گرم/دسی‌لیتر شده است (شکل ۱). هم‌چنین در دو گروه دریافت‌کننده ایزونیازید و ایزونیازید همراه با زعفران نسبت به گروه شاهد به ترتیب افزایش ۴۰٪ و ۲۴٪ داشته است که معنی‌دار شده است (P<۰/۰۵) (شکل ۱). در بین گروه‌ها زعفران تیمار شده با کیتوزان با عملکردی بهتر باعث‌کاهش ۴۰٪ تری‌گلیسیرید شده و گروه ایزونیازید باعث افزایش این فاکتور به‌میزان ۴۴٪ شده است (شکل ۲).

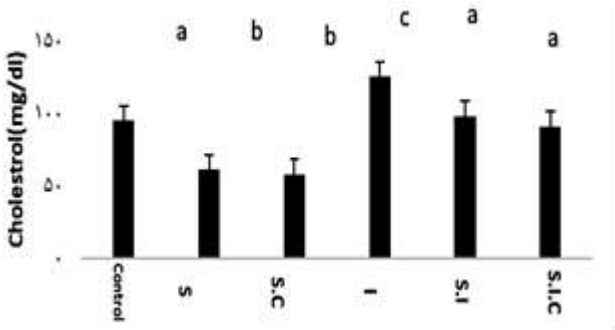


شکل ۱: اثر عصاره الکلی گیاه زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان با ایزونیازید بر میزان گلوکز (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) در گروه‌های مورد مطالعه (S زعفران)؛(S.C زعفران تیمارشده با کیتوزان)؛(I ایزونیازید)؛ (S.I زعفران و ایزونیازید)؛ (S.I.C زعفران و ایزونیازید تیمار شده با کیتوزان).

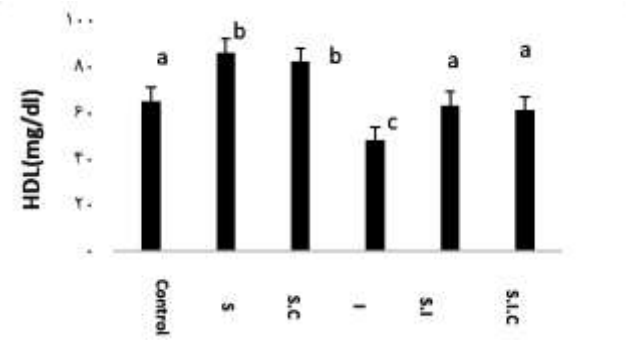


شکل ۲: اثر عصاره‌الکلی گیاه‌زعفران و زعفران تیمارشده با کیتوزان با ایزونیازید بر میزان تری‌گلیسیرید در گروه‌های مورد مطالعه (S زعفران)؛ (S.C زعفران تیمار شده با کیتوزان)؛ (I ایزونیازید)؛ (S.I زعفران و ایزونیازید)؛ (S.I.C زعفران و ایزونیازید تیمار شده با کیتوزان).

ستون‌های با حروف غیرمشابه براساس آزمون دانکن دارای تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به گروه شاهد هستند.

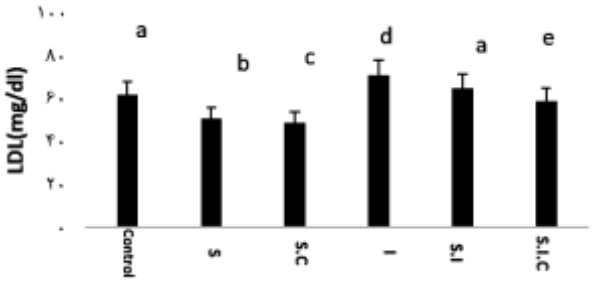


شکل ۳: اثر عصاره الکلی گیاه زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان با ایزونیازید بر میزان کلسترول در گروه‌های مورد مطالعه (S زعفران)؛ (S.C زعفران تیمار شده با کیتوزان)؛ (I ایزونیازید)؛ (S.I زعفران و ایزونیازید)؛ (S.I.C زعفران و ایزونیازید تیمار شده با کیتوزان).

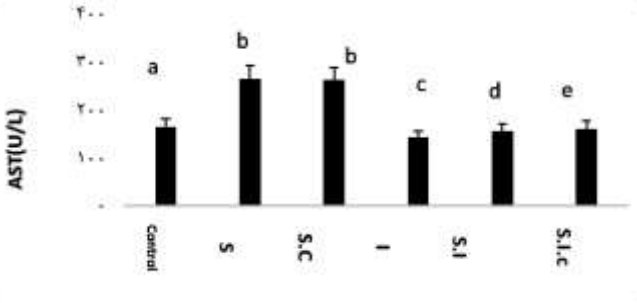


شکل ۴: اثر عصاره‌الکلی گیاه‌زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان با ایزونیازید بر میزان HDL در گروه‌های مورد مطالعه (S زعفران)؛ (S.C زعفران تیمار شده با کیتوزان)؛ (I ایزونیازید)؛ (S.I زعفران و ایزونیازید)؛ (S.I.C زعفران و ایزونیازید تیمار شده با کیتوزان).

ستون‌های با حروف غیرمشابه براساس آزمون دانکن دارای تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به گروه شاهد هستند.

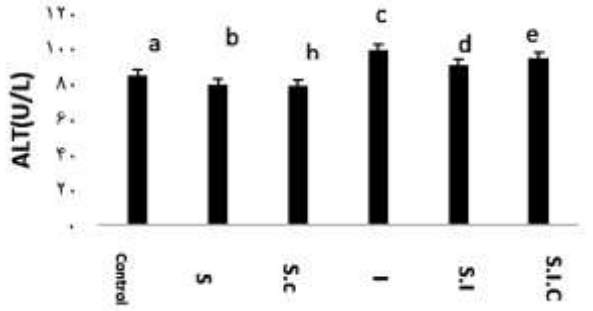


شکل ۵: اثر عصاره الکلی گیاه زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان با ایزونیازید بر میزان LDL در گروه‌های مورد مطالعه (S زعفران)؛(S.C زعفران تیمار شده با کیتوزان)؛(I ایزونیازید)؛(S.I زعفران و ایزونیازید)؛ (S.I.C زعفران و ایزونیازید تیمار شده با کیتوزان).

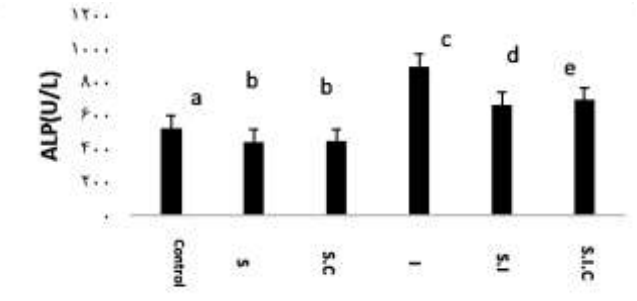


شکل ۶: اثر عصاره الکلی گیاه زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان با ایزونیازید بر میزان AST در گروه‌های مورد مطالعه (S زعفران)؛(S.C زعفران تیمار شده با کیتوزان)؛(I ایزونیازید)؛ (S.I زعفران و ایزونیازید)؛ (S.I.C زعفران و ایزونیازید تیمار شده با کیتوزان).

ستون‌های با حروف غیرمشابه براساس آزمون دانکن دارای تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به گروه شاهد هستند.



شکل ۷: اثر عصاره الکلی گیاه زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان با ایزونیازید بر میزان ALT در گروه‌های مورد مطالعه (S زعفران)؛(S.C زعفران تیمار شده با کیتوزان)؛(I ایزونیازید)؛(S.I زعفران و ایزونیازید)؛ (S.I.C زعفران و ایزونیازید تیمار شده با کیتوزان).



شکل ۸: اثر عصاره الکلی گیاه زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان با ایزونیازید بر میزان ALP در گروه‌های مورد مطالعه(S زعفران)؛(S.C زعفران تیمار شده با کیتوزان)؛(I ایزونیازید)؛ (S.I زعفران و ایزونیازید)؛ (S.I.C زعفران و ایزونیازید تیمار شده با کیتوزان).

ستون‌های با حروف غیرمشابه براساس آزمون دانکن دارای تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به گروه شاهد هستند.

در این تحقیق میزان کلسترول در گروه زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان نسبت به تمامی گروه‌ها کم‌تر بود که این میزان کاهش نسبت به گروه کنترل (شاهد) ۳۹٪ است (P<۰/۰۵). گروه ایزونیازید از همه بیش‌تر باعث افزایش کلسترول و تا حد ۳۱٪ شده است (P<۰/۰۵). گروه ایزونیازید با زعفران تیمار شده با کیتوزان نتوانسته است اثر مثبتی بر روی کلسترول در مقایسه با گروه شاهد داشته باشد اما نسبت به گروه ایزونیازید با زعفران کاهش نسبی نشان داد (P<۰/۰۵) (شکل ۳). در نتایج به‌دست آمده، میزان لیپوپروتئین با چگالی بالا یعنی HDL در گروه‌های زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان به‌صورت معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد و بقیه گروه‌ها بود (P<۰/۰۵). در میان تمام گروه‌ها میزان HDL ایزونیازید از همه کم‌تر بود (P<۰/۰۵) (شکل ۴). میزان LDL در گروه دریافت‌کننده زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان، پایین‌تر از گروه شاهد مشاهده شد (شکل ۱) و اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه شاهد با زعفران تیمار شده با کیتوزان وجود دارد (P<۰/۰۵) (شکل۵). میزان آنزیم غیراختصاصی کبد AST در بیش‌تر گروه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری با گروه شاهد نداشت هر چند که در گروه زعفران افزایش قابل توجهی یعنی افزایش ۶۰٪ را از خود نشان داد (P <۰/۰۵) (شکل۶). میزان آنزیم اختصاصی کبد ALT در مقایسه با گروه شاهد، گروه‌های دریافت‌کننده زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان توانسته‌اند سطح آنزیم را پایین نگه دارد (P<۰/۰۵) و بالاترین سطح آنزیم مربوط به تیمار ایزونیازید است (P<۰/۰۵) (شکل ۷). در این تحقیق میزان آنزیم اختصاصی کبد ALT در مقایسه با گروه شاهد، تنها گروه دریافت‌کننده زعفران تیمار شده با کیتوزان توانسته سطح آنزیم

را پایین نگه دارد (P<۰/۰۵) و بالاترین سطح آنزیم مربوط به تیمار ایزونیازید است (P<۰/۰۵). در گروه ایزونیازید همراه با زعفران تیمار شده با کیتوزان در مقایسه با ایزونیازید همراه با زعفران نتوانسته اثرات مخرب ایزونیازید را کاهش دهد (P<۰/۰۵). میزان آنزیم غیر اختصاصی کبد ALP در گروه دریافت‌کننده زعفران توانسته سطح آنزیم را نسبت به گروه شاهد پایین‌تر نگه دارد و به میزان ۱۸٪ با کاهش آنزیم همراه بوده است (P<۰/۰۵) (شکل ۸). در مقایسه گروه دریافت‌کننده ایزونیازید همراه با زعفران تیمار شده با کیتوزان و ایزونیازید همراه با زعفران، تیمار کیتوزان نتوانسته است سطح آنزیم ALP را پایین نگه دارد (P<۰/۰۵). در این تحقیق میزان آنزیم غیر اختصاصی کبد ALP در گروه دریافت‌کننده زعفران توانسته سطح آنزیم را نسبت به گروه شاهد پایین‌تر نگه دارد. بالاترین میزان آنزیم هم مربوط به گروه دریافت کننده ایزونیازید است (P<۰/۰۵). در مقایسه گروه دریافت‌کننده ایزونیازید همراه با زعفران تیمار شده با کیتوزان و ایزونیازید همراه با زعفران، تیمار کیتوزان نتوانسته است که سطح آنزیم را پایین نگه دارد (P<۰/۰۵).

بحث

در استفاده از عصاره گیاه زعفران و زعفران تیمارشده با کیتوزان و هم‌چنین ایزونیازید در موش‌های نژاد ویستار، میزان گلوکز در گروه دوم با کاهش ۱۱ درصدی همراه بود (P<۰/۰۵).گروه‌های دریافت کننده ایزونیازید با زعفران و ایزونیازید با زعفران تیمار شده با کیتوزان، نتوانستند موجب کاهش گلوکز در مقایسه با گروه شاهد شوند، بلکه اثرات آن‌ها با افزایش ۱۰ تا ۱۴٪ میزان گلوکز نیز همراه بود که اختلاف آن‌ها معنی‌دار در سطح ۱٪ است (P<۰/۰۵). به‌نظر می‌رسد ایزونیازید در بازه زمانی ۱۴ روز بر روی سلول‌های بتا در جزایر لانگرهانس پانکراس اثر گذاشته، به‌طوری‌که توانایی ترشحی خود را تا حدودی از دست داده و موجب بروز یک هیپرگلیسمی در موش‌ها گردیده است (شکل ۱). در مطالعات مختلفی که با عصاره‌های مختلفی کار شده گزارش کردند که عصاره مریم گلی سبب کاهش ۴٪ قند در رت‌های نژاد ویستار می‌شود (۱۳). در مطالعه Al-Quttan و همکاران، برای رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، از عصاره سیر تازه یا زنجبیل به‌صورت داخل صفاقی استفاده کردند که یافته‌ها نشان داد که در گروه‌های دریافت کننده سیر و زنجبیل در مقایسه با گروه شاهد دیابتی، گلوکز سرم به‌ترتیب ۴۵٪ و ۵۰٪ کاهش یافت که نشان می‌دهد عصاره‌های گیاهی دیگر هم‌چون سیر و زنجبیل نیز همانند زعفران، کاهنده گلوکز سرم هستند (۱۴). بنابراین به‌نظر می‌رسد یکی از مکانیسم‌های اثر هیپوگلیسمیک عصاره زعفران را می‌توان به ترکیب کروسین موجود در زعفران نسبت داد که موجب افزایش ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس می‌شود از دیگر مکانیسم‌های دخیل در اثر هیپوگلیسمیک عصاره زعفران و کروسین، کاهش مقاومت به انسولین می‌باشد (۱۵). تحریک برداشت گلوکز از بافت‌های محیطی (۱۶) و مهار جذب گلوکز روده‌ای (۱۷) از دیگر مکانیسم‌های دخیل در کاهش گلوکز سرم می‌باشند. بنابراین در نهایت به‌نظر می‌رسد که عملکرد هیپوگلیسمیک زعفران و گیاهان دارویی دیگر تا حدی به‌واسطه ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی آن‌ها باشد (۱۸). میزان تری‌گلیسیرید در گروه زعفران با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری داشته و باعث کاهش ۳۲٪ میزان فاکتور تری‌گلیسیرید شده است (P<۰/۰۵) (شکل ۱). هم‌چنین در دو گروه دریافت‌کننده ایزونیازید و ایزونیازید همراه با زعفران نسبت به گروه شاهد به‌ترتیب افزایش ۴۰٪ و ۲۴٪ داشته است که معنی‌دار شده است (P<۰/۰۵) (شکل ۱). در بین گروه‌ها زعفران تیمار شده با کیتوزان با عملکردی بهتر باعث کاهش ۴۰٪ تری‌گلیسیرید شده و گروه ایزونیازید باعث افزایش این فاکتور به میزان ۴۴٪ شده است (شکل ۲). افزایش بیش از حد تری‌گلیسیریدها در سرم نیز از ظرفیت هیدرولیزکنندگی آنزیم‌های صفراوی و آنزیم لیپاز فراتر رفته و باعث ذخیره آن به‌صورت چربی در کبد و بافت‌های بدن می‌گردد که خود نیز زمینه‌ساز بسیاری از بیماری‌های متابولیکی است. پس در این مورد نیز استفاده از ترکیب‌ها و داروهایی که بتوانند میزان تری‌گلیسیرید اضافی را تعدیل کنند و آن را کاهش دهند بسیار مفید خواهد بود. مطالعه‌ای نیز که بر روی رت‌ها انجام شده نشان داد که عصاره مریم گلی می‌تواند باعث کاهش قند خون به‌میزان ۱۱٪ و لیپیدهای خون به‌میزان ۳۰٪ شود که تایید کننده نتایج این مطالعه است (۱۹). در این تحقیق میزان کلسترول در گروه زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان نسبت به تمامی گروه‌ها کم‌تر بود که این میزان کاهش نسبت به گروه کنترل (شاهد) ۳۹٪ است (P<۰/۰۵). گروه ایزونیازید از همه بیش‌تر باعث افزایش کلسترول و تا حد ۳۱٪ شده است (P<۰/۰۵). گروه ایزونیازید با زعفران تیمار شده با کیتوزان نتوانسته است اثر مثبتی بر روی کلسترول در مقایسه با گروه کنترل داشته باشد اما نسبت به گروه ایزونیازید با زعفران کاهش نسبی نشان داد (P<۰/۰۵) (شکل ۳). براساس نتایج حاصله تجویز عصاره زعفران می‌تواند کلسترول تام خون را نسبت به گروه شاهد تا ۳۵٪ کاهش دهد و این میزان کاهش در حضور زعفران تیمار شده با کیتوزان به ۳۹٪ رسید. تجویز ایزونیازید با افزایش کلسترول تا ۳۱٪ همراه بود و تجویز هم‌زمان ایزونیازید با زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان تغییر محسوسی در میزان کلسترول تام خون ایجاد نکرد که نشان دهنده اثر مثبت زعفران در کاهش اثرات منفی ایزونیازید می‌باشد. مطالعات مشابه انجام شده بر روی موش‌ها در حضور زنجبیل نشان

داد که پروفایل چربی یعنی کلسترول و تری‌گلیسیرید و LDL در آن‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (۲۰). Mahluji و همکاران (۲۱) و Talaei و همکاران (۲۲) نشان دادند که مصرف به‌ترتیب ۲ و ۳ گرم زنجبیل در روز به‌مدت ۲ ماه، توانست کلسترول LDL را در بیماران دیابتی نوع ۲ کاهش دهد. نتایج مطالعه Shirdel و همکاران نیز نشان داد که زنجبیل توانسته میزان سرمی تری‌گلیسیرید و LDL کلسترول را در رت‌های دیابتی در مقایسه با گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری کاهش و LDL را افزایش دهد (۲۳). در مطالعه Al Amin و همکاران، پس از ۷ هفته، کلسترول و تری‌گلیسیرید سرم در گروه شاهد دیابتی نسبت به گروه شاهد سالم افزایش معنی‌داری داشت، این در حالی بود که این شاخص‌ها در گروه دریافت‌کننده زنجبیل نسبت ب گروه شاهد دیابتی به‌ترتیب ۴۴٪ و ۴۱٪ کاهش معنی‌دار داشت (۱۹) که نتایج حاصله تایید‌کننده روند مطالعات انجام‌شده در این تحقیق است. در نتایج به‌دست آمده، میزان لیپوپروتئین با چگالی بالا یعنی HDL در گروه‌های زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان به‌صورت معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد و بقیه گروه‌ها بود (P<۰/۰۵). در میان تمام گروه‌ها میزان HDL ایزونیازید از همه کم‌تر بود (P<۰/۰۵) (شکل ۴). در بررسی Khosravi و همکاران نشان داده شد که سطح لیپوپروتئین با چگالی HDL در گروه دریافت‌کننده ایزونیازید با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه کنترل و شاهد کاهش داشت که با نتایج انجام شده این تحقیق هم‌خوانی دارد (۲۴، ۲۵). میزان LDL در گروه دریافت کننده زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان، پایین‌تر از گروه شاهد مشاهده شد (شکل ۱) و اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه شاهد با زعفران تیمار شده با کیتوزان وجود دارد (P<۰/۰۵) (شکل ۵). در مطالعه‌ای بر روی موش‌های آزمایشگاهی که با داروی ایزونیازید ایجاد اکسیدان کرده بودند باعث افزایش سطح گلوکز خون شد که می‌تواند به‌طور غیرمستقیم موجب افزایش سطح کلسترول، تری‌گلیسیرید و LDL و منجر به کاهش سطح HDL شود. در مطالعه Alizadeh-Navaei و همکاران مشخص شد که پودر زنجبیل باعث کاهش میزان کلسترول و تری گلیسیرید می‌شود که با نتایج حاصل از این تحقیق هم‌خوانی دارد (۲۶). کیتوزان می‌تواند در پایین آوردن LDL همراه با عصاره گیاه زعفران عمل کند. بررسی ترکیبات موثر زعفران نشان داده که این گیاه حاوی کروسین، سافرانال و اسیدلینولئیک است (۲۷). براساس تحقیقات انجام شده کروسین تاثیر مناسبی بر میزان چربی و محتویات لیپوپروتئینی دارد (۲۸). Sheng و همکاران نشان دادند که تجویز دوزهای مختلف کروسین در موش‌ها با کاهش معنی‌دار تری گلیسیرید و LDL و (VLDL لیپوپروتئین با چگالی خیلی پایین) و افزایش معنی‌دار HDL همراه است (۲۹). این نتایج تایید‌کننده داده‌های حاصل از این تحقیق بوده طوری‌که احتمالاً عامل موثر در زعفران یعنی کروسین منجر به افزایش HDL در گروه‌های تیمار با زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان و هم‌چنین عامل کاهش LDL و کلسترول و تری‌گلیسیرید در این گروه‌های تحت تیمار گردیده است. می‌توان مکانیسم احتمالی کروسین را ممانعت از فعالیت لیپاز پانکراس و کاهش دادن جذب چربی‌ها و افزایش دفع آن‌ها به‌شمار آورد (۲۹). سافرانال نیز با خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند اکسایش لیپیدها را مهار نماید و نیم رخ لیپوپروتئینی و چربی پلاسما را بهبود بخشد (۳۰). عصاره هیدروالکلی تمشک به‌دلیل دارا بودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی اثرات سودمندی بر لیپیدهای نامطلوب سرم دارد (۳۱) و هم‌چنین کاهش اکسیداسیون لیپید و بهبود سلامت کبد، با استفاده از عصاره الکلی گیاه سالیکورنیا تایید‌کننده نتایج این تحقیق هستند (۳۲). مواد اکسیدان، از جمله مواد حاصل از متابولیسم داروها مانند ایزونیازید هستند که قبل از این‌که آسیبی به سلول‌های اصلی بدن وارد نمایند، آنتی‌اکسیدان‌ها آن را از محیط پاک می‌کنند. در بررسی گیاه مریم گلی، سطح لیپیدهای خون، LDL و تری‌گلیسیرید در گروه‌های دریافت‌کننده داروی ایزونیازید افزایش یافت، در صورتی‌که در حیواناتی که دارو و عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی به‌صورت هم‌زمان تجویز شده بود، کاهش سطح لیپیدهای خون مشاهده گردید که نتایج به‌دست‌آمده دقیقاً با مطالعه انجام‌شده در این تحقیق هم‌خوانی دارد (۱۹). چنین گیاهانی موجب بهبود متابولیسم چربی‌ها در بدن به‌ویژه در دو ناحیه کبد و بافت چربی می‌شوند. از آن‌جایی‌که مقدار کلسترول موجود در خون و صفرا از ظرفیت عوامل محلول‌کننده آن فراتر می‌رود احتمال رسوب کلسترول و هم‌چنین تشکیل سنگ‌های صفراوی کلسترولی وجود دارد، پس جدای از لزوم وجود میزان کلسترول به‌میزان مورد نیاز برای سنتز برخی هورمون‌ها و استفاده در متابولیسم سلولی مازاد آن می‌تواند عوارض جبران‌ناپذیری از جمله ایجاد تصلب شرایین نموده و بیماری‌های خطرناک عروقی مانند عروق کرونر و سکته شود. میزان آنزیم غیر اختصاصی کبد AST در بیش‌تر گروه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری با گروه شاهد نداشت هر چند که در گروه زعفران افزایش قابل توجهی یعنی افزایش ۶۰٪ را از خود نشان داد (P<۰/۰۵) (شکل ۶). میزان آنزیم اختصاصی کبد ALT در مقایسه با گروه شاهد، گروه‌های دریافت کننده زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان توانسته‌اند سطح آنزیم را پایین نگه دارد (P<۰/۰۵) و بالاترین سطح آنزیم مربوط به تیمار ایزونیازید است (P<۰/۰۵) و در گروه ایزونیازید همراه با زعفران تیمار شده با کیتوزان در مقایسه با ایزونیازید همراه با زعفران نتوانسته اثرات مخرب ایزونیازید را کاهش دهد (P<۰/۰۵) (شکل ۷). در بررسی تغییرات آنزیم‌های کبدی میزان آنزیم آلانین آمینوترانسفراز یا ALT اندازه‌گیری گردید که این آنزیم در سیتوپلاسم سلول‌های کبدی بیش‌ترین فعالیت را داشت. افزایش نفوذپذیری غشای سلول‌های کبدی در اثر

هیپوکسی یا نکروز سلولی به‌دلایل مختلف می‌تواند موجب نشت این آنزیم به‌داخل خون و افزایش فعالیت آن در خون شود، پس اندازه‌گیری این آنزیم در تشخیص آسیب‌های کبدی با دلایل مختلف مفید است که در این تحقیق میزان آنزیم اختصاصی کبد ALT در مقایسه با گروه شاهد، تنها گروه دریافت‌کننده زعفران تیمار شده با کیتوزان توانسته سطح آنزیم را پایین نگه دارد (P<۰/۰۵) و بالاترین سطح آنزیم مربوط به تیمار ایزونیازید است (P<۰/۰۵). در گروه ایزونیازید همراه با زعفران تیمار شده با کیتوزان در مقایسه با ایزونیازید همراه با زعفران نتوانسته اثرات مخرب ایزونیازید را کاهش دهد (P<۰/۰۵). میزان آنزیم غیراختصاصی کبد ALP در گروه دریافت‌کننده زعفران توانسته سطح آنزیم را نسبت به گروه شاهد پایین‌تر نگه دارد و به میزان ۱۸٪ با کاهش آنزیم همراه بوده است (P<۰/۰۵) (شکل ۸). ولی در مقایسه گروه دریافت‌کننده ایزونیازید همراه با زعفران تیمار شده باکیتوزان و ایزونیازید همراه با زعفران، تیمار کیتوزان نتوانسته است سطح آنزیم ALP را پایین نگه دارد (P<۰/۰۵). آنزیم هیدرولیتیکی است، ازاین‌رو بیش‌ترین میزان فعالیت آن در pH قلیایی مشاهده می‌شود. مقدار آلکالین فسفاتاز سرم خون در شرایط پاتولوژیک و در ضایعات استخوانی و کبدی افزایش می‌یابد که در این تحقیق میزان آنزیم غیراختصاصی کبد ALP در گروه دریافت‌کننده زعفران توانسته سطح آنزیم را نسبت به گروه شاهد پایین‌تر نگه دارد. بالاترین میزان آنزیم هم مربوط به گروه دریافت‌کننده ایزونیازید است (P<۰/۰۵). در مقایسه گروه دریافت‌کننده ایزونیازید همراه با زعفران تیمار شده با کیتوزان و ایزونیازید همراه با زعفران، تیمار کیتوزان نتوانسته است که سطح آنزیم را پایین نگه دارد (P<۰/۰۵). در بررسی اثر عصاره مریم‌گلی بر پارامترهای کبد و پانکراس در موش به این نتیجه رسیدند که عصاره این گیاه بر عملکرد آنزیم‌های کبد موش ازجمله ALP اثر گذاشته و آن را کاهش می‌دهد (۳۳). عصاره گیاه زعفران بر تنظیم بیان ژن آلکالن فسفاتاز نیز تأثیر دارد و باعث کاهش آن می‌شود، از سویی با توجه به این‌که آلفا-پنین از دیگر ترکیب‌های مهم عصاره زعفران است که مانع تولید ATP در میتوکندری می‌شود، بنابراین می‌توان بیان نمود که براساس نتایج این پژوهش، احتمالاً سطح سرمی کراتین‌کیناز در دوز پایین عصاره گیاه زعفران کاهش یافته و در مقابل سطح سرمی آلکالین فسفاتاز برای تأمین فسفات مورد نیاز برای تولید ATP افزایش می‌یابد. مطالعه Shirdel و همکاران در ارتباط با تاثیرات آنتی‌دیابتیک و آنتی لیپیدمیک زنجبیل در موش‌های دیابتی شده با آلوکسان منوهیدرات و مقایسه آن با داروی گلی‌بن کلامید نشان داد که میزان سرمی گلوکز و تری‌گلیسیرید و VLDL در موش‌های دیابتی نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی داری کاهش می‌یابد (۲۳). بررسی اثر مکمل مریم‌گلی بر آنزیم‌های کبدی در زنان چاق مبتلا به دیابت نوع دوم نشان داد که با توجه به بررسی سطح آنزیم‌های AST، ALT، GGT، ALP و بررسی هیستوپاتولوژی بافت کبدی، آنزیم‌های کبدی در این افراد با کاهش همراه بودند که نتایج این تحقیق هم نشان‌دهنده ثبات یا کاهش این آنزیم‌ها در رت‌های ویستار بود (۲۵). در این مطالعه از داروی ایزونیازید برای القاء اثر استرس اکسیداتیو استفاده شد که باعث بالارفتن سطح ALT در بین تمام گروه‌ها گردید که به‌نظر می‌رسد رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) با اثرات سمّی خود موجب اکسایش لیپیدهای غشایی شوند و بدین‌ترتیب اثر تخریبی بر غشاء سلول‌ها داشته باشند و با اثر بر سیتوپلاسم سلول‌های کبدی می‌توانند باعث افزایش این آنزیم گردند. در پایان این تحقیق مشخص شد که استفاده از عصاره گیاه زعفران باعث کاهش تری‌گلیسیرید، کلسترول LDL و ALP می‌شود و از سوی دیگر باعث افزایش HDL شده است. هم‌چنین اثر عصاره زعفران تیمار شده با کیتوزان به این صورت مشخص شد که باعث کاهش LDL و ALT و باعث افزایش HDL سرم شد. احتمالاً عصاره دانه زعفران با کاهش آسیب در سلول‌های کبدی و هم‌چنین با کاهش سطح لیپیدهای کبدی و جلوگیری از تشکیل کبد چرب باعث کاهش سطح آنزیم‌های ALT و AST در پلاسما می‌شود. مشابه این نتایج در تحقیق، Eedi و همکاران، بر روی اثر عصاره الکلی دانه شنبلیله گزارش شده است (۳۴). از این‌رو با توجه به این اثرات مثبت استفاده از گیاه زعفران و زعفران تیمار شده با کیتوزان نتیجه این که اثرات بهبود دهنده فاکتورهای ارزیابی‌شده قابل توجه است. به‌طورکلی در مقایسه اثرات عصاره تنها و عصاره تیمار شده به کیتوزان می‌توان نتیجه گرفت که عصاره باعث کاهش گلوکز، تری‌گلیسیرید، کلسترول خون، LDL و آنزیم‌های ALP و ALT گردید درحالی‌که بر روی HDL و AST اثر افزایش‌دهنده نشان داد، این در حالی است که عصاره تیمار شده با کیتوزان منجر به کاهش بیش‌تر گلوکز و تری‌گلیسیرید و کلسترول شد ولی این اثر کاهش دهندگی بیش‌تر عصاره تیمار شده با کیتوزان برای LDL و ALP و ALT دیده نشد. هم‌چنین اثر افزایش دهندگی HDL و AST در حضور عصاره تنها و عصاره تیمار شده با کیتوزان به یک اندازه است و کیتوزان نتوانست اثری بیش‌تر از عصاره از خود نشان دهد. می‌توان گفت که به احتمال فراوان ترکیبات موثر موجود در زعفران مثل کروسین و سافرانال از طریق ایجاد پیوند هیدروژنی با کیتوزان در ازای پوشش کیتوزانی شده تا باعث انتقال این ترکیبات به بافت هدف گردند. هم‌چنین در پایان آزمایش DPPH مشخص گردید که اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی زعفران تیمار شده با کیتوزان در مقایسه با زعفران بالاتر بود که حکایت از اثر مثبت تیمار کیتوزان بر میزان آنتی‌اکسیدان‌های زعفران دارد. هم‌چنین نتایج این تحقیق نیز مهر تأییدی بر اثرات مخرب داروی ایزونیازید بر سلول‌های بدن بود.

منابع

1. **Mohammadi Zeidi, I., Akaberi, A. and Pakpour, A.H., 2012.** Factors associated with herbal medicine use among women in Qazvin city: application of theory of planned behavior. Journal of North Khorasan University of Medical Sciences. 4: 103-114. (In Persian)
2. **Ranjbar, A., Ghasmeinezhad, S., Zamani, H., Malekirad, A.A., Baiaty, B., Mohammadirad, A. and Abdollahi, M., 2006.** Antioxidative stress potential of *Cinnamomum zeylancium* in human: a cross-sectional clinical study. Therapy. 3: 15-111. (In Persian)
3. **Taghizadeh, S.M., Sadeghi, M. and Ganji, F., 2016.** Chitosan and Its Microparticles as Carriers in Drug Delivery Systems: An Overview. Polymerization. 6(4): 4-19. (In Persian)
4. **Hashemi Afzal, F. and Ganji, F., 2019.** Polymers Used in Mucoadhesive Drug Delivery Systems. Polymerization. 9(2): 3-14. (In Persian)
5. **Khosravi, M., Khakpor, Sh., Mirzaei, M. and Najjari, M., 2010.** Effect of homogenate of *Salvia officinalis* on LDL, HDL and triglyceride at male rat. Journal of Developmental Biology. 3(10): 15-24. (In Persian)
6. **Allakera, R.P. and Ren, G., 2008.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 102: 1-2.
7. **Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D.Y., Brunet, L., Liga, M.V., Li, D. and Alvarez, P.J.J., 2008.** Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: potential applications and implications. Water Research. 42: 4591-4602.
8. **Younes, I., Frachetb, V., Rinaudo, M., Jelloulia, K. and Nasri, M., 2016.** Cytotoxicity of chitosans with different acetylation degrees and molecular weights on bladder carcinoma cells. International Journalof Biological Macromolecules. 84: 200-207.
9. **Lee, D.S., Jeong, S.Y., Kim, Y.M., Lee, M.S., Ahn, C.B. and Je, J.Y., 2009.** Antibacterial activity of aminoderivatized chitosans against methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Bioorginc Medicinal Chemistry. 17: 7108-7112.
10. **Panda, S. and Kar, A., 1998.** Dual role of betel leaf extract on thyroid function in male mice. Pharmacological Research. 38(6): 493-496.
11. **Tahvili, F. and Ahmadi, M., 2020.** The Effect of Endurance Training and Saffron Extract on Plasma Levels of Interleukin 17 and 18 in Alzheimer's Rats by Trimethyltin Chloride. cmja. 10(2): 148-159. (In Persian)
12. **Jimenez-Escrig, A., Jimenez-Jimenez, I., Sanchez Moreno, C. and Saura-Calixto, F., 2000.** Evaluation of free radical scavenging of dietary carotenoids by the stable radical 2,2 diphenyl-1picrylhydrazy1. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80(11): 1686-1690.
13. **Akhani, S.P., Vishwakarma, S.L. and Goyal, R.K., 2004.** Antidiabetic activity of *Zigiber officinale* in STZ- induced diabetic rats. J Pharm Pharmacol. 56(10): 101-105.
14. **Al-Quttan, K., Thomson, M. and Ali, M., 2008.** Garlic (*Allium sativum*) and ginger (*Zingiber officinale*) attenuate structural nephropathy progression in streptozotocin-induced diabetic rats. The European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism. 3(2): 62-67.
15. **Xi, L., Qian, Z., Xu, G., Zhou, C. and Sun, S., 2007.** *Crocetin attenuates* palmitate-induced insulin insensitivity and disordered tumor necrosis factor-a and adiponectin expression in rat adipocytes. British Journal of Pharmacology. 151: 610-617.
16. **Yang, Y.C., Hsu, H.K., Hwang, J.H. and Hong, S.J., 2003.** Enhancement of glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes by *Toona sinensis* leaf extract. Kaohsiung Journal of Medical Sciences. 19(7): 327-333.
17. **Youn, J.Y., Park, H.Y. and Cho, K.H., 2004.** Anti hyperglycemic activity of *Commelina communis* L.: inhibition of alpha-glucosidase. Diabetes Research and Clinical Practice. 66: S149-S155.
18. **Al-Azzawie, H.F. and Alhamdani, M.S.S., 2006.** Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. Life Sciences. 78(12): 1371-1377.
19. **Al-Amin, Z.M., Thomson, M., Al-Qattan, K.K., Peltonen Shalaby, R. and Ali, M., 2006.** Antidiabetic and hypolipidaemic properties of saffron (*Crucus Sativus* L.) in streptozotocin-induced diabetic rats. Br J Nutr. 96(4): 660-666.
20. **ElRokh, E.S.M., Yassin, N.A., El-Shenawy, S.M. and Ibrahim, B.M., 2010.** Anti hyper cholesterolaemic effect of saffron rhizome (*Crucus Sativus* L.) in rats. Inflammo pharmacol. 18(6): 309-315.
21. **Mahluji, S., Attari, V.E., Mobasseri, M., Payahoo, L., Ostadrahimi, A. and Golzari, S.E., 2013.** Effects of ginger (*Zingiber officinale*) on plasma glucose level, HbA1c and insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. Int J Food Sci Nutr. DOI: 10.3 109/ 09637486.2013.775223. (In Persian)
22. **Talaei, B., Mozaffari-Khosravi, H., Jalali, B., Mahammadi, S.M., Najarzadeh, A. and Fallahzadeh, H., 2012.** The effect of ginger on blood glucose, lipid and lipoproteins in patients with type 2 diabetes: a double-blind randomized clinical controlled trial. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci. 20(3): 383-395. (In Persian)
23. **Shirdel, Z., Mirbalad Zade, R. and Madani, H., 2009.** Effect of anti-diabetic and anti-lipidemic of ginger in diabetic rats for aloxan mono hidrate and compare with gliben clamid. Iran J Diabetes Lipid Disorders. 9(1): 7-15. (In Persian)
24. **Khosravi, M., Khakpor, Sh., Tajadod, Gh. and Takzobani belasi, F., 2013.** Effect of Saliva officinalis hydroalcoholic extract on liver enzymes in male rat. Medical

Science Journal of Islamic Azad University. 23(2): 113-119. (In Persian)

25. **Khosravi, M., Khakpor, Sh., Mirzaei, M. and Najjari, M., 2010.** Effect of homogenate of Salvia officinalis on LDL, HDL and triglyceride at male rat. Journal of Developmental Biology. 3(10): 15-24.
26. **Alizadeh-Navaei, R., Saravi, M., Pouramir, M., Jalali, F. and Moghadamnia, A.A., 2008.** Investigation of the effect of ginger on the lipid levels. A double blind controlled clinical trial. CMJ. 29(9): 1280-1284.
27. **He, S.Y., Qian, Z.Y., Wen, N., Tang, F.T., Xu, G.L. and Zhou, C.H., 2007.** Influence of crocetin on experimental atherosclerosis in hyperlipidamic-diet quails. European journal of pharmacology. 554(2): 191-195.
28. **Bhargava, V.K., 2011.** Medicinal uses and pharmacological properties of *Crocus sativus* Linn (Saffron). Int J Pharmacy Pharmaceutical Science. 3(3): 22-26.
29. **Sheng, L., Qian, Z., Zheng, S. and Xi, L., 2006.** Mechanism of hypolipidemic effect of crocin in rats: crocin inhibits pancreatic lipase. European journal of pharmacology. 543(1): 116-122.
30. **Kianbakht, S. and Mozaffari, K., 2009.** Effects of saffron and its active constituents, crocin and safranal, on prevention of indomethacin induced gastric ulcers in diabetic and nondiabetic rats. Journal of Medicinal Plants. 8: 30-38. (In Persian)
31. **Soheilifar, M., Shiravi, A., Mirazi, N., Hojati, V. and Abbasaliepourkabireh, R., 2020.** Protective effect of hydroalcoholic extract of Raspberry fruit (*Rubus fruticosus* L.) on serum lipid profile in STZ-induced diabetic male rats. Journal of Animal Environment. 12(1): 61-66. (In Persian)
32. **Akbary, P., Baluch Amin, A. and Amini Khoei, Z., 2020.** Effect of extract of Salicornia sp. plant on liver enzymes activity and antioxidant parameters in grey mullet, *Mugil cephalus* Linnaeus 1758. Journal of Animal Environment. 12(2): 169-176. (In Persian)
33. **Nan, J.X., Park, E.J., Kanq, H.C., Park, P.H., Kim, J.Y. and Sohn, D.H., 2001.** Anti-fibrotic effects of a hot-water extract from *Salvia miltiorrhiza* roots on liver fibrosis induced by biliary obstruction in rats. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 53(2): 197-204.
34. **Eedi, A., Eedi, M. and Sokhteh, M., 2006.** Effect of alcohol extract of fenugreek seeds on the activity of liver enzymes in rats. Journal of Medical Plants. 5(2): 36-41. (In Persian)