Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

Study of hypericum perforatum hydroethanolic leaf's extract on anemia & serum iron in male rats induced with cyclophosphamide

Leila Yaghobi*, Naser Mirazi, Maryam Gholami

Department of Biology, School of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
*Corresponding author; E-mail: star. Ghoghnus @gmail. com

Received: 6 October 2015 Accepted: 2 January 2016 First Published online: 28 August 2017
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 October;39(4):86-94

Abstract

Background: Cyclophosphamid is one of the anticancer drugs which cause alkylation on DNA in cells. These drugs reduce blood cells and affect bone marrow tissue. Hpericum perforatum (HP) is a medicinal plant which its hemopoetic effects on bone marrow function and blood parameter were investigated in this study.

Methods: The 42 male Wistar rats with 220-250 gr body weight were divided in 6 groups randomly(n=7) : control group, treated group by cyclophosphamide(15mg/kg,i.p) , treated with HP, and treated groups (cyclophosphamide 15mg/kg, i.p, + 100 mg/kg HP, cyclophosphamide 15mg/kg, i.p, + 200 mg/kg HP and cyclophosphamide 15mg/kg, i.p, + 400 mg/kg HP). After the examination the blood samples were collected from heart directly and analyzed for RBC, HCT and Hb and Fe. Statistical analysis Results of this study were performed using SPSS statistical software, All data were expressed as mean±SEM and differences were considered statistically significant with $P<0.05$.

Results: The bone marrow tissue was injured by cyclophosphamide with reduction in number of blood cells and increase blood iron significantly. The extract of HP showed that the treated animals have increase in blood cells and reduced blood iron compared with cyclophosphamide induced group significantly ($P<0.001$).

Conclusion: The results showed that the extracts of Hypericum perforatum can bone marrow protect against the deleterious effects of Cyclophosphamide, and the blood parameters and serum iron close to normal levels.

Keywords: Hpericum Perforatum, Blood Cells, Cyclophosphamide, Rat

How to cite this article: Mirazi N, Gholami M, Yaghobi L. [Study of hypericum perforatum hydroethanolic leaf's extract on anemia & serum iron in male rats induced with cyclophosphamide]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 October;39(4):86-94. Persian.

© 2017 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

تاثیر عصاره هیدروالکلی برگ گل راعی(*Hpericum perforatum* L.) بر کم خونی و افزایش آهن سرم در اثر مصرف سیکلوفسفامید درموش‌های صحرایی نر

لیلا یعقوبی*، ناصر میرازی، مریم غلامی

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
*نویسنده رابط؛ ایمیل: star.Ghoghnus@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۴/۷/۱۴ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۱۲ انتشار برخط: ۱۳۹۶/۶/۶
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. ۱۳۹۶ مهر و آبان؛ ۳۹(۴):۸۶-۹۴

چکیده

زمینه: سیکلوفسفامید یک داروی ضد سرطان است که سبب آلکیلاسیون DNA در سلولها می‌شود. سیکلوفسفامید همچنین موجب کاهش شمارش سلول‌های خونی و آسیب رسانی به مغز استخوان می‌گردد. گل راعی یک گیاه داروئی است که درطب سنتی استفاده می‌شود. در این مطالعه تاثیر هماتوپوئیک عصاره برگ‌های گل راعی بر روی عملکرد مغز استخوان و پارامترهای خون در موش‌های صحرایی نر القاء شده با سیکلوفسفامید مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: در این پژوهش از ۴۲ سر موش صحرائی نر با وزن ۲۵۰ – ۲۲۰ استفاده گردید که بطور تصادفی به ۶ گروه ۷ تایی (کنترل، شاهد، کنترل مثبت، تیمار ۱،۲،۳) تقسیم بندی شدند. گروه کنترل سالم: روزانه ۰/۵ ml نرمال سالین و گروه شاهد روزانه ۱۵ داروی سیکلوفسفامید و گروه کنترل مثبت روزانه ۲۰۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی چای کوهی به صورت تزریق درون صفاقی و گروهای تیمار ۱و۲و۳ روزانه به ترتیب دوزهای۱۰۰ml/kg و ۲۰۰ ml/kg و ۳۰۰ ml/kg به همراه ۱۵ ml/kgداروی سیکلوفسفامید نیز بصورت درون صفاقی برای ۱۰روز دریافت کرده اند. پس از پایان آزمایش نمونه‌های خون بطورمستقیم از قلب جمع آوری گردید و پارامترهای RBC، Hb، HCT و Fe^{2+} آنالیز و بررسی شد. بررسی آماری یافته‌های این مطالعه با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام گرفت و داده‌ها بصورت Mean±SEM ارائه و تفاوت‌های آماری با P<۰/۰۵ معنی دار تلقی گردید.

یافته‌ها: نتایج حاصل نشان داد که سیکلوفسفامید باعث آسیب رسانی بافت مغزاستخوان می‌شود که در این صورت بطور قابل توجهی باعث کاهش شمارش سلول‌های خونی و افزایش آهن خون درگروه القا شده با سیکلوفسفامید می‌گردد. گروه‌های تحت درمان باعصاره گل راعی افزایش گسترده ای در گلبول‌های قرمز و کاهش آهن خون در مقایسه با گروه شاهد نشان دادند (P<۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: نتایج این آزمایش نشان داد که عصاره گل راعی قادر است احتمالاً بافت مغز استخوان را در برابر اثرات مخرب سیکلوفسفامید محافظت نموده و میزان پارامترهای خونی و آهن سرم را به سطح طبیعی آنها نزدیک نماید.

کلید واژه: گل راعی، گلبول‌های قرمزخون، سیکلوفسفامید، موش‌های صحرائی

نحوه استناد به این مقاله: یعقوبی ل، میرازی ن، غلامی م. تاثیر عصاره هیدروالکلی برگ گل راعی(Hpericum perforatum L.) برکم خونی و افزایش آهن سرم در اثر مصرف سیکلوفسفامید درموش‌های صحرایی نر. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. ۱۳۹۶؛ ۳۹(۴): ۸۶-۹۴

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

یکی از روش‌های مقابله با کاهش یا از بین بردن انواع سرطان، استفاده از داروهای شیمیایی و یا به عبارتی شیمی درمانی می‌باشد (۱). یکی از داروهای مورد مصرف در شیمی درمانی داروی سیکلوفسفامید است. سیکلوفسفامید با نام تجاری آندوکسان و یا سیتوفسفان نیز شناخته می‌شود، این دارو یک عامل آلکیله کننده نیتروژن موستارد از گروه oxazaphosphinan است (۲). جزء دسته دارویی ضد نئوپلاسم می‌باشد. این دارو در رژیم‌های شیمی درمانی ترکیبی یا به تنهایی (منوتراپی) در درمان مواردی چون: لوسمی‌ها (۳)، لنفوم بدخیم، تومورهای بدخیم (۴) و توپر متاستاز دهنده و غیر متاستاز دهنده، بیمارهای خود ایمنی پیش رونده، بعنوان درمان سرکوب گر ایمنی در پیوند اعضاء، سرطان پروستات (۵) و ... استفاده می‌شود. داروی سیکلوفسفامید یک داروی ضدسرطان است که موجب آلکیلاسیون ملکول DNA می‌گردد. این دارو به خوبی از دستگاه گوارش جذب می‌شود و بطور گسترده‌ای در بافت‌ها و مایعات بدن توزیع می‌گردد و از سدخونی مغزی عبور می‌کند (۶). این دارو در کبد توسط سیتوکروم P450 به سه متابولیت فعال تبدیل شده و از کلیه‌ها دفع می‌گردد (۷). داروی سیکلوفسفامید با ایجاد اتصال بین دو رشته مولکولی DNA و نیز شکستن DNA، RNA و همچنین مهارسنتزپروتین اثر سلول‌کشی خود را اعمال می‌کند (۸). مصرف سیکلوفسفامید غالبا با بی اشتهایی، حالت تهوع و استفراغ همراه هست. مهمترین عوارض جانبی این دارو ایجاد اختلال در مسیر خون‌سازی و کاهش سلول‌های خونی، افزایش غلظت اسیداوریک، کاهش عملکرد غدد جنسی، ایجاد آمنوره، آزواسپرمی، الیگواسپرمی می‌باشد (۶و۸).

خونسازی به معنای ساخت اجزای سلول‌های خونی است، تمامی این اجزاء سلولی خونی از سلولهای بنیادی خونساز مشتق شده اند. سلول‌های بنیادی خونساز درموش بالغ درمغزاستخوان و کبد اقامت دارند (۷). اکثر سلول‌های مغز استخوان پیشسازهای قابل تشخیص گرانولوسیت‌ها یا اریتروسیت‌ها با تعداد کمی پیش سازهای پلاکت‌ها، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها، ماکروفاژها و سلول‌های استرومال هستند (۹). امروزه از گیاهان دارویی به طور گسترده در پیشگیری و درمان انواع اختلالات و بیماری‌ها استفاده می‌شود. به دلیل سابقه بسیار طولانی کاربرد گیاهان دارویی در درمان بیماری‌ها، هر روز بر دانش بشر در شناسایی، مکانیسم‌های اثر گذاری، جداسازی مواد متشکله موجود در آن‌ها و صنعتی نمودن ساخت داروهای گیاهی افزوده می‌گردد. گیاهان دارویی به دلیل ماهیت طبیعی و وجود ترکیبات همولوگ دارویی در کنار هم با بدن سازگاری بهتری داشته و معمولا فاقد عوارض ناخواسته هستند، لذا به خصوص در موارد مصرف طولانی و در بیماری‌های مزمن بسیار مناسب می‌باشد (۱۰). یکی از گیاهانی که امروزه به دلیل خواص بی‌شمار آن، توجه بسیاری را به خود جلب کرده و تحقیقات زیادی بر روی آن انجام می‌گیرد، گل راعی می‌باشد و این گیاه درحال حاضر، یکی از پرمصرف‌ترین داروهای گیاهی در سراسر جهان می‌باشد (۱۱). گیاه گل راعی با نام علمی Hypercium Perforatum گیاهی علفی پایا از خانواده‌ی Hyperiacea و بومی غرب اروپا، آسیا و شمال افریقا است. اهمیت این گیاه در چند سال اخیر به عنوان گیاه دارویی به ویژه برای درمان افسردگی ملایم تا متوسط به طور قابل توجهی افزایش یافته است (۱۲). گیاه گل راعی حاوی دامنه وسیعی از متابولیت‌های ثانویه همچون فلاونوئیدها، پروآنتوسیانیدین‌ها، نفتودیانترون‌ها (هایپر یسین و سودوهایپرسین)، آسیل فلوروگلوسینول‌ها (هایپرفورین و ادهایپرفورین) می‌باشد و تاکنون خواص درمانی بالایی برای این گیاه دارویی گزارش شده است که بیشترین تاثیر و کاربرد آن تاکنون در درمان افسردگی است، مکانیزم اثر ضدافسردگی آن ازطریق مهار آنزیمی وماده موثراین گیاه یعنی هایپرسین می‌باشد (۱۳). عصاره ی این گیاه خاصیت التیام بخشی در سوختگی‌ها و بریدگی‌ها و همچنین بهبود در روند درمانی افسردگی و اضطراب دارد و همچنین تحقیقات اخیر تاثیراتی دیگر از جمله خاصیت ضدسرطانی (۱۴)، درمان بیماری‌های ویروسی و باکتریایی (۱۵) و همچنین به عنوان آنتی اکسیدان و محافظت کننده‌ی دستگاه عصبی را پیشنهاد می‌کنند (۱۶).

گیاه گل راعی به دلیل داشتن مواد آنتی اکسیدان و ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی وآنتوسیانینی قادر است که در جلوگیری از برخی اختلالات در بسیاری از بافت‌ها ازجمله بافت خونساز جلوگیری نماید. ترکیب‌های موجود در گل راعی در بسیاری از بافت‌ها از جمله بافت خون سبب افزایش و سرعت در تکثیر سلولها می‌گردد (۱۷). با توجه به ترکیبات بیولوژیکی فعال موجود در گیاه گل راعی و خواص درمانی بالای این گیاه، بر آن شدیم تا تاثیر عصاره هیدروالکلی گل راعی(hypercium perforatum) بر پارامترهای خونی و آهن سرم در موش‌های صحرایی نر که با سیکلوفسفامید القاء شده اند را مورد ارزیابی و بررسی قرار دهیم.

روش کار

این پژوهش یک مطالعه آزمایشگاهی می‌باشد و در این تحقیق کلیه اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی مد نظر قرار گرفته است. در این مطالعه تجربی تعداد ۴۲ سر موش صحرائی نر بالغ نژاد ویستار از انستیتو پاستور تهران تهیه شد و به مدت ۱۰ روز در حیوان خانه دانشکده علوم پایه همدان در دمای ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰±۶۵ درصد و میزان نور (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی) به دقت تنظیم شده قرار داده و آب و غذا به میزان کافی در اختیار حیوانات

قرارداده شد تا به وزن دلخواه حدود۲۰±۲۲۰ گرم برسند. موش‌ها به طور تصادفی در ۶ گروه ۷ تایی متفاوت شامل: گروه اول کنترل دریافت کننده نرمال سالین، گروه دوم شاهد دریافت کننده‌ی داروی سیکلوفسفامید (۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم)، گروه سوم کنترل مثبت دریافت کننده تنها عصاره گل راعی (۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) گروه چهارم وپنجم وششم دریافت کننده دوزهای متفاوت عصاره (۱۰۰،۲۰۰و۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، روزانه به مدت ۱۰ روز) به همراه دریافت کننده همزمان داروی سیکلوفسفامید (۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم) در قفس‌های جداگانه و استاندارد قرار داده شدند، تقسیم بندی گردیدند. تمام آزمایش‌ها در طول روز و تمامی تزریقات به صورت داخل صفاقی و ۰/۳ میلی-لیتر انجام شد. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی و همچنین کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشکده علوم پایه انجام رفت. فرآیند عصاره‌گیری در این مطالعه بر اساس منابع قبلی انجام شد، بدین منظور گیاه گل راعی در اواسط فصل تابستان تهیه شد. سپس جهت شناسایی علمی به وسیله متخصص گیاه‌شناس مرکز تحقیقات کشاورزی استان همدان ارسال گردید. مقدار ۵ کیلوگرم گیاه گل راعی تهیه و پس از پاکسازی و جداسازی برگ‌ها از گل و ساقه گیاه و در سایه جهت خشک شدن قرارگرفت. گیاه پس ازخشک شدن به منظور جداسازی بهتر و موثرتر مواد فعال موثر موجود در آن، بوسیله‌ی آسیاب برقی به صورت پودر درآورده شد. پودر حاصل از گیاه گل راعی به وزن تقریبی ۴۰۰ گرم در داخل بشر ریخته شد و جهت جداسازی مواد موثر گیاه به نسبت ۱:۴ اتانول ۸۰ ٪ اضافه گردید. به گونه‌ای که پودر حاصل کاملا با اتانول آغشته شود، سپس با همزن شیشه ای مواد موجود را هم زده و در ادامه بشر با پارافیلم پوشانده شد و به مدت ۲ هفته در مکان تاریک و خنک (فریزر) قرار داده شد. بعد از سپری شدن ۲ هفته محتویات بشر بوسیله کاغذ صافی و قیف شیشه‌ای صاف گردید، سپس محلول درون بالن ریخته شده و در دستگاه روتاری، در دمای حداکثر ۸۰ درجه سانتی گراد با دور متوسط به منظور جداسازی حلال از عصاره قرار گرفت. در صورت استفاده از دمای بالا سبب آسیب رسیدن به مواد مؤثر گیاه می‌شود. پس از خروج حلال، مایع غلیظ نیمه جامد بدست آمده روی پلیت شیشه‌ای پهن گردید و به منظور خشک شدن کامل به مدت ۲روز زیر هود قرار داده شد. بعد از آن که عصاره کاملا تغلیظ گردید. جهت جلوگیری از ورود هوا در پلیت‌ها بسته شد و تا زمان مصرف در فریز نگهداری شد.

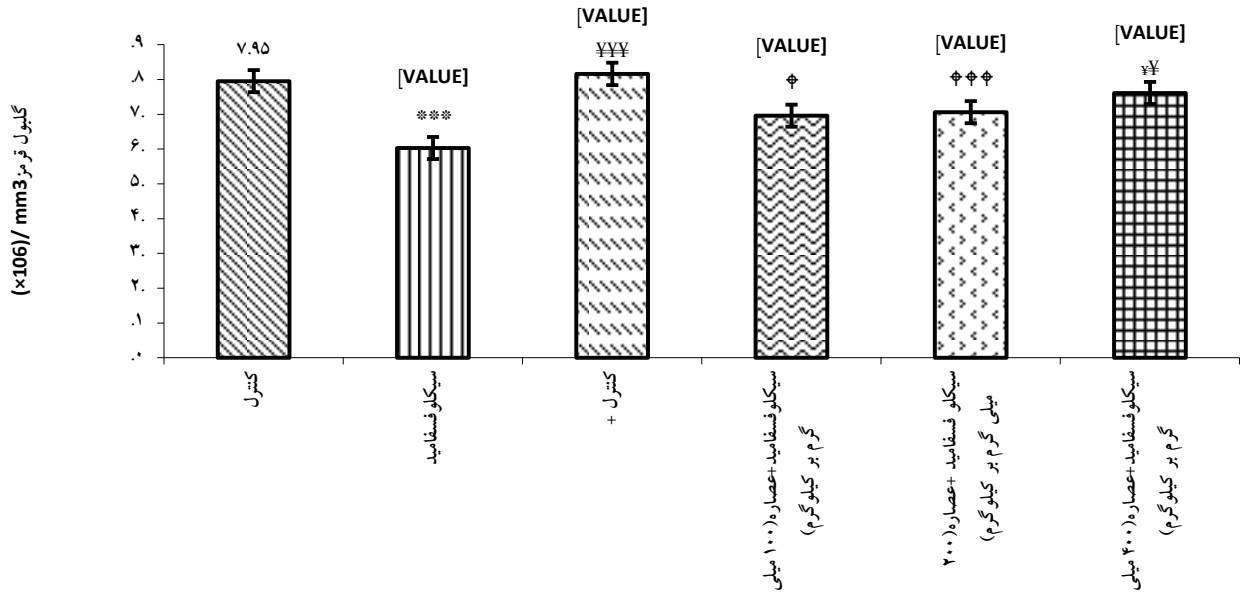
در خصوص بررسی اثرات محافظت کنندگی و یا تکثیر یابندگی سلول‌های خونی تغییرات پارامترهای خونی مانند تعداد گلبول‌های قرمز خون (RBC)، گلبول‌های سفید خون (WBC)، سطح هموگلوبین خون (Hb)، پلاکت خون، درصد هماتوکریت خون (Hct) و همچنین آهن سرم، ناشی از اثرات مخرب داروی سیکلوفسفامید در موش صحرائی اندازه گیری شدند. تمامی گروه‌های آزمایشی بعد از گذشت ۱۰ روز مورد آزمایش خون گیری قرار گرفتند. خون گیری به صورت روش مستقیم داخل بطنی انجام شد. نمونه‌های خون در لوله‌های استریل حاوی ماده ضد انعقاد EDTA جمع آوری و جهت انجام آزمایش بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردیدند. نمونه در دستگاه سل کانتر(مدلMS 9، ساخت آلمان) جهت شمارش سلولی قرار گرفته تا اندیس‌های خونی RBC، WBC، Plt ، Hct و Hb اندازه گیری شود. بررسی آماری یافته‌های این مطالعه با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها در دو بخش آمار توصیفی و استنباطی انجام شد. در بخش آمار توصیفی گرایش‌های تمرکز و پراکندگی مانند میانگین و انحراف استاندارد ارائه گردید. در بخش آمار استنباطی ابتدا با استفاده از آزمون کولموگروف – اسمیرنوف از نرمال بودن داده‌ها اطمینان حاصل گردید. متعاقباً جهت بررسی فرضیات پژوهشی از تحلیل واریانس یک طرفه بین آزمودنی استفاده شد. اختلاف داده‌ها با P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

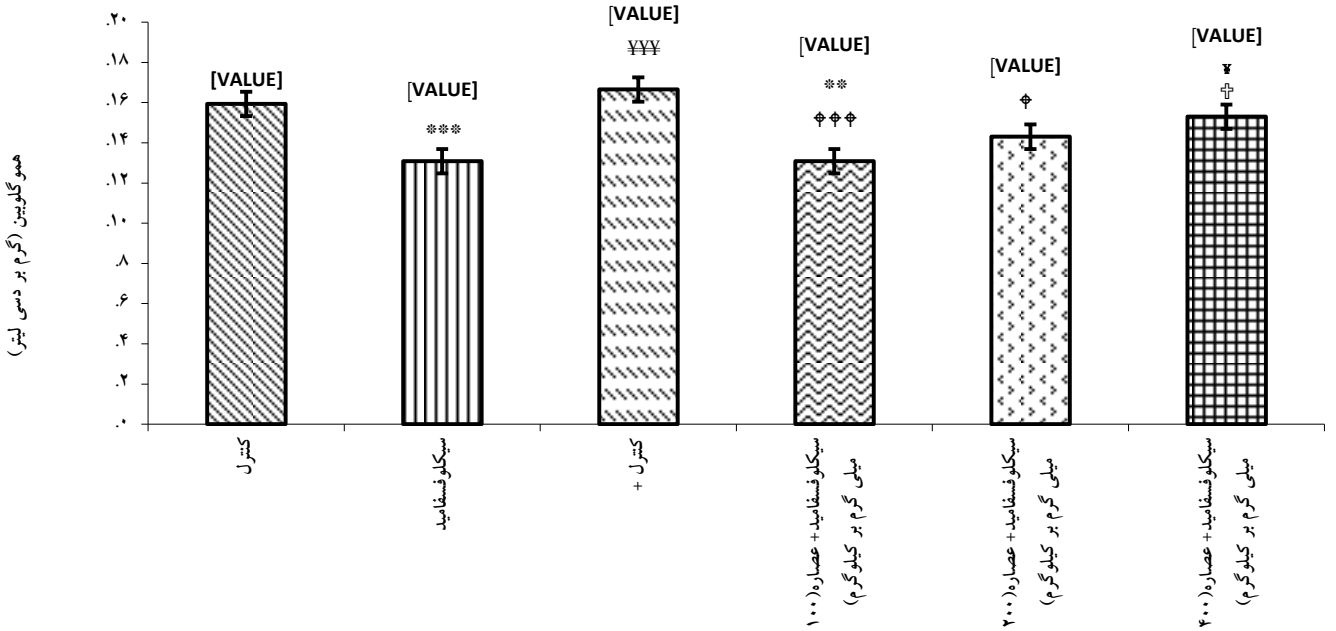
با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف مشخص شد که توزیع همه متغیرهای موجود در پژوهش طبیعی می‌باشد، بنابراین از آزمون‌های پارامتریک برای انجام محاسبه‌های آماری استفاده گردید. مشاهده شد که سیکلوفسفامید کاهش معنی‌دار گلبول‌های قرمز خون (RBC) را در پی داشته و عصاره توانایی افزایش معنی‌دار تعداد RBC های خون را در حد گروه کنترل منجر شده است (P<۰/۰۰۱) (نمودار۱).

به همین شکل سیکلوفسفامید باعث کاهش معنی‌دار هموگلوبین (Hb) و هماتوکریت (Hct) خون گشته و عصاره قادر به افزایش Hb (نمودار۲) و Hct (نمودار۳) خون بوده است، (P<۰/۰۰۱).

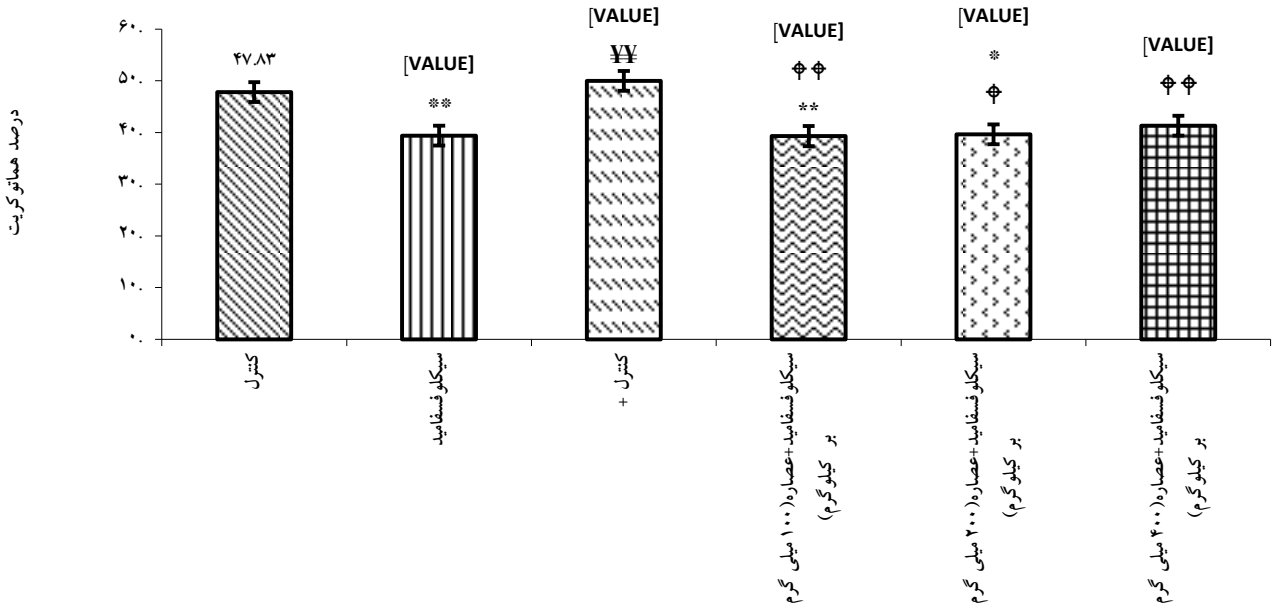
همچنین داروی سیکلوفسفامید باعث افزایش معنی دار تعداد آهن سرم (Fe) گردید و گروه‌های تحت درمان با عصاره هیدروالکلی گل راعی کاهش معنی دار Fe را به نمایش گذاشتند(P<۰/۰۰۱). (نمودار۴).



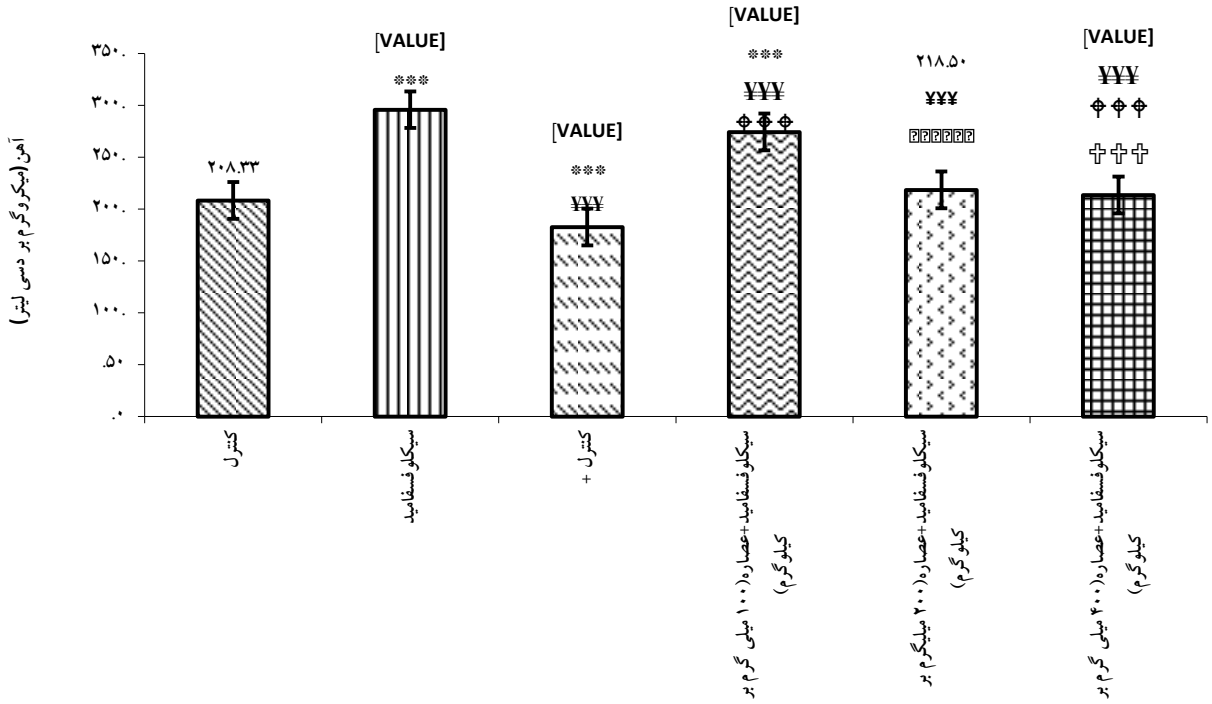
نمودار ۱. بررسی داده‌های حاصل از شمارش گلوبول‌های قرمز در گروه‌های کنترل، دریافت کننده سیکلو فسفامید (۱۵ ml/kg)، کنترل + (دریافت کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه راعی ۲۰۰ mg/kg) و گروه‌های دریافت کننده سیکلو فسفامید + عصاره هیدروالکلی برگ گیاه راعی در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار القا شده با سیکلوفسفامید. .* بیان‌گر معناداری نسبت به گروه کنترل، ¥ بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده سیکلو فسفامید ⊕بیان‌گر معناداری نسبت به گروه کنترل + (دریافت کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه راعی ۲۰۰ mg/kg): (***P<۰/۰۰۱)، (¥¥¥ P<۰/۰۰۱)، (¥¥ P<۰/۰۱)، (⊕⊕⊕ P<۰/۰۰۱)، (✝✝ P<۰/۰۱)، (♠♠ P<۰/۰۱)



نمودار ۲. بررسی داده‌های حاصل از بررسی **Hb** در گروه‌های کنترل، دریافت کننده سیکلو فسفامید (۱۵ ml/kg)، کنترل + (دریافت کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه راعی ۲۰۰ mg/kg) و گروه‌های دریافت کننده سیکلو فسفامید + عصاره هیدروالکلی برگ گیاه راعی در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار القا شده با سیکلوفسفامید.* بیان‌گر معناداری نسبت به گروه کنترل، ¥ بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده سیکلو فسفامید ⊕بیان‌گر معناداری نسبت به گروه کنترل + (دریافت کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه راعی ۲۰۰ mg/kg) ✝بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده سیکلو فسفامید +دوز ۱۰۰ mg/kg (***P<۰/۰۱)، (***P<۰/۰۱)، (¥¥¥ P<۰/۰۰۱)، (¥ P<۰/۰۵)، (⊕⊕⊕ P<۰/۰۰۱)، (⊕ P<۰/۰۰۱)، (✝ P<۰/۰۰۱)



نمودار ۳. بررسی داده‌های حاصل از بررسی **Hct** در گروه‌های کنترل، دریافت کننده سیکلو فسفامید (۱۵ ml/kg)، کنترل + (دریافت کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه راعی ۲۰۰ mg/kg) و گروه‌های دریافت کننده سیکلو فسفامید + عصاره هیدروالکلی برگ گیاه راعی در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار القا شده با سیکلوفسفامید.* بیان‌گر معناداری نسبت به گروه کنترل، ¥ بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده سیکلو فسفامید ✦ بیان‌گر معناداری نسبت به گروه کنترل + (دریافت کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه راعی ۲۰۰ mg/kg) ✝
(✝ P<۰/۰۵)،(✦ P<۰/۰۵)، (✦✦ P<۰/۰۱)، (¥¥ P<۰/۰۱)، (* P<۰/۰۵)، (** P<۰/۰۱)



نمودار۴. بررسی داده‌های حاصل از بررسی **Fe** در گروه‌های کنترل، دریافت کننده سیکلو فسفامید (۱۵ ml/kg)، کنترل + (دریافت کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه راعی ۲۰۰ mg/kg) و گروه‌های دریافت کننده سیکلو فسفامید + عصاره هیدروالکلی برگ گیاه راعی در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار القا شده با سیکلوفسفامید.* بیان‌گر معناداری نسبت به گروه کنترل، ¥ بیان‌گر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده سیکلو فسفامید ✦ بیان‌گر معناداری نسبت به گروه کنترل + (دریافت کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه راعی ۲۰۰ mg/kg) ✝
(✝ P<۰/۰۵)،(✦ P<۰/۰۵)، (✦✦ P<۰/۰۱)، (¥¥ P<۰/۰۱)، (* P<۰/۰۵)، (** P<۰/۰۱)

بحث

در این بررسی که به منظور مطالعه اثرات عصاره هیدروالکلی گیاه گل راعی بر برخی شاخصه‌های کم خونی نظیر: تعداد گلبول‌های قرمز خون (RBC)، سطح سرمی هموگلوبین خون (Hb)، درصد هماتوکریت خون (Hct) و آهن سرم (Fe) که متعاقب مصرف داروی سیکلوفسفامید در خون موش‌های صحرائی نر بالغ ایجاد می گردد، طراحی گردید. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که عصاره هیدروالکلی گل راعی به صورت وابسته به دوز بر فاکتورهای خونی از جمله: گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، هموگلوبین و آهن سرم خون موثر باشد. نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر در همراهی با گزارش ارائه شده به توسط Vertika و همکاران (۱۸) می‌باشد که اثر گیاه گزنه را بدلیل داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی این گیاه بر تعداد سلولهای خونی مورد بررسی و نشان دادند که باعث افزایش فاکتورهای خونی از جمله: گلبولهای قرمز خون، میزان هموگلوبین و هماتوکریت می‌باشد و در درمان کم خونی نقش بسزایی می تواند داشته باشد. می‌توان چنین احتمال داد که وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی عصاره گل راعی مانع اثرات تخریبی داروی سیکلوفسفامید بر سلولهای اجدادی مغز استخوان می‌شود. به نظر می‌رسد که کاهش مقدار هموگلوبین خون در اثر اختلال در ساخته شدن سلولها و همچنین اختلال در مکانسیم‌های سنتز هموگلوبین به وسیله داروی فوق صورت گرفته باشد، عصارهٔ گل راعی با هر کدام از غلظت‌های بکار رفته در این پژوهش قادر است که هموگلوبین سازی را افزایش دهد، بطوریکه این افزایش نسبت به گروه کنترل معنی دار شده است. و همچنین با توجه به نتایج حاصل شده در خصوص تأثیر داروی Cyclophosphamide و عصاره گل راعی بر درصد هماتوکریت خون موش صحرائی، تاثیر دارو قادر است به نحو معنی داری درصد Hct درخون موش صحرائی کاهش دهد. این کاهش همسو با کاهش تعداد RBCها هم می‌باشد. از طرف دیگر، تأثیر عصاره گل راعی با غلظت‌های ۱۰۰ و۲۰۰ هرچند افزایشی در درصد Hct ایجاد می‌نماید اما نسبت به ۴۰۰ آن که معنی دار می‌باشد، فاقد تفاوت معنی دار شده است. اثر غلظت این اثر بیشتر به خاطر افزایش تعداد RBC باشد. علت این امر میتواند به احتمال قوی مربوط به اثر عصارهٔ فوق در روند تکثیر سلولی و تأثیر آنتی اکسیدانتی آن در جهت حفاظت از روند پروتئین سازی عصاره گل راعی صورت گرفته باشد (۱۹).

به نظر می‌رسد که داروی سیکلوفسفامید نه تنها از تکثیر سلولهای سرطانی با مکانیسم آلکیلاسیون ملکول DNA می کاهد، بلکه در بافت خونساز نیز که تکثیر سلولهای اجدادی با استفاده از مکانیسم مذکور صورت می گیرد، مداخله می نماید. در نتیجه کاهش معنی دار تعداد RBC توجیه پذیر است که این نتیجه با نتایج بدست آمده از سایر تحقیقات انجام گرفته نیز هم خوانی دارد (۲۰). اثر عصاره گل راعی با دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روند خونسازی نسبت به گروه کنترل با شدت بسیار زیادی معنی دار می‌باشد، این اثر امکان دارد که با مکانیسم تحریک روند اریتروسیتوز در بافت‌های خونساز از طریق فعال کردن سنتز سایتوکاین‌ها و برخی اینترلوکین‌های درگیر در خونسازی به وسیله ترکیب‌های موجود در عصاره گل راعی انجام شود. در گروهی که بدون دریافت داروی سیکلوفسفامید در مقایسه با گروهی که همزمان با دریافت عصاره، داروی سیکلوفسفامید نیز دریافت می کردند نتایج نشان داد که این تأثیر نسبت به گروه کنترل معنی دار است. نتیجه فوق احتمال دارد که در خصوص اثر بخشی زمان بر عصاره گل راعی باشد که اعمال شده است. این موضوع بیانگر این واقعیت می باشد که تأثیر دارو در مدت زمان کوتاهی رخ می‌دهد در حالی که روند خونسازی امری است که زمان بر می‌باشد. به نظر می رسد عصاره گل راعی قادر باشد در سنتز اریتروپوئتین که بوسیله کلیه‌ها صورت می‌گیرد اثر خود را اعمال نماید و چون ساخته شدن اریتروپوئیتین جدید چندین روز زمان نیاز دارد (۲۱). لذا عصاره گل راعی بعد از چند روز قادر است تا اثرات مخرب داروی سیکلوفسفامید را جبران نماید. نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج حاصل از مطالعه‌های قبلی که اثرات محافظت کنندگی و ممانعت کنندگی از روند رشد سلولهای سرطانی بوسیله عصاره گیاه گل راعی را گزارش کردند مطابقت دارد (۲۴-۲۲).

همانطورکه بیان گردید، سیکلوفسفامید سبب کاهش تعداد گلبولهای قرمز خون گردید، که اینگونه تصور می‌شود که این دارو موجب تخریب RBCهای خون شده که در نتیجه آزاد شدن هموگلوبین خون را در پی داشته است که در نهایت همسو با تجزیه هموگلوبین خون در کبد مقدار پلاسمایی آهن خون افزایش پیدا می‌کند، بنابراین سیکلوفسفامید بطور معنی داری سبب افزایش سطح پلاسمایی آهن می‌گردد که نتایج ما نیز بیانگر این وضعیت می‌باشد (۲۶-۲۵). عصاره هیدروالکلی گل راعی سبب کاهش مقدار آهن پلاسما پس از دریافت سیکلوفسفامید گردیده است، لذا احتمال می‌رود که عصاره سبب مهار تخریب گلبول‌های قرمز توسط سیکلوفسفامید گردیده باشد.

نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که عصاره گل راعی دارای ترکیبات شیمیایی نظیر آنتی اکسیدانت‌ها و فلاونوئیدی خاصی می باشد که قادر است در موش‌های مبتلا به کم خونی که توسط عصاره درمان شده اند، باعث افزایش معنی داری در برخی فاکتورهای خونی ناشی از تجویز داروی سیکلوفسفامید شود، بنابراین گیاه گل راعی ممکن است به عنوان یک عامل درمانی در پیشگیری از عوارض

شیمی درمانی در بیماران سرطانی مورد استفاده قرار گیرد. و به منظور نتیجه گیری جامع تر اثر این گیاه در دامنه وسیع تر از دوزهای تزریقی و خوراکی مورد استفاده قرار گیرد و همچنین اثرات خالص مواد فعال آن بررسی شود.

قدردانی

از زحمات بی دریغ آقای رمضان کلوندی که در شناسایی گیاه مارا یاری نمودند، تقدیر وتشکر می نماییم.

References

1. Logo DL, Kasper DL, Jameson JL, Fauci AS, Hauser SL, Loscalzo J. Harrison principles of internal medicine. 18th ed. United States, *McGraw –Hill*, 2012; PP: 475-484. doi: 10.1007/s00417-012-1940-9
2. Takimoto CH, Calvo E. Principles of oncologic pharmacotherapy. 9th ed. In Pazdur R, Coia LR, Hoskins WJ et al. *Cancer Management: A Multidisciplinary Approach* 2005. PP: 23-42.
3. Shanafelt TD, Lin T, Geyer SM. "Pentostatin, cyclophosphamide, and rituximab regimen in older patients with chronic lymphocytic leukemia". *Cancer* 2007; **109**(11): 2291-2298. doi**:** 10.1002/cncr.22662
4. Young SD, Whissell M, Noble JC, Cano PO, Lopez PG, Germond CJ. "Phase II clinical trial results involving treatment with low-dose daily oral cyclophosphamide, weekly vinblastine, and rofecoxib in patients with advanced solid tumors". *Clinical Cancer Research* 2006; **12**(10): 3092-3098. doi**:** 10.1158/1078-0432
5. Nelius T, Klatte T, de Riese W, Haynes A, Filleur S. Clinical outcome of patients with docetaxel-resistant hormone-refractory prostate cancer treated with second-line cyclophosphamide-based metronomic chemotherapy. *Medical Oncology* 2010; **27**(2): 363-367. doi: 10.1007/s12032-009-9218-8
6. Mirfardi M, Johari H, Mokhtari M, Hemaiat khah V. Study of Allium sativum extract Testicular weight and spermatogenesis in male Rats induced with Cyclophosphamide. *University of Medical Sciences Journal Fsa* 2011; **1**(3): 123-130. doi: 10.17795/zjrms1014
7. Calvi LM, Adams GB, Weibrecht KW. Osteoblastic cells regulate the hematopoietic stem cell niche. *Nature* 2003; **425**: 841-846. doi: 10.1038/nature02040
8. Johari H, SHarifi A, Ansari N, Hosini M. Study of Zingiber Officinale extract on body weight, testicular weight and spermatogenesis in male Rats induced with Cyclophosphamide. *Journal of shahid sadoghi yazd University Medical Sciences* 2016; **17**(5): 365-374.
9. Davidson H, Alizade SH, Saki N, Mosavi H, Farshdosti M. Coagulation and clotting medicine. Hematology 2012; **2**(1): 576.
10. Golpasha K, Mohamad poor M. Medicinal properties of Haypericum perforatum. *National and congresses natural products and medicinal plants* 2012; **24**: 279.
11. Mašković PZ, Mladenović JD, Cvijović MS, Aćamović-Đoković G, Solujić SR, et al. Phenolic content, antioxidant and antifungal activities of acetonic, ethanolic and petroleum ether extracts of Hypericumperforatum L. *Hem Ind* 2011; **65**(2): 159-164. doi: 10.2298/HEMIND100819004M
12. Snow V, Lascher S, Mottur-Pilson C. Pharmacologic treatment of acute major depression and dysthymia. American College of Physicians- American Society of Internal Medicine. *Ann Intern Med* 2000; **132**: 738-742. doi**:** 10.7326/0003-4819-132-9-200005020-00010
13. Akhondzadeh S, Noroozian M, Mohammadi M. Salvia officinalis extract in the reatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: A double blind, randomized and placebo-controled trial. *J Clin Pharm Ther* 2003; **28**(1): 53-59. doi**:** 10.1046/j.1365-2710.2003.00463.x
14. Agostinins P, Vantieghem A, Merlevede W, de Witte P.A.M. Hypericin in cancer treatment: More light on the way. *Int J Biochem Cell Biol* 2002; **34:** 221-241. doi: 10.1016/S1357-2725(01)00126-1
15. Saddiqe Z, Naeem I, Maimoona A. A review of the antibacterial activity of Hypericum perforatum L. *J Ethnopharmacol* 2010; **131**(3): 511-521. doi: 10.1016/j.jep.2010.07.034
16. Klemow KM, ‹Bartlowa A, Kocher N, Crawford J. Medical attributes of st. John's wort (Hypercium perforatum). *Biomolecular and clinical aspect*. 2nd ed. Boca paton (fl). CRC press. 2011. Chapter11. doi: 10.1201/b10787-12
17. Asgharieh ahari M, Farahpor M. [Histopathological effects of extract of aerial parts Hypercom flowers on healing full thickness skin lesion in experimental mice]. 4th ed. 2014; PP: 177-178 (Persian). doi: 10.1001/archsurg.1965.01320160112027
18. Vertika K, Pradeep K, SHikhar V, Abhishek G, SHarad S, Aks A. Pharmacognostic Evaluation and Antioxidant Activity of *Urtica dioica* L. *Chinese Medicine* 2012; **3**: 128-135.
19. Silva B.A, Ferreres F, Malva J, Dias A. Phytochemical and antioxidant characterization of *Hypericum perforatum* alcoholic extracts. *Food Chem* 2005; **90**: 157-167. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.03.049
20. Molyneux G, Andrews M, Sones W, York M, Barnett A, et al. Haemotoxicity of busulphan, doxorubicin, cisplatin and cyclophosphamide in the female BALB/c mouse using a brief regimen of drug administration.

Cell Biol. *Toxicol* 2011; **27**: 13-40. doi: 10.1007/s10565-010-9167-1
21. Gauyton AC, Hall JE. *Text book of medical physiology*. 12th ed. Sunders, 2010; PP: 413-422.
22. Mo J, Panichayupakaranant P, Kaewnopparat N, Nitiruangjarras A, Reanmongkol W. Wound healing activities of standardized pomegranate rind extract and its major antioxidant ellagic acid in rat dermal wounds. *J Nat Med* 2014; **68**(2): 377-386. doi: 10.1007/s11418-013-0813-9
23. Hostanska K, Reichling S, Bommer M, Reinhard S. Hyperforin a constituent of st John's wort (Hypericum perforatum) extract induces apoptosis by triggering activation of cases and with hypericin synergistically exerts cytotoxicity towards human malignant cell lines. *European J. of pharmaceutics a biopharmaceutics* 2003; **56**: 121-132. doi: 10.1016/S0939-6411(03)00046-8
24. Roscetti G, Franzese O, Comandini A, Bonmassar E. Cytotoxic activity of *Hypericum perforatum* L. on K562 erythroleukemic cells: differential effects between methanolic extract and hypericin. *Phytother Res* 2004; **18**(1): 66-72. doi**:** 10.1002/ptr.1369
25. Miranda CJ, Makui H, Soares RJ, Bilodeau M, Mui J, Vali H, Bertrand R, Andrews NC. Hfe deficiency increases susceptibility to cardiotoxicity and exacerbates changes in iron metabolism induced by doxorubicin. *Blood* 2003; **102:** 2574-2580. doi: 10.1182/blood-2003-03-0869
26. Bohuslav M, Lubor U, Lenka K, Hana K. Urinary Neopterin, Hemoglobin and Peripheral Blood Cell Counts in Breast Carcinoma Patients Treated with Dose-dense Chemotherapy. *Anticancer research* 2008; **28**: 2389-2396.