

# اثر عصاره هیدروالکلی گل راعی (*Hypericum perforatum L.*) بر برخی پارامترهای خون در موش‌های صحرایی نر درمان شده با داروی سیکلوفسفامید

لیلا یعقوبی، ناصر میرازی\*

گروه زیست شناسی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران  
تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۴/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۲/۴

## چکیده

زمینه و هدف: سیکلوفسفامید یک داروی ضد سرطان است که سبب آلکیلاسیون DNA در سلول‌ها می‌شود. سیکلوفسفامید موجب کاهش تعداد گلبول‌های خون و آسیب‌رسانی به مغز استخوان می‌گردد. گل راعی یک گیاه دارویی است که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است. هدف از این مطالعه تأثیر خون‌سازی عصاره برگ گل راعی بر روی عملکرد مغز استخوان و پارامترهای خون در موش صحرایی نر درمان شده با سیکلوفسفامید بود.

روش بررسی: در این پژوهش تجربی از ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن  $25 \pm 22$  استفاده گردید. موش‌ها به طور تصادفی به ۶ گروه ۷ سری تقسیم شدند؛ گروه کنترل (دریافت کننده روزانه ۰/۵ میلی لیتر نرمال سالین درون صفاقی)، گروه شاهد (دریافت کننده روزانه ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم داروی سیکلوفسفامید، داخل صفاقی)، گروه کنترل مثبت (دریافت کننده روزانه ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی گل راعی)، و گروه‌های تیمار ۱، ۲ و ۳ (به ترتیب ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره گل راعی + ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم داروی سیکلوفسفامید را به صورت درون صفاقی به مدت ۱۰ روز). پس از پایان آزمایش نمونه‌های خون به طور مستقیم از قلب جمع‌آوری گردید و پارامترهای (گلبول سفید، گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، پلاکت) و میانگین حجم سلولی (آنالیز و بررسی شد. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارایه و با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس و تست توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج حاصل نشان داد که سیکلوفسفامید باعث آسیب رسانی بافت مغز استخوان می‌شود که در این صورت به طور قابل توجهی باعث کاهش تعداد گلبول‌ها و پلاکت‌های خون در گروه درمان شده با سیکلوفسفامید گردید ( $P < 0/001$ ). عصاره گل راعی اثرات بهبود دهنده معنی‌داری نسبت به گروه شاهد بر پارامترهای خون در موش‌های دریافت کننده سیکلوفسفامید نشان داد ( $P < 0/001$ ).

نتیجه‌گیری: عصاره گل راعی دارای ترکیب‌های فلاونوئیدی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که این مواد قادر هستند بافت مغز استخوان را در برابر داروهای شیمیایی محافظت کند. مصرف عصاره ی گل راعی به صورت وابسته به دوز دارای اثر محافظت‌کنندگی بر پارامترهای خون در موش‌های درمان شده با داروی سیکلوفسفامید می‌باشد.  
واژه‌های کلیدی: گل راعی، سیکلوفسفامید، پارامترهای خون، موش صحرایی

\* نویسنده مسئول: ناصر میرازی، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

Email: mirazi205@gmail.com

## مقدمه

محافظت کننده هر چه قدر از منابع طبیعی و گیاهان

دارویی تهیه شده باشند، مفیدتر خواهند بود (۵ و ۴).

گیاهان دارویی به طور گسترده در پیشگیری و درمان انواع اختلالات و بیماری‌ها استفاده می‌شوند. به دلیل سابقه بسیار طولانی کاربرد گیاهان دارویی در درمان بیماری‌ها، هر روز بر دانش بشر در شناسایی، مکانیسم‌های اثرگذاری، جداسازی مواد متشکله موجود در آنها و صنعتی نمودن ساخت داروهای گیاهی افزوده می‌گردد. یکی از گیاهانی که امروزه به دلیل خواص بی شمار آن، توجه بسیاری را به خود جلب کرده و تحقیقات زیادی بر روی آن انجام می‌گیرد، گل راعی (علف چای) می‌باشد. این گیاه در حال حاضر، یکی از پرمصرف‌ترین داروهای گیاهی در سراسر جهان می‌باشد (۶). گیاه گل راعی متعلق به خانواده Hypericaceae، از راسته Theales و با نام علمی *Hypericum Perforatum* L. بوده و یکی از پرکاربردترین گیاهان دارویی از گذشته تا به امروز می‌باشد. ترکیب‌های شیمیایی در عصاره این گیاه شناسایی شده‌اند که عبارتند از نفتودیانترون‌ها، فلاونوئیدها (۷)، پروآنتوسیانیدین‌ها، بیفلاوون‌ها، گزانتونها و فلوگلوکسینول‌ها (۸)، روغن‌های فرار، مشتقات اسید آمینه و فنیل پروپان‌ها، هیپرفورین و هایپرسیین (۹). استانداردهای و داروهای تهیه شده صنعتی از این گیاه بر اساس دو ماده هیپرسیین و پسودوهیپرسیین انجام می‌شود (۱۰). در حال حاضر *Hypericum Perforatum* بیشتر به عنوان یک گیاه مؤثر

امروزه بروز انواع تومورها در جوامع بشری به ویژه در مناطقی که زندگی صنعتی - ماشینی بیشتری رواج دارد در حال افزایش می‌باشد. شیمی‌درمانی یکی از روش‌های مقابله با کاهش و یا از بین بردن انواع سرطان می‌باشد (۱). یکی از داروهای مورد مصرف در روش شیمی‌درمانی داروی سیکلوفسفامید است. داروی سیکلوفسفامید با نام تجاری آندوکسان و یا سیتوفسفان نیز شناخته می‌شود. این دارو دارای عامل آلکیل کننده نیتروژن موسستارد از گروه Oxazaphosphinan است (۲). سیکلوفسفامید در رژیم‌های شیمی‌درمانی ترکیبی یا به تنهایی (منوتراپی) در درمان مواردی چون؛ لوسمی‌ها، لنفوم بدخیم، تومورهای بدخیم و تومور متاستاز دهنده و غیر متاستاز دهنده، بیماری‌های خود ایمنی پیش رونده، به عنوان درمان سرکوب‌گر ایمنی در پیوند اعضا، سرطان پروستات، سرطان سینه و رحم نقش عمده‌ای دارند (۳). از جمله عوارض جانبی سیکلوفسفامید بروز کم خونی، نوتروپنی، ترومبوسیتوپنی، تهوع و استفراغ، ایجاد تومورهای ثانویه و ایجاد اختلالات دستگاه تناسلی می‌باشد. هر چند استفاده از داروهای مربوط به شیمی‌درمانی در درمان سرطان‌ها اجتناب‌ناپذیر می‌باشد، ولیکن استفاده از مواد گیاهی و داروهای جانبی مکمل، جهت کاهش عوارض جانبی داروهای مورد مصرف در شیمی‌درمانی معقول می‌باشد. این قبیل ترکیب‌های

## روش بررسی

در این مطالعه تجربی تعداد ۴۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار و در محدوده وزنی  $25 \pm 22$  گرم از انستیتو پاستور تهران خریداری شد و به مدت ۱۰ روز در حیوان خانه دانشکده علوم پایه همدان در دمای  $22 \pm 23$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت  $65 \pm 55$  درصد و میزان نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) قرار داده و آب و غذا به طور آزادانه در اختیار حیوانات قرار داده شد تا با شرایط محیط عادت نمایند. موش‌ها به طور تصادفی در ۶ گروه ۷ سری شامل؛ گروه کنترل (دریافت کننده نرمال سالین)، گروه شاهد (دریافت کننده ی داروی سیکلوفسفامید، ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم)، گروه کنترل مثبت (دریافت کننده عصاره گل راعی، ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، گروه‌های تیمار ۲۰۱ و ۳ (دریافت کننده دوزهای متفاوت عصاره گل راعی به ترتیب ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، روزانه به مدت ۱۰ روز به همراه دریافت هم‌زمان داروی سیکلوفسفامید (۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. تمام آزمایش‌ها در طول روز و تمامی تزریقات به صورت داخل صفاقی انجام پذیرفت. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی و همچنین کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه بوعلی سینا انجام گرفت.

عصاره‌گیری در این مطالعه براساس منابع قبلی انجام شد (۱۴). بدین منظور گیاه گل راعی در اواسط فصل تابستان تهیه شد و شناسایی علمی آن به

بر افسردگی خفیف تا متوسط مطرح است. در سال ۲۰۰۱ کومار و همکاران بیان کردند که عصاره گونه خاصی از این گیاه در موش‌های صحرایی منجر به کاهش اضطراب می‌شود. مطالعه‌های اخیر در محیط آزمایشگاه حاکی از مهار آنزیم منو آمینواکسیداز (MAO) به وسیله ترکیب‌های موجود در عصاره این گیاه می‌باشد که اثر مهاری آن بر آنزیم نوع MAO-A بیشتر از آنزیم نوع MAO-B است (۱۱). گیاه گل راعی به دلیل داشتن مواد آنتی‌اکسیدان و ترکیب‌های فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی قادر است که در جلوگیری از برخی اختلالات در بسیاری از بافت‌ها از جمله 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 (۱۳ و ۱۲).

با توجه به اهمیت مطالعه در مورد راه‌های کاهش عوارض جانبی داروهای ضد سرطانی و بهبود کیفیت درمان آن و همچنین از آنجایی که تا کنون اثرات عصاره این گیاه در جلوگیری از عوارض کم خونی و اختلالات ایجاد شده بر برخی پارامترهای خون در صورت استفاده از داروی سیکلوفسفامید مطالعه‌ای انجام نشده است، هدف از این مطالعه بررسی اثرات اریتروپوئیک عصاره گل راعی در موش‌های صحرایی درمان شده با داروی سیکلوفسفامید بود.

قرمز (RBC)، گلبول سفید (WBC)، پلاکت (Plt)، هماتوکریت (Hct) و هموگلوبین (Hb) اندازه‌گیری شود.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون‌های آماری کولموگروف - اسمیرنوف، آنالیز واریانس یک طرفه، تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

### یافته‌ها

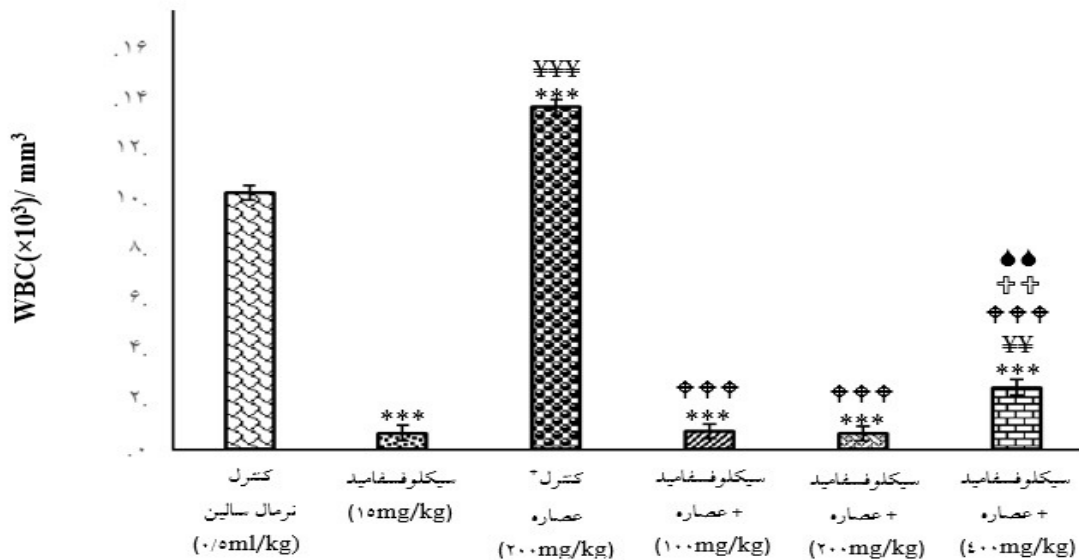
نتایج این آزمون نشان داد که داروی سیکلوفسفامید باعث کاهش معنی‌دار تعداد WBC در گروه‌های درمان شده با آن نسبت به گروه کنترل گردید ( $p < 0/001$ )، در حالی که گروه‌های تیمار شده با عصاره هیدروالکی گل راعی با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بازاء کیلوگرم وزن بدن افزایش معنی‌دار WBC را نسبت به گروه درمان شده با داروی سیکلوفسفامید به نمایش گذاشتند ( $p < 0/001$ ). علاوه بر این مصرف عصاره گل راعی در گروه کنترل مثبت سبب افزایش معنی‌دار گلبول‌های سفید نسبت به گروه کنترل گردید ( $p < 0/001$ ). عصاره گل راعی در گروه‌های تیمار (۱ و ۲) اثر معنی‌دار نشان نداد (نمودار ۱).

هم‌چنین سیکلوفسفامید کاهش معنی‌دار RBC را نسبت به گروه کنترل در پی داشته و عصاره گل راعی افزایش معنی‌دار تعداد RBC‌های خون را در گروه‌های تحت درمان با داروی سیکلوفسفامید نسبت به گروه شاهد را موجب شده است ( $p < 0/001$ ) (نمودار ۲). داروی سیکلوفسفامید باعث کاهش معنی‌دار Hb و Hct خون نسبت به گروه کنترل گردید ( $p < 0/001$ ). تیمار

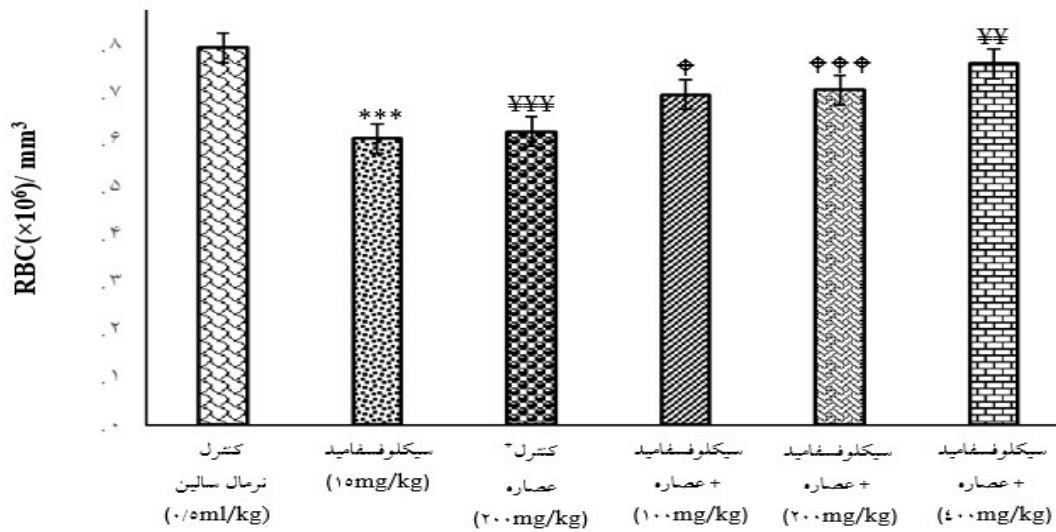
وسیله متخصص گیاه‌شناس مرکز تحقیقات کشاورزی استان همدان صورت گرفت. گیاه پس از خشک شدن به منظور جداسازی بهتر و مؤثرتر مواد فعال مؤثر موجود در آن، به وسیله آسیاب برقی به صورت پودر درآورده شد. پودر حاصل از گیاه گل راعی به وزن تقریبی ۴۰۰ گرم در داخل بشر ریخته شد و جهت جداسازی مواد مؤثر گیاه اتانول ۸۰ درصد به مقدار مناسب اضافه گردید. بعد از سپری شدن یک هفته محتویات بشر به وسیله کاغذ صافی و قیف شیشه‌ای صاف گردید. سپس محلول درون بالن ریخته شده و درد دستگاه روتاری، در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد با دور متوسط ۶۰ دور در دقیقه به منظور جداسازی حلال از عصاره قرار گرفت. پس از خروج حلال، مایع غلیظ نیمه جامد به دست آمده داخل پلیت شیشه‌ای قرار داده شد و به مدت ۲ روز زیر هود قرار داده شد. بعد از آن که عصاره کاملاً تغلیظ گردید جهت جلوگیری از ورود هوا در پلیت‌ها بسته شد و تا زمان مصرف در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از انجام آزمایش‌ها در گروه‌های مورد مطالعه از تمامی گروه‌های آزمایشی بعد از گذشت ۱۰ روز خون‌گیری مستقیم از قلب انجام شد. نمونه‌های خون در لوله‌های استریل حاوی ماده ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری و جهت انجام آزمایش بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردیدند. نمونه‌ها در دستگاه سل کانتر (مدل MS 9 - شرکت آلمان) جهت شمارش سلولی قرار گرفته تا پارامترهای خونی نظیر: گلبول

سیکلو فسفامید موجب کاهش معنی دار تعداد پلاکت در گروه‌های شاهد و تیمار شده با دوزهای کم، متوسط و زیاد نسبت به گروه کنترل گردید ( $p < 0.001$ ). دریافت عصاره گل راعی موجب افزایش تعداد پلاکت نسبت به گروه شاهد شد ( $p < 0.001$ )، در حالی که این افزایش تعداد نسبت به گروه کنترل فاقد معنی تلقی گردید. علاوه بر این عصاره گل راعی توانست اثرات افزایشی در تعداد پلاکت‌ها در گروه‌های تیمار شده با عصاره که با داروی سیکلو فسفامید درمان شده بودند داشته باشد. همچنین اثر فوق در گروه‌های تیمار با عصاره وابسته به دوز نشان داده شد ( $p < 0.001$ ) (نمودار ۵).

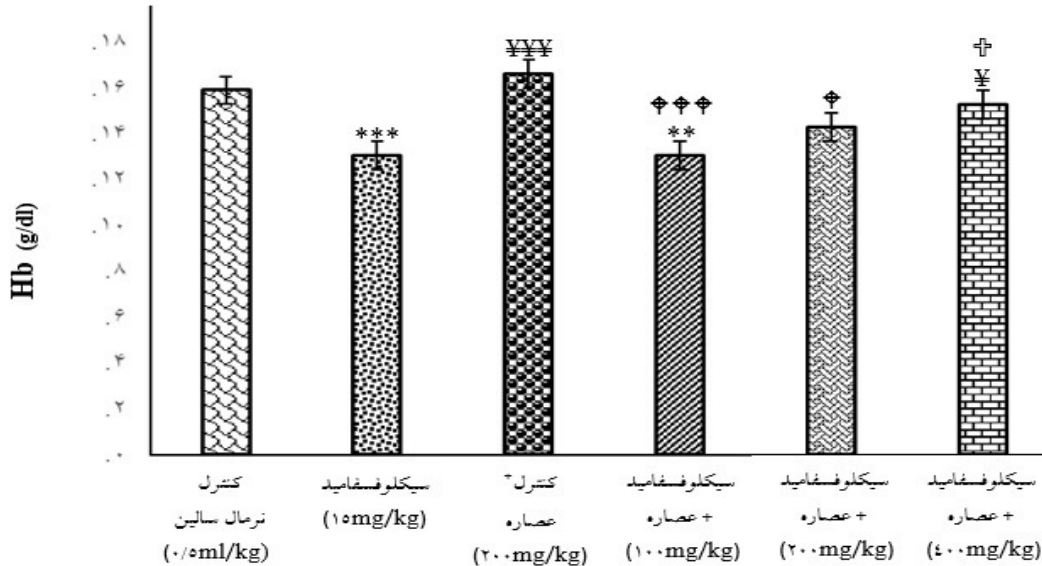
گروه‌های دریافت کننده سیکلو فسفامید با عصاره گل راعی توانست افزایش معنی‌داری را در میزان Hb خون نسبت به گروه‌های دریافت کننده سیکلو فسفامید نشان دهند (نمودار ۳).  
درمان موش‌ها با داروی سیکلو فسفامید موجب شده کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل در مقدار Hct خون ایجاد شود ( $p < 0.001$ ) (نمودار ۴).  
درمان موش‌ها با عصاره گل راعی با دوز متوسط اثر معنی‌داری در میزان هماتوکریت نداشت. همچنین گروه‌های درمان شده با داروی سیکلو فسفامید که با دوزهای کم، متوسط و زیاد عصاره گل راعی تیمار شده بودند مقدار هماتوکریت خون آنها نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان نداد و اثر عصاره در این گروه‌ها فاقد تأثیر معنی‌دار شد.



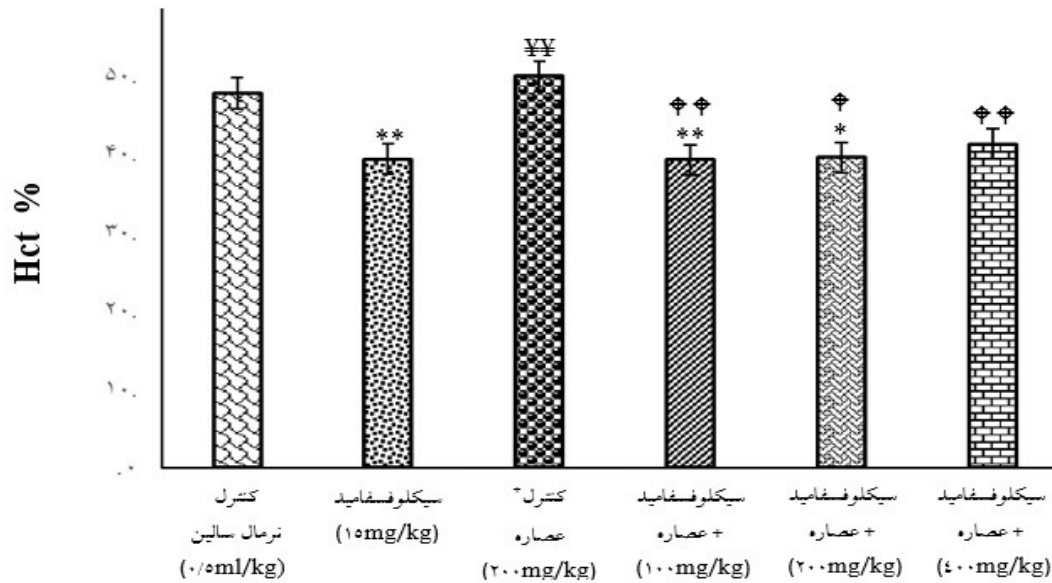
نمودار ۱: مقایسه داده‌های حاصل از شمارش گلبول‌های سفید در گروه‌های مورد آزمون. \* بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، † بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده سیکلو فسفامید، †† بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل + (دریافت کننده عصاره هیدروآلکی برگ گیاه راعی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ††† بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت کننده سیکلو فسفامید + دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (\*\*\*)، ††††: ( $p < 0.001$ ), †††††: ( $p < 0.0001$ ), ††††††: ( $p < 0.00001$ ), †††††††: ( $p < 0.000001$ ).



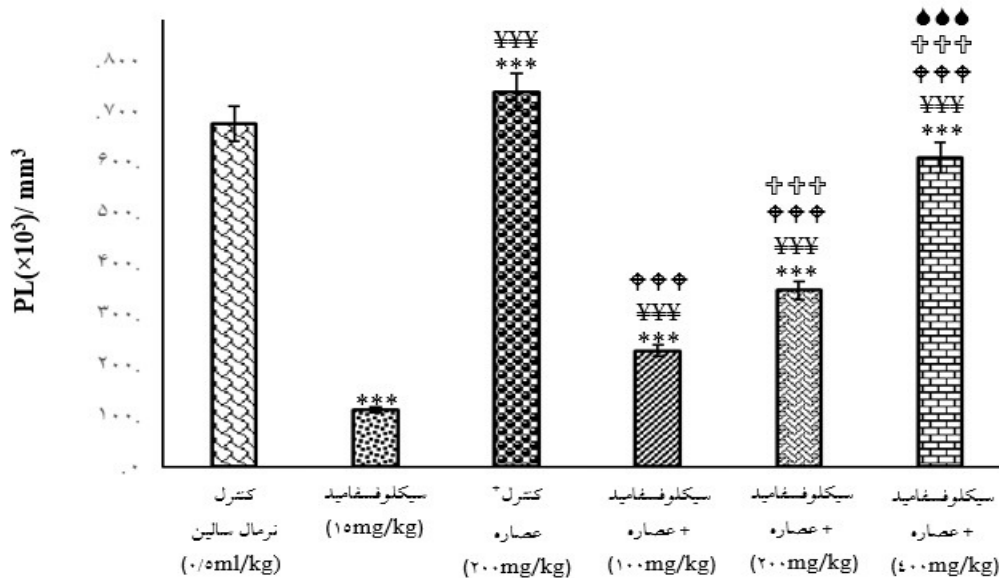
نمودار ۲: مقایسه داده‌های حاصل از شمارش گلبول‌های قرمز در گروه‌های مورد آزمون. \* بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، † بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت کننده سیکلو فسفامید †† بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل + (دریافت کننده عصاره هیدروالکی برگ گیاه راعی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (\*\*\* $p < 0.001$ ), ††† $p < 0.001$ , † $p < 0.05$ , †† $p < 0.01$ , †††† $p < 0.0001$ , ††††† $p < 0.00001$ , †††††† $p < 0.000001$ ).



نمودار ۳: مقایسه داده‌های حاصل از میزان Hb در گروه‌های مورد آزمون. \* بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، † بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت کننده سیکلو فسفامید †† بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل + (دریافت کننده عصاره هیدروالکی برگ گیاه راعی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ††† بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت کننده سیکلو فسفامید + دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (\*\* $p < 0.01$ ), (\*\*\*) $p < 0.001$ , ††††† $p < 0.00001$ , †††††† $p < 0.000001$ , ††††††† $p < 0.0000001$ , †††††††† $p < 0.00000001$ , ††††††††† $p < 0.000000001$ , †††††††††† $p < 0.0000000001$ ).



نمودار ۴: مقایسه داده‌های حاصل از میزان Hct در گروه‌های مورد آزمون. \* بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، † بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت کننده سیکلو فسفامید ‡ بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل + (دریافت کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه راعی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (♣♣: p<۰/۰۱) (♣: p<۰/۰۵) (†: p<۰/۰۵) (\*\*p<۰/۰۱) (\*p<۰/۰۵), p<YYY:۰/۰۰۱, (♣♣♣: p<۰/۰۰۱)



نمودار ۵: مقایسه داده‌های حاصل از شمارش پلاکت در گروه‌های مورد آزمون. \* بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، † بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت کننده سیکلو فسفامید ‡ بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل + (دریافت کننده عصاره هیدروالکلی برگ گیاه راعی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) †† بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت کننده سیکلو فسفامید + دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ††† بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه دریافت کننده سیکلو فسفامید + دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (\*\*p<۰/۰۰۱), (♣♣♣: p<۰/۰۰۱), (♣♣♣♣: p<۰/۰۰۰۱), (♣♣♣♣♣: p<۰/۰۰۰۰۱), (♣♣♣♣♣♣: p<۰/۰۰۰۰۰۱)

## بحث

سیکلو فسفامید به عنوان یکی از داروی‌های ضد نئوپلاسم‌ها در درمان برخی از تومورها کاربرد وسیعی دارد. این دارو دارای عوارض مختلفی از جمله تأثیر بر بافت خونساز می‌باشد. کم خونی و کاهش مقاومت بدن به دلیل کاهش تعداد گلبول‌های سفید با مصرف این دارو گزارش شده است (۱۵). گل راعی با دارا بودن انواع مختلفی از ترکیب‌های بیوشیمیایی از نوع ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی دارای اثرات محافظت‌کنندگی بر برخی از بافت‌های بدن می‌باشد (۱۶). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که عصاره هیدروالکلی گل راعی به صورت وابسته به دوز بر فاکتورهای خونی از جمله: تعداد گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها و همچنین میزان هموگلوبین خون مؤثر می‌باشد. ورتیک و همکاران گزارش نمودند که گیاه گزنه به دلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن باعث افزایش فاکتورهای خونی از جمله: گلبول‌های قرمز خون، میزان هموگلوبین و هماتوکریت می‌باشد (۱۷). خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه گل راعی نیز قبلاً گزارش گردیده است (۱۸). نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر هم سو با گزارش رایج شده به وسیله ورتیک و همکاران می‌باشد. احتمال دارد که افزایش تعداد گلبول‌های خون در اثر استفاده از عصاره گل راعی به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی آن باشد. مولینوکس و همکاران نشان دادند که سیکلو فسفامید اثرات تخریبی بر تکثیر سلول‌های اجدادی خون‌ساز اعمال می‌نماید. به نظر می‌رسد که

کاهش تعداد گلبول‌های قرمز خون در اثر اختلال در ساخته شدن سلول‌های اجدادی خونی به وسیله داروی سیکلو فسفامید صورت گرفته باشد (۱۹). نتایج این پژوهش همسو با مطالعه‌های انجام شده به وسیله مولینوکس می‌باشد. عصاره گل راعی توانست تعداد گلبول‌های قرمز را پس از دریافت سیکلو فسفامید به طور معنی‌داری افزایش دهد. احتمال می‌رود عصاره گل راعی با دوز به کار رفته در این پژوهش به دلیل داشتن ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی و سایر مواد مؤثر در روند خونسازی توانسته باشد باعث افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های قرمز خون نسبت به گروه کنترل گردد. این نتایج با مطالعه‌های قبلی که نشان دادند که عصاره گل راعی دارای اثرات محافظت‌کنندگی و ممانعت‌کنندگی از روند رشد سلول‌های سرطانی می‌باشد مطابقت دارد. اثر داروی سیکلو فسفامید موجب شد که تعداد WBC در موش‌های صحرایی با اختلاف معنی‌داری کاهش پیدا کند. این نتیجه با مطالعه‌های قبلی انجام شده در زمینه کاهش گلبول‌های سفید به وسیله داروی سیکلو فسفامید مطابقت دارد (۲۰).

به نظر می‌رسد که داروی سیکلو فسفامید نه تنها از تکثیر سلول‌های سرطانی با مکانیسم آلکیلاسیون ملکول DNA می‌کاهد، بلکه در بافت خونساز نیز که تکثیر سلول‌های اجدادی با استفاده از مکانیسم مذکور صورت می‌گیرد مداخله نموده و موجب کاهش تعداد سلول‌های اجدادی گردد. اثر عصاره گل راعی با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در



مطالعه‌های قبلی که اثرات محافظت‌کنندگی و ممانعت‌کنندگی از روند رشد سلول‌های سرطانی به وسیله عصاره گیاه گل راعی را گزارش کردند مطابقت دارد (۲۳ و ۲۴).

به نظر می‌رسد تأثیر عصاره گل راعی در روند ساخته شدن WBC ها بیشتر از ساخته شدن RBC باشد. با توجه به نتایج آزمایش‌های انجام شده به وسیله این پژوهش و تحقیق‌های صورت گرفته به وسیله مولینوکس و همکاران (۱۹)، سیکلوفسفامید یکی از داروهای مؤثر در کاهش تعداد پلاکت‌های خون می‌باشد. این احتمال وجود دارد که عصاره گل راعی به ویژه با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بازاء کیلوگرم وزن بدن افزایش دهنده مؤثر تعداد پلاکت‌های خون باشد. احتمال می‌رود که عصاره گل راعی توانسته باشد بر مگاکاریوبلاست‌های مسئول ساخته شدن پلاکت‌ها به وسیله سلول‌های اجدادی مغز استخوان با کمک IL-6 و GM-CSF اعمال اثر نماید. هر چند در این آزمایش‌ها موانعی نظیر کوتاه بودن طول مدت آزمون، عدم تعیین مقادیر هورمون اریتروپوئیتین و سایر فاکتورهای مؤثر بر روند خونسازی و پرهزینه بودن انجام برخی از آزمایش‌های تخصصی هماتولوژیک همراه بود و این امر محدودیت‌های تورش در این آزمون را سبب می‌شد، اما در عین حال نتایج آن بیانگر این واقعیت بود که عصاره گل راعی قادر است به طور کلی بر روند خونسازی در موش‌های درمان شده با داروی سیکلوفسفامید تا حد قابل قبولی تأثیرگذار باشد. جهت بررسی کامل‌تر اثرات عصاره گل راعی

روند خونسازی نسبت به گروه کنترل با شدت بسیار زیادی معنی‌دار بود. این اثر با نتایج حاصل از مطالعه‌های اصغری اهری و همکاران که اثر عصاره گل راعی را در روند التیام زخم نشان دهنده تولید وضخامت بافت شاخی، تولید گلبول‌های سفید خون و میزان فیبروپلازی بود همسویی نشان می‌دهد (۲۱). این اثر امکان دارد که با مکانیسم تحریک روند لکوسیتوز در بافت‌های خونساز از طریق فعال کردن سنتز سایتوکاین‌ها و برخی اینترلوکین‌های درگیر در روند 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 می‌کردند نتایج نشان داد که این تأثیر نسبت به گروه کنترل معنی‌دار 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 می‌باشد که تأثیر دارو در مدت زمان کوتاهی رخ می‌دهد، در حالی که روند خونسازی امری است که زمان طولانی‌تری را نیاز دارد. به نظر می‌رسد عصاره گل راعی قادر باشد در سنتز اریتروپوئیتین که به وسیله کلیه‌ها صورت می‌گیرد اثر خود را اعمال نماید. چرا که ساخته شدن اریتروپوئیتین جدید چندین روز زمان نیاز دارد (۲۲). 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

پیشنهاد می‌شود که در مطالعه‌های بعدی آزمون‌های تکمیلی بیشتری به عمل آید تا نتایج قابل قبول‌تری در این خصوص ارایه گردد.

### نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که عصاره گل راعی دارای ترکیب‌های شیمیایی نظیر آنتی‌اکسیدان‌ها و فلاونوئیدی خاصی می‌باشد که قادر است در موش‌های مبتلا به کم‌خونی ناشی از تجویز سیکلوفسفامید، باعث افزایش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، پلاکت‌ها، هماتوکریت و هموگلوبین خون گردد. عصاره هیدروالکلی گیاه گل راعی ممکن است به عنوان یک عامل درمانی مکمل در پیشگیری از عوارض شیمی درمانی در بیماران سرطانی مورد استفاده قرار گیرد.

### تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پروژه پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی جانوری دانشکده علوم پایه دانشگاه بوعلی سینا همدان می‌باشد که با حمایت مالی آن دانشگاه به انجام رسیده است.

## REFERENCES:

1. Logo DL, Kasper DL, Jameson JL, Fauci AS, Hauser SL, Loscalzo J. Harrison principles of internal medicine . 18<sup>th</sup> ed. United States: McGraw –Hill; 2012; 475-84.
2. Takimoto CH, Calvo E. Principles of oncologic pharmacotherapy. 9<sup>th</sup> ed. In: Pazdur R, Coia LR, Hoskins WJ9(editors). Cancer Management: A Multidisciplinary Approach; 2005; 23–42.
3. Nelius T, Klatter T, 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): 363–7.
4. Lansky EP, Newman RA, Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J Ethnopharmacol* 2007; 109: 177-206.
5. Wang L, Alcon A, Yuan H, HO J, Li QJ, Martins-Green M. Cellular and molecular mechanisms of pomegranate juice-induced anti –metastatic effect on prostate cancer cells. *Integr Biol (Camb)* 2011; 3: 742-54.
6. Mašković PZ, Mladenović JD, Cvijović MS, Aćamović-Đoković G, Solujić SR, Radojković MM. Phenolic content, antioxidant and antifungal activities of acetonetic, ethanolic and petroleum ether extracts of *Hypericum perforatum* L. *Hem Ind* 2011; 65(2): 159-64.
7. Soper DE. Gentiourinary infectious and sexually transmitted diseases. In: Berek JS. Berek & Novak's gynecology. 15<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2012: 557-73.
8. McLean NW, Rosentein IJ. Characterisation and selection of a lactobacillus species to re-colonise the vagina of women with recurrent bacterial vaginosis. *J Med Microbiol* 2000; 49(6): 543-52.
9. Wiesenfeld HC, Hillier SL, Krohn MA, Landers DV, Sweet RL. Bacterial vaginosis is a strong predictor of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infection. *Clin Infect Dis* 2003; 36(5): 663-8.
10. Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. St John's wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. *J Pharm Pharmacol* 2001; 53(5): 583-600.
11. Akhondzadeh S, Noroozian M, Mohammadi M. *Salvia officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: A double blind, randomized and placebo-controlled trial. *J Clin Pharm Ther* 2003; 28(1): 53-9.
12. Simsek N, Karadeniz A, Bayraktaroglu AG, Alev G. Effects of L-carnitine, Royal jelly and pomegranate seed on peripheral blood cells in rat. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi* 2009; 15: 63-9.
13. Jakson D. Herbomineral formulation for treating sickle cell disease. United States patent Application 2010; 13: 761-920.
14. 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): 377-86
15. Duggina P, Kalla CM, Varikasuvu SR, Bukke S, Tartte V. Protective effect of centella triterpene saponins against cyclophosphamide-induced immune and hepatic system dysfunction in rats: its possible mechanisms of action. *J Physiol Biochem* 2015; 71(3): 435-54.
16. Ghosian Moghaddam MH, Roghani M, Maleki M. Effect of *Hypericum perforatum* aqueous extracts on serum lipids aminotransferases, and lipid peroxidation in Hyperlipidemic Rats. *Res Cardiovasc Med* 2016; 5(2): doi: 10.5812/cardiovascmed.31326.
17. 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: 128-35.
18. Silva BA, Ferreres F, Malva JO, Dias AC. Phytochemical and antioxidant characterization of *Hypericum perforatum* alcoholic extracts. *Food Chem* 2005; 90: 157 – 67.
19. Molyneux G, Andrews M, Sones W, York M, Barnett A, Quirk E, 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.
20. Prodan I. Testing of antitumor effects of *Hypericum perforatum* L. and *Hypericum maculatum* C. in ehrlich ascite in swiss mice. *Bull Univ Agric Sci Vet Med* 2002; 67(1): 28-32.
21. Kolb J, Kirschner W, Riedel H, Wirtz M. Cyclophosphamide pulse therapy in idiopathic pulmonaryfibrosis. *European Respiratory Journal Eur Respir J* 1998; 12: 1409–14.

22. Asgharieh ahari M , Farahpor M. Histopathological effects of extract of aerial parts Hypericum flowers on healing full thickness skin lesion in experimental mice. Journal of veterinary clinical research, 2014; (4):177-178.
23. Guyton AC, Hall JE. Text book of medical physiology . 12<sup>th</sup> ed. China: Saunders; 2010; 413-22.
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.

# The Effect of Hydro-alcoholic Extract of *Hypericum Perforatum*L. on Some Blood Parameters in Male Rats Treated with Cyclophosphamide

Yaghobi L, Mirazi N\*

Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Received: 11 Jul 2015 Accepted: 23 Apr 2016

## Abstract

**Background & aim:** Cyclophosphamide is an anti cancer drug which causes alkylation of DNA in cells. The side effects of cyclophosphamide are bone marrow damages and anemia. *Hypericum perforatum* is a medicinal plant which widely used in traditional medicine. In this study the hemotopoetic effect of *Hypericum perforatum* leaf extract (HPE) on bone marrow function and blood parameters in male rat were treated with cyclophosphamide was investigated.

**Methods:** Forty two male Wistar rats with an average body weight of  $220 \pm 25$  gr were randomly divided into 6 groups (n=7): control group taking normal saline, 0.5ml/day, i.p), witness group taking cyclophosphamide (15mg/kg/day, i.p.), positive control group taking HPE (200mg/kg, i.p/day), treated groups 1, 2 and 3 recieved cyclophosphamide ,(15mg/kg/day, i.p. + 100mg/Kg, 200mg/Kg and 400mg/kg HPE /day for 10 days, i.p). At the end of study blood samples were collected from heart directly. RBC, WBC, Hct, Hb and PL were meseasured. Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation and were analyzed using ANOVA and Tukey tests.

**Results:** The results indicated that cyclophosphamide caused damage on bone marrow, which in this case significantly reduced the number of blood cells and platelets in the group treated with cyclophosphamide ( $P < 0.001$ ). Blood parameters in the groups treated with HPE increased significantly compared with the group which received cyclophosphamide alone ( $P < 0.001$ ).

**Conclusion:** The *Hypericum perforatum* hydoethanolic extract contains antioxidant and flavonoids compounds which could protect the bone marrow tissues against cyclophosphamide.

**Keywords:** *Hypericum perforatum*, Blood parameters, Cyclophosphamide, Rat

---

**Corresponding Author:** Mirazi N, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran  
**Email:** mirazi205@gmail.com

## Please cite this article as follows:

Yaghobi L, Mirazi N. The Effect of Hydro-alcoholic Extract of *Hypericum Perforatum*L. on Some Blood Parameters in Male Rats Treated with Cyclophosphamide. *Armaghane-danesh* 2016; 21 (1): 135-147.