مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۰، شماره۲، اردیبهشت ۱۳۹۴(شماره پی در پی۹۷)

تأثیر عصاره هیدرواتانولی پوست انار (*Punica granatum*) بر تغییرات پارامترهای خونی در موش سوری نر درمان شده با داروی ایرینوتکان هیدروکلراید

ناصر میرازی[۱*]، شیما نصرتی[۲]، عبدالکریم حسینی[۳]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا ، همدان، ایران، [۲] گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران، [۳] گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۳/۹/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۲۴

چکیده

زمینه و هدف: داروی ایرینوتکان هیدروکلراید یکی از داروهای انتخابی در درمان گروهی از نئوپلاسم‌های بدخیم می‌باشد. از جمله عوارض مهم آن تأثیر در روند خون‌سازی و کاهش هموگلوبین خون می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر اریتروپوئتیک عصاره ی میوه ی انار در موش‌های سوری نر درمان شده با داروی ایرینوتکان هیدروکلراید بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی تعداد ۴۹ سر موش سوری نر بالغ به طور تصادفی هفت گروه شامل؛ گروه کنترل، شم، دریافت کننده داروی ایرینوتکان (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دریافت کننده عصاره انار (۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دریافت کننده‌ی داروی ایرینوتکان به علاوه عصاره انار (۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) روزانه به مدت یک هفته تقسیم شدند. برای القای کم خونی در گروه‌های مورد مطالعه از داروی ایرینوتکان استفاده شد. در پایان آزمایش نمونه‌های خون به روش مستقیم داخل بطنی جمع‌آوری و پارامترهای خونی اندازه‌گیری شد. داده‌ها با آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: داروی ایرینوتکان بر فاکتورهای خونی اثر گذاشته و باعث کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل شد ($p<۰/۰۰۱$). هم‌چنین گروه‌های دریافت کننده عصاره انار توانستند به طور معنی‌داری از اثرات تخریبی داروی ایرینوتکان جلوگیری کرده و باعث افزایش فاکتورهای خونی شوند($p<۰/۰۰۱$). گروه دریافت کننده داروی ایرینوتکان (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با اثر بر روی تعداد WBC باعث کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل شد ($p<۰/۰۰۱$). داروی ایرینوتکان بر سطح Hb خون تأثیر گذاشته است و موجب کاهش معنی دار آن گردید. گروه‌های دریافت کننده عصاره انار (۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با اثر مثبت بر روی سطح Hb خون باعث افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل شدند($p<۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: مصرف عصاره میوهٔ انار به صورت وابسته به دوز دارای اثر محافظت کنندگی بر روی پارامترهای خونی در موش‌های درمان شده با داروی ایرینوتکان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: کم خونی، ایرینوتکان هیدروکلراید، موش سوری، عصاره پوست انار

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

Email: mirazi@basu.ac.ir

مقدمه

یکی از روش‌های مقابله با کاهش و یا از بین بردن انواع سرطان، استفاده از داروهای شیمیایی و یا به عبارتی شیمی‌درمانی می‌باشد(۱). یکی از داروهای مورد مصرف در روش شیمی درمانی داروی ایرینوتکان هیدروکلراید است. داروی ایرینوتکان هیدروکلراید با نام تجاری Campto یا CPT-11، جزء دسته دارویی ضد نئوپلاسم می‌باشد(۲). این دارو در درمان سرطان‌های کولورکتال مقاوم به درمان‌های استاندارد(۳)، درمان تومورهای ریه(۴)، تخمدان(۵)، لنفوم بدخیم(۶) و سرطان لوزالمعده(۷) استفاده می‌شود. عوارض جانبی آن کم خونی(۷ و ۵)، نوتروپنی، ترومبوسیتوپنی(۵)، تهوع و استفراغ(۳) می‌باشد که با مصرف این دارو گزارش شده است. هر چند استفاده از داروهای مربوط به شیمی‌درمانی در درمان سرطان‌ها اجتناب ناپذیر می‌باشد، ولیکن استفاده از مواد گیاهی و داروهای جانبی مکمل جهت کاهش عوارض جانبی داروهای مورد مصرف در شیمی‌درمانی معقول می‌باشد. این قبیل ترکیب‌ها محافظت کننده هر چه قدر از منابع طبیعی و گیاهان دارویی تهیه شده باشند، مفید تر خواهند بود(۹ و۸). 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 اثرگذاری، جداسازی مواد متشکله موجود در آن‌ها و صنعتی نمودن ساخت داروهای گیاهی افزوده می‌گردد. یکی از مشهورترین این گیاهان انار می‌باشد که در درمان کم خونی‌ها و ناهنجاری‌های خونی کاربرد دارد(۱۱ و ۱۰).

گیاه انار(*Punica granatum*) متعلق به خانواده پونیکاسه(Punicacea)، یکی از قدیمی‌ترین میوه‌های خوراکی محسوب می‌شود(۱۲). ترکیب بیوشیمیایی منحصر به فرد میوه انار سرشار از آنتی‌اکسیدان تانن و فلاونوئیدها به تازگی توجه بسیاری از محققان را به مطالعه کیفیت استثنایی درمانی آن جلب کرده است. تحقیق‌ها در سال‌های اخیر به وسیله ادهمی و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان داده است که مصرف خوراکی عصاره انار، سبب مهار رشد تومورهای ریه، پوست، روده بزرگ و پروستات می‌شود(۱۳). خاصیت آنتی اکسیدانی انار و هم‌چنین خواص ضدتوموری آن از جمله فواید این میوه به شمار می‌روند که توجه محققان در سراسر دنیا را به خود جلب کرده‌اند(۱۴). سیسمیک و همکاران با بررسی اثرات فیزیولوژیکی کارنیتین موجود در انار و هم‌چنین عصاره دانه انار بر سلول‌های خونی در موش صحرایی نشان دادند که عملکرد کارنیتین و عصاره دانه انار در افزایش تعداد اریتروسیت و قطر آن‌ها مؤثر است(۱۰). در مطالعه دیگری جکسون و همکاران در سال ۲۰۱۰ به بررسی فرمولاسیون مواد معدنی موجود در گیاه برای درمان بیماری گلبول قرمز داسی شکل پرداختند و نشان دادند که بیماران درمان شده با ترکیب عصاره انار تسکین بسیاری از علایم شدید بیماری سلول داسی شکل و کم خونی داسی شکل و بهبود عالی در کیفیت زندگی را داشتند (۱۵). گیاه انار به دلیل داشتن مواد

آنتی‌اکسیدان و ترکیبات 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 انار در بسیاری از بافت‌ها به خصوص بافت خون سبب افزایش و سرعت در تکثیر سلول‌ها می‌گردد(۱۵ و ۱۰).

با توجه به اهمیت مطالعه در مورد راه های کاهش عوارض جانبی داروهای ضد سرطانی و بهبود کیفیت درمان در این مطالعه اثرات اریتروپوئتیک عصارهٔ پوست انار در موش‌های سوری نر درمان شده با داروی ایرینوتکان هیدروکلراید مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی تعداد ۴۹ سر موش سوری نر بالغ نژاد ویستار را از انستیتو پاستور تهران تهیه شد و به مدت ۲ هفته در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی 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 قرار داده شد تا به وزن دلخواه حدود ۲۵-۳۰ گرم برسند. موش‌ها به طور تصادفی در ۷ گروه متفاوت شامل؛ گروه اول کنترل بدون دریافت هیچ گونه دارو، گروه دوم شم دریافت کننده نرمال سالین، گروه سوم دریافت کننده داروی ایرینوتکان هیدروکلراید(۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (Activis, Italia)، گروه چهارم و پنجم دریافت کننده عصاره انار(۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، روزانه به مدت یک هفته)، گروه ششم و هفتم دریافت کننده داروی ایرینوتکان به علاوه عصاره انار(۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، روزانه به مدت یک هفته) در قفس‌هایی جداگانه و استاندارد قرار داده شدند. تمام آزمایش‌ها در طول روز و تمامی تزریقات به صورت داخل صفاقی و حجم ۰/۳ میلی‌لیتر انجام شد. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی و همچنین کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام گردید.

فرآیند عصاره‌گیری در این مطالعه بر اساس منابع قبلی انجام شد (۱۶)، بدین منظور میوه انار در اواسط فصل پاییز تهیه شد. سپس جهت شناسایی علمی به وسیله متخصص گیاه‌شناس مرکز تحقیقات کشاورزی استان همدان ارسال گردید. مقدار ۵ کیلوگرم انار تهیه و پس از شستشو، پوست آن خرد شده و به قطعات کوچکی تقسیم شدند. سپس به ازای هر یک کیلو سه برابر حجم اتانول اضافه گردید. اتانول مورد مصرف ابتدا رقیق گردید؛ بدین صورت که به ازای هر ۴۴ سی سی اتانول ۹۶ درصد، ۴۶ سی‌سی آب مقطر اضافه کرده و به مدت دو هفته محلول را در دمای اتاق قرار داده تا کاملاً عصاره انار از آن خارج گردیده و محلول همگنی به دست آید. بعد از دو هفته محلول‌ها به وسیله پارچه توری با منافذ ریز و در مرحله بعد به وسیله کاغذ صافی صاف شدند. سپس عصاره حاصل در ارلن ۵۰۰ سی‌سی

ریخته شد و در دستگاه روتاری(Heidolph, Germany ,LABOROTA 4001=efficient) با قابلیت تبخیر قرار گرفت. عصاره خالص به دست آمده را داخل پلیت ریخته و در هوای آزاد آزمایشگاه به همراه پوششی پارچه‌ای نازک به صورت در باز قرار داده تا کاملاً تغلیظ و خشک 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 سفیدخون(WBC)، سطح هموگلوبین خون (Hb) و همچنین درصد هماتوکریت خون(Hct) ناشی از اثرات مخرب داروی ایرینوتکان در موش سوری نر اندازه‌گیری شدند. چون داروی ایرینوتکان طی یک انفوزین یک بار در هفته تجویز می‌شود، بدین منظور تمامی گروه‌های آزمایشی بعد از گذشت یک هفته مورد آزمایش خون‌گیری قرار گرفتند(۱۷). خون‌گیری به صورت روش مستقیم داخل بطنی انجام شد. نمونه‌های خون در لوله‌های استریل حاوی ماده ضد انعقادی EDTA جمع‌آوری و جهت انجام آزمایش بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردیدند. نمونه‌ها در دستگاه اتو آنالایزر(MICROS 60، مدل OT72414 306) جهت شمارش سلولی قرار گرفته تا اندیس‌های خونی RBC، WBC، HCT و Hb اندازه‌گیری شود.

بررسی آماری یافته های این مطالعه با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام پذیرفت. 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 ارایه گردید. در بخش آمار استنباطی ابتدا با استفاده از آزمون کولموگروف ـ 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 $p<0/05$، 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 محاسبه های آماری استفاده گردید. نتایج نشان داد که عصاره انار و همچنین داروی ایرینوتکان بر تعداد RBC اثر گذاشته است. گروه شم (دریافت کننده نرمال سالین) اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل از خود نشان نداد ($p>0/05$). گروه دریافت کننده داروی ایرینوتکان (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با اثر بر روی تعداد RBC باعث کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل شد ($p<0/001$). گروه‌های دریافت کننده عصاره انار (۱۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) با اثر مثبت بر روی تعداد RBC باعث افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل شدند($p<0/001$)، این اختلاف همچنین در بین گروه‌های دریافت کننده توأم داروی ایرینوتکان و

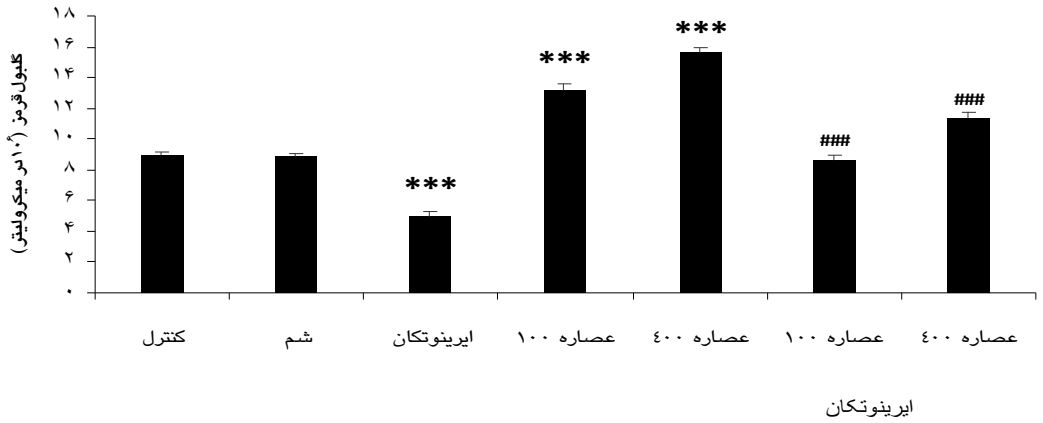
عصاره انار (۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه ایرینوتکان نیز مشاهده شد(p<۰/۰۰۱)(نمودار۱).

با توجه به نتایج عصاره انار و همچنین داروی ایرینوتکان بر تعداد WBC اثر گذاشته است. گروه شم (دریافت کننده نرمال سالین) اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل از نظر تعداد WBC از خود نشان نداد (p>۰/۰۵). گروه دریافت کننده داروی ایرینوتکان (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با اثر بر روی تعداد WBC باعث کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل شد (p<۰/۰۰۱). گروه دریافت کننده عصاره انار(۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با اثر مثبت بر روی تعداد WBC باعث افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل شد (p<۰/۰۵)، اما گروه دریافت کننده عصاره انار (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با این که اثر مثبتی در افزایش تعداد WBC نسبت به گروه کنترل داشت، اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود(p>۰/۰۵). هم‌چنین اختلاف معنی‌داری نیز در بین گروه‌های دریافت کننده توأم داروی ایرینوتکان و عصاره انار (۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه ایرینوتکان نیز مشاهده شد(p<۰/۰۵ و p<۰/۰۰۱، به ترتیب)(نمودار ۲).

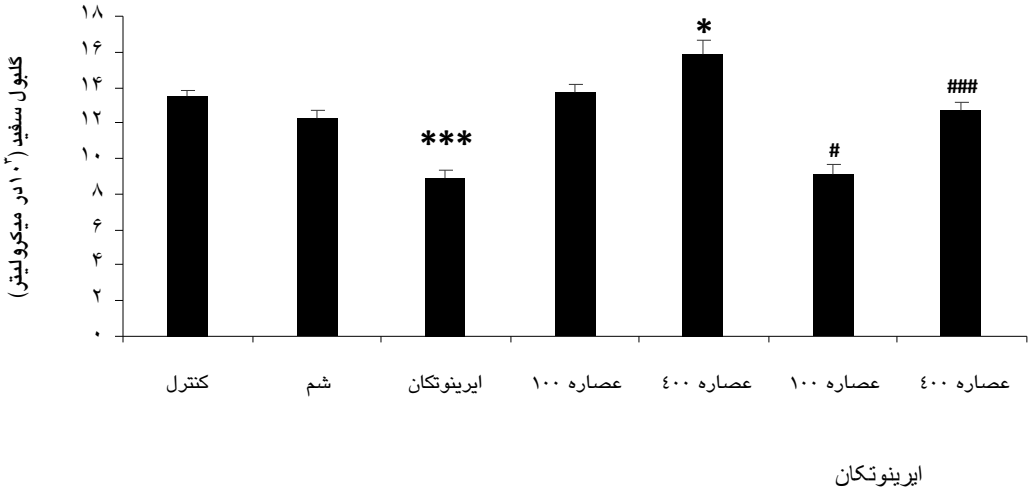
مقایسه گروه‌های مختلف آزمایشی نشان می‌دهد که عصاره انار و هم‌چنین داروی ایرینوتکان بر سطح Hb خون تأثیر گذاشته است. گروه شم(دریافت کننده نرمال سالین) اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل از خود نشان نداد(p>۰/۰۵). گروه دریافت کننده داروی ایرینوتکان (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با اثر بر روی سطح Hb خون باعث کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل شد (p<۰/۰۰۱). گروه‌های دریافت کننده عصاره انار (۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با اثر مثبت بر روی سطح Hb خون باعث افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل شدند(p<۰/۰۰۱). هم‌چنین اختلاف معنی‌داری نیز در بین گروه دریافت کننده توأم داروی ایرینوتکان و عصاره انار (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه ایرینوتکان نیز مشاهده شد(p<۰/۰۵)، در حالی که گروه دریافت کننده عصاره انار(۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با این که اثر مثبتی در افزایش سطح Hb خون نسبت به گروه ایرینوتکان داشت، اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود(p>۰/۰۵) (نمودار ۳).

عصاره انار و هم‌چنین داروی ایرینوتکان بر روی درصد Hct خون در بین گروه‌های مختلف آزمایشی دارای اثر است و همان‌گونه که نشان داده شده گروه شم (دریافت کننده نرمال سالین) اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل از خود نشان نداد (p>۰/۰۵). گروه دریافت کننده داروی ایرینوتکان (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با اثر بر روی درصد Hct خون باعث کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل شد(p<۰/۰۰۱). گروه دریافت کننده عصاره انار (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با اثر مثبت بر روی درصد Hct خون باعث افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل شد (p<۰/۰۰۱)، اما گروه دریافت کننده عصاره انار

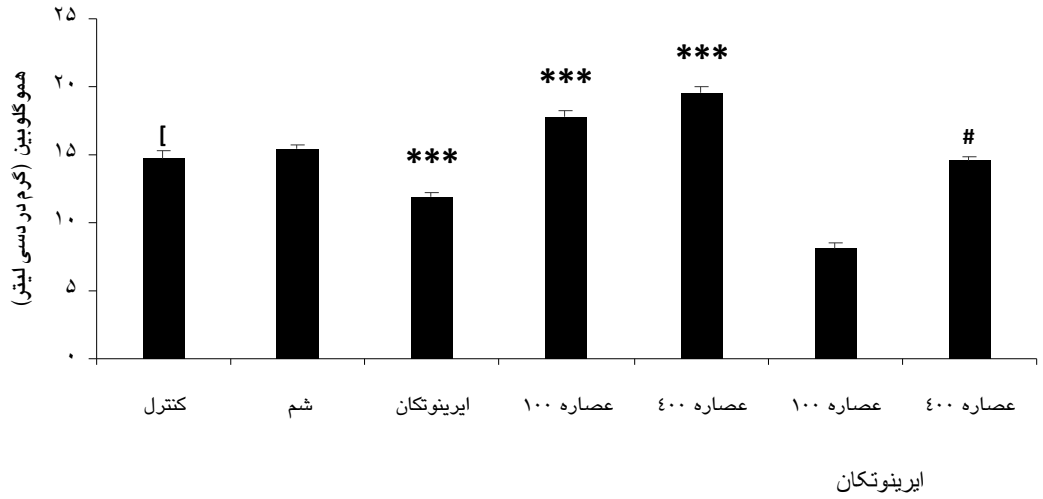
(۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با این که اثر مثبتی در افزایش درصد Hct خون نسبت به گروه کنترل داشت، اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود($p>0/05$). هم‌چنین اختلاف معنی‌داری نیز در بین گروه دریافت کننده توأم داروی ایرینوتکان و عصاره انار (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه ایرینوتکان نیز مشاهده شد($p<0/001$)، در حالی که گروه دریافت کننده عصاره انار (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با این که اثر مثبتی در افزایش درصد Hct خون نسبت به گروه ایرینوتکان داشت، اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود($p>0/05$) (نمودار ۴).



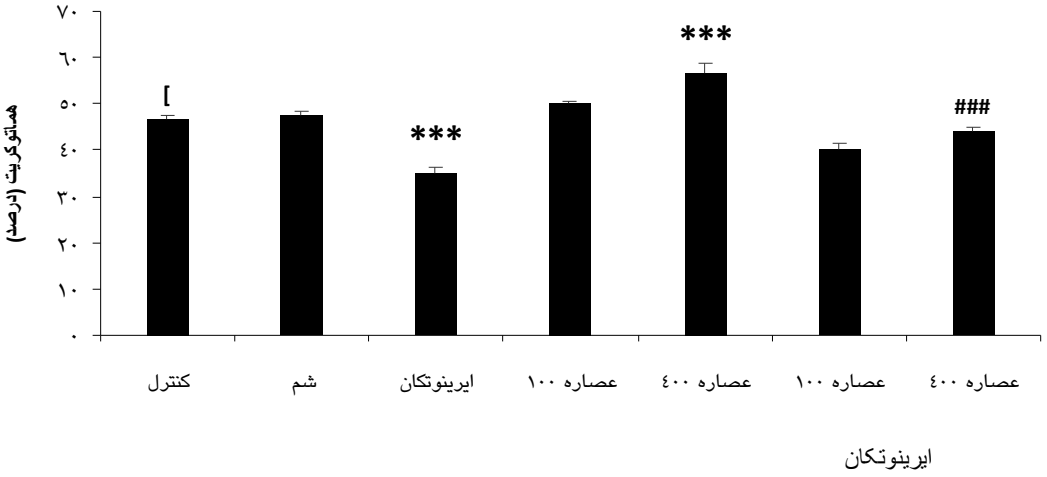
نمودار۱: مقایسه اثر عصاره میوه انار (۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و داروی ایرینوتکان هیدروکلراید(۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر تعداد گلبول‌های قرمز خون(RBC) موش سوری نر. مقادیر بیانگر میانگین ± خطای معیار مربوط به موش سوری نر نژاد بالب ـ سی است.
*بیانگر معنی‌داری گروه‌ها نسبت به گروه کنترل و # بیانگر معناداری گروه ها نسبت به گروه ایرینوتکان است ($p<0/001$***، $p<0/001$###).



نمودار ۲: مقایسه اثر عصاره میوه انار (۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و داروی ایرینوتکان هیدروکلراید(۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر تعداد گلبول‌های سفید خون(WBC) موش سوری نر. مقادیر بیانگر میانگین ± خطای معیار مربوط به موش سوری نر نژاد بالب ـ سی است.
بیانگر معنی‌داری گروه‌ها نسبت به گروه کنترل و # بیانگر معناداری گروه ها نسبت به گروه ایرینوتکان است. ($p<0/05$، $p<0/001$***، $p<0/05$#، $p<0/001$###).



نمودار۳: مقایسه اثر عصاره میوه انار (۱۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و داروی ایرینوتکان هیدروکلراید (۱۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) بر سطح هموگلوبین (Hb) خون موش سوری نر. مقادیر بیانگر میانگین ± خطای معیار مربوط به موش سوری نر نژاد بالب سی است. * بیانگر معنی‌داری گروه ها نسبت به گروه کنترل و # بیانگر معنی‌داری گروه ها نسبت به گروه ایرینوتکان است. (p<۰/۰۰۱***، p<۰/۰۵#).



نمودار ۴: مقایسه اثر عصاره میوه انار (۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و داروی ایرینوتکان هیدروکلراید (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر درصد هماتوکریت (Hct) خون موش سوری نر. مقادیر بیانگر میانگین ± خطای معیار مربوط به موش سوری نر نژاد بالب سی است. * بیانگر معنی‌داری گروه‌ها نسبت به گروه کنترل و # بیانگر معنی‌داری گروه‌ها نسبت به گروه ایرینوتکان است(p<۰/۰۰۱***، p<۰/۰۰۱###).

بحث

در این بررسی که به منظور مطالعه اثرات عصاره هیدروالکلی میوه انار بر تغییرات برخی از پارامترهای خونی نظیر؛ تعداد گلبول‌های قرمز خون (RBC)، گلبول‌های سفید خون(WBC)، سطح هموگلوبین خون(Hb) و هم‌چنین درصد هماتوکریت خون(Hct) که

متعاقب مصرف داروی ایرینوتکان هیدروکلراید در خون موش‌های سوری نربالغ ایجاد می‌گردد، طراحی گردید. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که عصاره انار به صورت وابسته به دوز بر فاکتورهای خونی از جمله؛ گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و میزان هموگلوبین خون مؤثر باشد. نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر در همراهی با گزارش ارایه شده به وسیله مدرسی و همکاران (۱۸) می‌باشد که اثر گیاه قاصدک را بر تعداد سلول‌های خونی بررسی کردند که در آن نشان داده شد که عصاره هیدروالکلی قاصدک به صورت وابسته به دوز بر فاکتورهای خونی از جمله؛ گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و میزان هموگلوبین خون مؤثر بود. گروه شم هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری را با گروه کنترل نشان ندادند. این امر بیان کننده آن است که استرس تزریق دارو فاقد اثر در تعداد RBCها و بقیه پارامترهای خونی می‌باشد. اثر داروی ایرینوتکان موجب شد که تعداد RBC در موش سوری با اختلاف معنی‌داری کاهش پیدا کند. این نتیجه با مطالعه‌های انجام شده در زمینه لیز گلبول‌های قرمز به وسیله داروی ایرینوتکان مطابقت دارد(۱۹).

به نظر می‌رسد که داروی ایرینوتکان نه تنها از تکثیر سلول‌های سرطانی با مکانیسم ممانعت از فعالیت آنزیم توپوایزومراز می‌کاهد، در بافت خون‌ساز نیز که تکثیر سلول‌های اجدادی با استفاده از مکانیسم اثر آنزیم مذکور صورت می‌گیرد، در نتیجه کاهش معنی‌دار تعداد RBC توجیه‌پذیر می‌باشد. اثر عصاره میوهٔ انار با دوز ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روند خونسازی نسبت به گروه کنترل با شدت بسیار زیادی معنی‌دار می‌باشد. این اثر با نتایج حاصل از مطالعه‌های منصفی و همکاران در سال ۲۰۱۱ که اثرات عصاره انار را در روند تکثیر سلول‌های بافت استخوان و غضروف و افزایش سلول‌های بافت مزانشیمی در جنین موش بیان داشتند همسویی نشان می‌دهد(۲۰). این اثر امکان دارد که با مکانیسم تحریک روند اریتروپوئز در بافت‌های خون‌ساز از طریق فعال کردن سنتز سایتوکین‌ها و برخی اینترلوکین‌های درگیر در خونسازی به وسیله ترکیب‌های موجود در عصاره میوهٔ انار انجام شود. در گروهی که قبل از دریافت عصاره انار با دوز ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، با داروی ایرینوتکان درمان شده‌اند نتایج نشان داده شد که این تأثیر نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است، اما میزان اثر بخشی آن نسبت به گروه دریافت کننده عصاره به تنهایی به مراتب کمتر است. نتیجه فوق احتمال دارد که در خصوص اثر بخشی زمان بر عصاره میوه انار باشد که اعمال شده است. این موضوع بیان گر این واقعیت می‌باشد که تأثیر دارو در مدت زمان کوتاهی رخ می‌دهد در حالی که روند خون‌سازی امری است که زمان بر می‌باشد. به نظر می‌رسد عصاره انار قادر باشد در سنتز اریتروپوئتین که به وسیله کلیه‌ها صورت می‌گیرد اثر خود را اعمال نماید و چون ساخته شدن اریتروپوئتین جدید چندین روز زمان نیاز دارد(۲۱). لذا عصاره انار بعد از مدت چند روز

قادر است تا اثرات مخرب داروی ایرینوتکان 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 به وسیله عصاره انار را گزارش کردند مطابقت دارد(۲۲).

تأثیر داروی ایرینوتکان بر روند ساخته شدن گلبول‌های سفید، اثری مخرب می باشد چرا که موجب کاهش تعداد WBC در موش سوری می‌گردد. این نتایج با مطالعه‌های انجام شده قبلی که به اثرات ضد التهابی عصاره انار و تأثیر ممانعت کنندگی آن از رشد سرطانی اشاره دارد مطابقت دارد(۲۳). اثرعصاره با دوز ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصارهٔ مذکور مؤثر قرار گرفت. شاید دلیل این نوع اثر بخشی، در اثر نوع تأثیر و یا تحریک فاکتور محرک کلنی خاصی باشد که تعداد WBC را تحت تأثیر قرار می‌دهد(۲۴). به نظر می‌رسد تأثیر عصاره میوهٔ انار در روند ساخته شدن RBCها بیشتر از ساخته شدن WBCها باشد. میزان اثر بخشی عصاره میوهٔ انار بر تعداد WBCها ناشی از تجویز دارو و عصاره مشابه با آن چیزی است که در مورد اثر آنها بر RBC می‌باشد.

داروی ایرینوتکان قادر است که هموگلوبین موجود در RBCها را به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش دهد. این نتیجه با مطالعاتی که در این زمینه انجام شده است مطابقت دارد(۲۵). این اثر کاهشی نسبت به گروه کنترل معنی‌دار تلقی گردید. از طرف دیگر، اثر عصارهٔ میوهٔ انار با دوز ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانسته است مقدار هموگلوبین خون را با شدت بیشتری افزایش دهد و نسبت به گروه کنترل معنی‌دار شود. همان‌طوری که اثرات تخریبی داروی ایرینوتکان بر سلول‌های اجدادی مغز استخوان مشاهده شده است، به نظر می‌رسد که کاهش مقدار هموگلوبین خون در اثر اختلال در ساخته شدن سلول‌ها و هم‌چنین اختلال در مکانیسم‌های سنتز هموگلوبین به وسیله داروی فوق صورت گرفته باشد. عصارهٔ میوهٔ انار با دوز به کار رفته در این پژوهش قادر است که هموگلوبین‌سازی را افزایش دهد به طوری که این افزایش نسبت به گروه کنترل معنی‌دار شده است. علت این امر می تواند به احتمال قوی مربوط به اثر عصارهٔ فوق در روند تکثیر سلولی و تأثیر آنتی‌اکسیدانتی آن در جهت حفاظت از روند پروتئین سازی عصاره انار صورت گرفته باشد. این نتیجه با مطالعات آگنار و همکاران در سال ۲۰۰۶ که نشان دادند عصارهٔ انار قادر به انجام فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانتی در بافت‌های بدن، از جمله بافت قلب و عروق دارد(۲۶).

با توجه به نتایج حاصل شده در خصوص تأثیر داروی ایرینوتکان و عصاره میوه انار بر درصد هماتوکریت خون موش سوری، تأثیر دارو قادر است به نحو معنی‌داری درصد Hct درخون موش سوری کاهش دهد. این کاهش هم‌سو با کاهش تعداد RBCها هم می‌باشد که قبلاً بیان گردید. این نتیجه با مطالعه کارپووا و همکاران که نشان دادند تزریق ایرینوتکان باعث کاهش تعداد RBCها و مطاعاقب آن کاهش هماتوکریت می‌گردد مطابقت دارد(۲۴). این اثر بیشتر به خاطر افزایش تعداد

RBC باشد. تـأثیر داروی ضـد سـرطانی ایرینوتکـان بـه همراه عصاره با دوز ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلـوگرم بـر روی درصـد هماتوکریـت نسـبت بـه گـروه کنتـرل معنی‌دار می‌باشد. این امر می‌تواند ناشی از اثر بیشـتر بـه خاطر افزایش تعداد RBC باشد.

نتیجه‌گیری

بررسی حاضر نشان داد که عصاره میوهٔ انـار به صورت وابسته به دوز دارای اثر محافظت کننـدگی و یـا تکثیـر یابنـدگی بـر روی پارامترهـای خـونی در موش‌های درمان شده با داروی ایرینوتکان مـی‌باشـد. پیشنهاد می‌شود، به منظور نتیجه‌گیری جـامع تـر اثـر این گیاه در دامنـه وسـیع‌تـری از دوزهـای تزریقـی و خوراکی مورد استفاده قرار گیـرد و هـم‌چنـین اثـرات خالص مواد فعال آن بررسی شود.

تقدیر و تشکر

این مطالعـه حاصـل پایـان کارشناسـی ارشـد فیزیولـوژی جـانوری مصـوب دانشـگاه آزاد اسـلامی واحد همدان بود که با حمایت مالی آن دانشـگاه انجـام شد.

REFERENCES

1.Longo DL, Kasper DL, Jameson JL, Fauci AS, Hauser SL, Loscalzo J. Harrison principles of internal medicine. 18th ed. United States: McGraw-Hill; 2012; 475-484.
2.Miki T, Mizutani Y, Nonomura N, Nomoto T, Nakao M, Saiki S, et al. Irinotecan plus cisplatin has substantial antitumor effect as salvage chemotherapy against germ cell tumors. Cancer 2002; 95: 1879-85.
3.Marázi L, Szántó J, Szota J. The role of irinotecan in the treatment of advanced colorectal cancer. Magy Onkol 2001; 45: 403-5.
4.Sevinc A, Kalender ME, Altinbas M, Ozkan M, Dikilitas M, Camci C. Irinotecan as a second-line monotherapy for small cell lung cancer. Asian Pac J Cancer Prev 2011; 12: 1055-9.
5.Koji N, Yoichi A, Takayuki A, Hiroaki O, Masayuki S, Tetsuro Y, et al. Irinotecan hydrochloride (CPT-11) and mitomycin C as the first line chemotherapy for ovarian clear cell adenocarcinoma. Gynecol Oncol 2005; 97: 893-7.
6.Yamasaki S, Tanimoto K, Kohno K, Kadowaki M, Takase K, Kondo S, et al. UGT1A1 *6 polymorphism predicts outcome in elderly patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma treated with carboplatin, dexamethasone, etoposide and irinotecan. Ann Hematol 2015; 94(1): 65-9.
7.Ruggiero A, Coccia P, Scalzone M, Attina G, Riccardi R. Treatment of childhood saracoma with irinotecan: bilirubin level as a predictor of gastrointestinal toxicity. Gan To Kagaku Ryoho 2011; 38: 1375-7.
8.Lansky EP, Newman RA. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. J Ethnopharmacol 2007; 109: 177-206.
9.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.
10.Simsek N, Karadeniz A, Bayraktaroglu AG, Alev G. Effects of L-carnitine, Royal jelly and pomegranate seed on peripheral blood cells in rats. Kafka's Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi 2009; 15: 63-69.
11.Khan MA, Ahmad MA, Khan MN. Antianaemic herbal drugs with special reference to rumman juice (*Punica granatum*) and Maveez munaqqa (*Vitis vinifera*) in classical unani literature. Hamdard Medicus 2006; 49:14-17.
12.Modarresi J, Fathi Nasri MH, Dayani O, Rashidi L. The effect of pomegranate seed pulp feeding on DMI, performance and blood metabolites of southern khorasan crossbred goats. Animal Science Researches 2010; 20(2): 123-32.
13.Adhami VM, Khan N, Mukhtar H. Cancer chemoprevention by pomegranate: laboratory and clinical evidence. Nutr Cancer 2009; 61: 811-5.
14.Syed DN, Chamcheu JC, Adhami VM, Mukhtar H. Pomegranate extracts and cancer prevention: molecular and cellular activities. Anticancer Agents Med Chem 2013; 13: 1149-61.
15.Jakson Jemore D. Herbomineral formunlation for treating sickle cell disease. United States Patent Application 2010; 13: 761-920.
16.Mo J, Panichayupakaranant P, Kaewnopparat N, Nitiruangjaras 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.
17.Ghadiany M, Foratyazdi M, Rahimi H, Rezvani H, Sadeghi L, Fathali AH. Modified irinotecan plus cisplatin and dexamethasone (icd) combination chemotherapy as salvage chemotherapy for patients with relapsed/refractory diffuse large cell lymphoma. Indian J Hematol Blood Transfus 2014; 30(4):265-8.
18.Modaresi M, Resalatpour N. The effect of *Taraxacum officinale* hydroalcoholic extract on the blood cell counts in mice. Armaghane-danesh. Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ) 2012; 17(5): 431-8.
19.Chamberlain MC, Tsao-Wei DD, Groshen S. Salvage chemotherapy with CPT-11 for recurrent meningioma. J Neurooncol 2006; 78: 271-6.

20.Monsefi M, Parvin F, Talaei-Khozani T. Effects of pomegranate extracts on cartilage, bone and mesenchymal cells of mouse fetuses. Br J Nutr 2012; 107: 683-90.
21.Gauyton AC, Hall JE. Text book of medical physiology. 12th ed. China: Sunders; 2010; 413-422.
22.Bishayee A, Bhatia D, Thoppil RJ, Darvesh AS. Pomegranate-mediated chemoprevention of experimental hepatocarcinogenesis involves Nrf2-regulated antioxidant mechanisms. Carcinogenesis 2011; 32: 888-96.
23.Faria A, Murlikrishna KS, Shivakumar KM, Chandu GN. Comment on safety and antioxidant activity of a pomegranate ellagitannin-enriched polyphenol dietary supplement in overweight individuals with increased waist size. J Agric Food Chem 2008; 56: 12143-4.
24.Karpova GV, Abramova EV, Fomina TI, Shchemerova IuA, Dubskaia TIU. Myelotoxity of the nuclear enzyme inhibitors irinotecan and etoposide. Eksp Klin Farmakol 2006; 69: 42-7.
25.Sube T, Ogawa K, Ichikawa W, Fujii M, Tokunaga A, Takagi Y, et al. Phase I/II study of irinotecan (CPT-11) and s-1 in the treatment of advanced gastric cancer. Anticancer Drugs 2007; 18: 605-10.
26.Ignarro LJ, Byrns RE, Sumi D, De Nigris F, Napoli C. Pomegranate juice protects nitric oxide against oxidative destruction and enhances the biological actions of nitric oxide. Nitric Oxide 2006; 15: 93-102.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Evaluation of pomegranate rind (*Punica granatum*) hydroethanolic extract on blood parameters in male mice treated by Irinotecan Hcl

Mirazi N[1*], Nosrati Sh[2], Hosseini A[3]

[1]Department of Biology, Faculty of basic scienecs, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran, [2]Department of Biology, Faculty of basic scienecs, Islamic Azad University Hamedan Branch, Hamedan, Iran, [3]Department of Physiology, Faculty of Biological Science, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

Received: 14 Nov 2014 Accepted: 14 Mar 2015

Abstract

Background & aim: Irinotecan Hcl is the first order drug for some neoplasm treatment in patients. Irinotecan Hcl has side effects on blood such as anemia and leukopeny. The aim of this study was to evaluate erythropoetic effects of the pomegranate hydroethanolic extract were examined on mice which treated by irinotecan Hcl.

Methods: In this experimental study, 49 male mice (25-30 g) were divided in 7 groups (control, sham, treated by irinotecan Hcl (100 mg/kg), treated by pomegranate extract (100 and 400 mg/kg, i.p, daily for one week) and treated by irinotecan Hcl plus pomegranate extract (100 and 400 mg/kg, i.p, daily for one week) randomly. Anemia induced by administration of irinotecan in the experimental animal. At the end of experiment the blood samples were collected by cardiac puncture method and analized for RBC, WBC, Hb, Hct parameters. Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's test.

Results: The results of this study showed that irinotecan has affected on blood factors and cause to significance decrese compared with control group ($p<0.001$). Also groups which treated with pomegranate extract (100 and 400 mg/kg) significantly reduce the side effects of irinotecan and cause to increasing in blood factors ($p<0.001$). The number of WBC counts in the group which received Irinotecan (100 kg) significantly decreased as compared with the control group ($p<0.001$). Irinotecan affected on blood Hb level and cause to significant decrease compared with control group. Groups which received pomegranate extract (100 and 400 kg) had positive effect and significantly increased the blood Hb levels as compared to controls ($p<0.001$).

Conclusion: These results showed that consumption of pomegranate rind extract in a dose-dependent manner has protective effect on blood parameters in mice which treated with Irinotecan Hcl.

Keywords: Anemia, Irinotecan Hcl, Mice, Pomegranate rind extrac.

[*]**Corresponding author:** Department of Biology, Faculty of basic scienecs, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
Email: mirazi@basu.ac.ir

Please cite this article as follows:
Mirazi N, Nosrati Sh, Hosseini A. Evaluation of pomegranate rind (Punica granatum) hydroethanolic extract on blood parameters in male mice treated by Irinotecan Hcl. Armaghane-danesh 2015; 20 (2): 114-126.