

## اثر ضد انعقاد گیاه مرزه در رت

افشین نظری\* دکتر بهرام دلفان\*\* دکتر یعقوب شیرخانی\*\*\* علی اصغر کیانی\*\*\*\*

## Effect of Satureja Khuzestanica on blood coagulation activity in rats

A.Nazari✧ B.Delfan Y.Shirkhani AA.Kiyani

## \*Abstract

**Background:** Satureja Khuzestanica is an endemic plant of Iran widely distributed in the southern part of the country. This plant is famous for its medical applications as an analgesic and antiseptic in folk medicine.

**Objective:** To investigate the effect of oral administration of aqueous extract of Satureja Khuzestanica on hemostasis and body weight *in vivo*.

**Methods:** This research was an experimental study carried out in Lorestan Medicinal Herbs Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khoram-abad, Iran. Thirty six rats were randomly divided into 3 groups. An equivalent of 50 mg of aqueous extract of Satureja Khuzestanica/kg was orally administered. For two weeks the rats in group 1 and 2 received an equal amount of extract once and three times a day, respectively. Control group received only pure water. Animals' weights were measured every day. Following two weeks, prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT) were determined. Data were analyzed using One-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey multiple comparison tests.

**Findings:** As compared to control, the administration of aqueous extract of Satureja Khuzestanica as 3 separate dose/day resulted in a significant prolongation of APTT by 20.7% ( $p < 0.001$ ), PT by 15.7% ( $p < 0.05$ ) and a reduction of body weight by % 9.24 ( $p < 0.001$ ) after 2 weeks.

**Conclusion:** Regarding our data, it seems that the aqueous extract of Satureja Khuzestanica induced some changes in coagulation activity shown by increased values for APTT and PT. Loss of body weight in rats was also observed when the extract administered three times a day.

**Keywords:** Medical Plants, Anticoagulants, Mice

## \* چکیده

**زمینه:** مرزه از گیاهان بومی ایران است که به طور وسیعی در قسمت جنوبی کشور به خصوص استان لرستان و خوزستان می‌روید و در طب سنتی به اثر ضد درد و ضد عفونت آن اشاره شده است.

**هدف:** مطالعه به منظور تعیین اثرات ضد انعقاد گیاه مرزه در رت انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۲ در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی لرستان انجام شد که طی آن ۳۶ رت به طور تصادفی در سه گروه قرار گرفتند. مقدار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرزه که قبلاً از طریق بررسی مقدماتی تعیین دوز شده بود، از راه خوراکی به ترتیب در گروه اول یک بار در روز، در گروه دوم سه بار در روز به مدت ۲ هفته به موش‌ها داده شد و در گروه شاهد هیچ‌گونه گیاهی مصرف نشد. وزن موش‌ها به طور روزانه و زمان پروترومبین (PT)، زمان پارشیال پروترومبین فعال شده (APTT) و وزن موش‌ها در پایان دو هفته اندازه‌گیری شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری ANOVA یک طرفه و توکی تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** در گروهی که روزانه ۳ بار گیاه مصرف کرده بودند افزایش معنی‌دار ۱۵/۷٪ در PT و ۲۰/۷٪ در APTT ( $p < 0.001$ ) نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. وزن گروه آزمون نسبت به گروه شاهد ۹/۲۴٪ کاهش نشان داد ( $p < 0.001$ ).

**نتیجه‌گیری:** مصرف ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرزه ۳ بار در روز باعث ایجاد تغییر در فعالیت انعقادی (افزایش PT و APTT) و کاهش وزن بدن رت‌ها می‌شود.

**کلیدواژه‌ها:** گیاهان شفابخش، ضدانعقادها، موش‌ها

\* کارشناس ارشد فیزیولوژی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی لرستان

\*\* استادیار مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی لرستان

\*\*\* دکتری علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان

\*\*\*\* کارشناس ارشد هماتولوژی دانشگاه علوم پزشکی لرستان

آدرس مکاتبه: خرم‌آباد، انتهای خیابان رازی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، معاونت آموزشی- پژوهشی، تلفن ۳۲۰۵۰۱۵

## \* مقدمه :

بن‌ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از صاف شدن در شیشه‌های استریل دردار منتقل و نگه‌داری شد.

در این تحقیق ۳۶ رت نر سفید‌گونه ویستار (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) با محدوده وزنی ۳۱۰/۱-۲۱۷/۸ گرم در قفس‌های استاندارد نگه‌داری شدند به طوری که دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. درجه حرارت اتاق حدود  $23 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد حفظ شد. گروه آزمون شامل ۲۴ رت بود که دم‌کرده مرزه را دریافت می‌کردند و گروه شاهد که شامل ۱۲ رت بود به جای دم‌کرده گیاه مرزه، آب مقطر دریافت می‌کردند. گروه آزمون به دو زیرگروه (هرگروه ۱۲ رت) تقسیم شدند که گروه اول ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دم‌کرده مرزه را روزی یک بار و گروه دوم همین مقدار دم‌کرده مرزه را روزانه ۳ بار دریافت می‌کردند.

لازم به ذکر است که دوز به کار رفته از طریق آزمایش‌های مقدماتی تعیین شده بود.

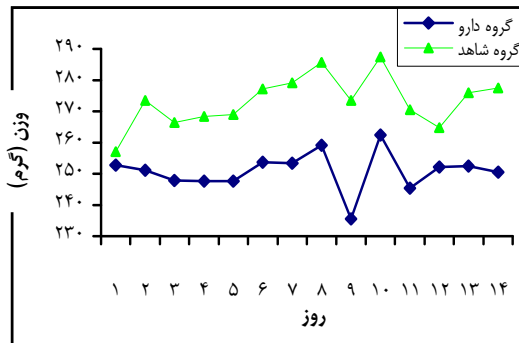
بعد از اتمام ۱۵ روز، حیوان‌ها با ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین هیدروکلرید (Alfasan Woerden Holland) و ۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم م‌زایلازین ۲ درصد (Rotex Medica Germany) از راه داخل صفاقی بی‌هوش شدند. سپس عمل خون‌گیری از قلب حیوان انجام و خون گرفته شده با حجم‌های ۰/۹ سی‌سی خون با ۰/۱ سی‌سی سیترات سدیم (۳/۵ درصد) مخلوط و به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه جهت به دست آوردن پلاسما با دور ۲۰۰۰ باردر دقیقه، سانتریفیوژ (5810R - eppendorf ساخت آلمان) شد. برای اندازه‌گیری زمان پرترومبین (PT) مطابق روش Quick از ترومبوپلاستین لیوفیلیزه شده از مغز خرگوش همراه کلسیم استفاده شد.<sup>(۶)</sup> اندازه‌گیری زمان پارشیال ترومبوپلاستین (APTT) مطابق روش Bell با استفاده از محلول ترومبوسیل فعال شده و کلرید کلسیم ۰/۰۲۵ مول بر لیتر انجام شد.<sup>(۷)</sup>

نتایج حاصله به صورت میانگین و خطای استاندارد، همراه با ذکر تعداد موش‌های مورد بررسی در هر آزمایش ارائه شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری ANOVA یک‌طرفه و توکی با

روند انعقاد از دو راه با دو مکانیسم متفاوت شروع می‌شود. یکی مسیر داخلی یا راه تماسی که در آن فقط عوامل انعقادی (مسیر داخلی ۱۲، ۱۱، ۹، ۸ و مشترک ۱۰، ۲، ۵ و ۱) و یک سطح فعال انعقادی لازم است و دیگری مسیر خارجی یا عامل نسجی که علاوه بر عوامل انعقادی (۷ و مسیر مشترک) به مواد مشتق از نسج نیاز است تا با ترکیب یکدیگر انعقاد را شروع نمایند.<sup>(۱)</sup> داروهای مختلف مصنوعی و شیمیایی و گیاهی وجود دارند که در فرآیندهای انعقادی (مسیر داخلی، خارجی و پلاکتی) مؤثرند. از جمله این گیاهان، مرزه (*Satureja Khuzestanica*) است که به طور وسیعی در قسمت جنوبی کشور به خصوص استان لرستان و خوزستان می‌روید.<sup>(۲)</sup> گونه ساتوریا متعلق به خانواده Lamiace و زیر مجموعه Neptodeae و از گروه *Mentha* است. مطالعه‌هایی که درباره گونه‌های مختلف ساتوریا در خاورمیانه انجام شده به کارواکرول و فلاونوئیدها به عنوان ترکیب‌های مهم و عمده مرزه اشاره می‌کند.<sup>(۳)</sup> در مطالعه‌ای درباره اثر این گیاه روی دیسمنوره، مشاهده شد که علاوه بر اثرات اسپاسمولیتیک، ضد درد و ضد التهاب، باعث افزایش خون‌ریزی در بیماران می‌شود.<sup>(۴)</sup> لذا این مطالعه با هدف تعیین اثر مرزه بر روند انعقاد با توجه به زمان پرترومبین و APTT انجام شد.

## \* مواد و روش‌ها :

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۲ در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی لرستان انجام شد. جمع‌آوری سربرگ گیاه مرزه و خشک نمودن آن توسط شرکت خرمان واقع در شهرک صنعتی خرم آباد لرستان صورت گرفت. این گیاه توسط مرکز تحقیقات گیاهان دارویی سازمان مراتع و جنگل‌داری کشور در تهران تعیین هویت و به شماره ۵۸۴۱۶ در هر باریوم آن مرکز ثبت شد. پودر خشک شده برگ گیاه مرزه، به میزان ۰/۵ گرم در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر حل و به مدت ۲ ساعت در حمام



**\* بحث و نتیجه‌گیری :**

مطالعه حاضر نشان داد که مصرف ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرزه دارای تأثیرات ضد انعقادی از طریق افزایش PT و APTT و کاهش‌دهنده وزن است. علاوه بر تأثیرات ذکر شده، این گیاه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضد دیابتی و کاهش‌دهنده تری‌گلیسریدها است.<sup>(۸)</sup> افزایش PT می‌تواند در نتیجه کاهش در هر یک از عوامل درگیر در مسیرهای خارجی یا مسیر مشترک انعقاد خون یا وجود مهارکننده‌های هر کدام از این عوامل باشد.<sup>(۹)</sup> ارتباط مستقیمی بین عامل ۷ انعقادی و چربی‌های خون به خصوص در سطح تری‌گلیسریدها وجود دارد.<sup>(۱۰،۱۱)</sup> عصاره روغنی مرزه می‌تواند سطح تری‌گلیسرید را در رت‌های مبتلا به دیابت و افزایش چربی خون کاهش دهد.<sup>(۸)</sup> این احتمال وجود دارد که کاهش سطح تری‌گلیسرید، باعث کاهش عامل انعقادی ۷ شود و از این طریق دم کرده مرزه می‌تواند باعث افزایش PT شود.

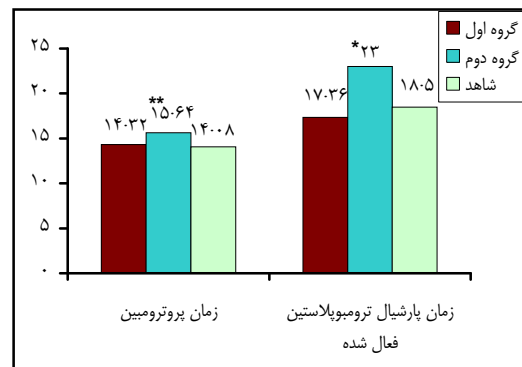
در این مطالعه مصرف مرزه باعث افزایش معنی‌دار APTT شد. آزمایش APTT آزمایشی حساس برای بررسی عوامل ۷، ۹، ۱۱، ۱۲ و عوامل مسیر مشترک انعقادی شامل عوامل ۱۰، ۵، ۱۲ است.<sup>(۱۲)</sup> در این آزمایش افزایش APTT می‌تواند در نتیجه تأثیر دم‌کرده این گیاه روی مسیر داخلی و مسیر مشترک انعقادی باشد. چون میزان افزایش APTT بیش‌تر از PT بود این طور به نظر می‌رسد که دم‌کرده این گیاه

یکدیگر مقایسه و p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

**\* یافته‌ها :**

میانگین PT در گروهی که روزانه ۳ بار مرزه مصرف می‌کردند  $15/64 \pm 1/95$  ثانیه بود که افزایش معنی‌داری به میزان ۱۵/۷ درصد در مقایسه با گروه شاهد نشان داد ( $p < 0/05$ ). همچنین میانگین APTT در این گروه  $23 \pm 3/5$  ثانیه بود که افزایش معنی‌داری به میزان ۲۰/۷ درصد در مقایسه با گروه شاهد نشان داد ( $p < 0/001$ ) (نمودار شماره ۱).

**نمودار ۱- مقایسه زمان پروترومبین و زمان پارشیال ترومبوپلاستین فعال‌شده در گروه‌های مورد مطالعه**



$p < 0/05$  \*\*       $p < 0/001$  \*

مصرف مرزه به مدت ۲ هفته باعث کاهش معنی‌دار وزن به میزان ۹/۲۴ درصد در گروه دوم ( $25/19 \pm 25/25$  گرم) در مقایسه با گروه شاهد ( $274/89 \pm 29/7$  گرم) شد ( $p < 0/001$ ) (نمودار شماره ۲).

**نمودار ۲- مقایسه تغییرات وزن در رت‌های دریافت‌کننده مرزه (۳ بار به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)**

6. Horsti J. Has the Quick or Owren prothrombin time method the advantage in harmonization for the international normalized ratio system?. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002 Oct; 13(7): 641-6
7. Martin BA, Branch DW, Rodgers GM. Sensitivity of activated partial thromboplastin time, the dilute Russell's viper venom time, and the kaolin clotting time for the detection of lupus anticoagulant a direct comparison using plasma dilutions. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996 Jun; 7(1): 31-8
8. Abdollahi M, Salehnia A, Mortazavi S, Ebrahimi M, Shafiee A, Fouladian F, Keshavarz Sorouri S, Khorasani R, Kazemi A. Antioxidant, anti diabetic, antihyperlipidemic, reproduction stimulatory properties and safety of essential oil of *Satureja Khuzestanica* in rat in vivo: a toxicological study. *Med Sci Monit* 2003; 9(9): 331-5
9. De gruchy GC. *Clinical and haematology in medical practice*. Black Well Scientific Publications, UK, 1983, 695
10. Zhao Y, Liu B, Bai H. Screening of hypercoagulability related genes in aorta of hypertriglyceridemic rats. *Sichuan Danxue Xue Bao Yixue Ban* 2003 Jul; 34 (3): 401-4
11. Chadarevian R, Bruckert E, Dejager S, Presberg P, Turping G. Relationship between triglyceride and factor VII c and plasminogen activator, inhibitor type-1: lack of threshold value. *Thromb Res* 1999 Nov 1; 96 (3): 175-82
12. Furie B, Furie BC. Molecular and cellular biology of blood coagulation. *New Engl J Med* 1992; 326, 800-6

بیش‌ترین اثر را روی مسیر داخلی نسبت به مسیر مشترک و خارجی انعقاد خون داشته باشد.

تجویز خوراکی دم‌کرده مرزه باعث کاهش قابل توجه وزن موش‌ها شد. اسانس روغنی این گیاه توانسته باعث کاهش گلوکز و سطح تری‌گلیسریدهای خون شود و نیز دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است.<sup>(۸)</sup> کاهش وزن در این مطالعه می‌تواند در نتیجه تأثیر دم‌کرده این گیاه بر چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها یا پروتئین‌ها یا متابولیسم آنها باشد.

مطالعه‌های بیش‌تری برای تعیین تأثیر دقیق دم‌کرده مرزه (ساتوریا خوزستانی‌کا) بر روی فعالیت انعقادی و وزن بدن مورد نیاز است.

#### \* سپاسگزاری :

بدین وسیله از همکاری خانم سپهوند و آقایان زرین‌جویی، بهرامی و فرهادی قدردانی می‌شود.

#### \* مراجع :

۱. طب‌رستانی مجتبی. *خون‌شناسی پزشکی*، مشهد، سازمان چاپ و نشر مشهد، ۱۳۶۴، ۸۳-۸۲۷
۲. زرگری علی. گیاهان دارویی، تهران، انتشارات تهران، ویرایش چهارم، ۱۳۶۹، ۴۲-۵
3. Sanchez de Rojas VR, Somoza B et al. Isolation of vasodilatory active flavonoids from the traditional remedy *Satureja obovata*. *Planta Med* 1996; 62: 272-4
4. Exarchou V, Nenadis N, Tsimidou M et al. Antioxidant activities and phenolic composition of extracts of *Satureja oregano*, Greek sage, and summer savory. *Agric Food Chem* 2002; 50: 5294-9
5. Marzuoghi E. Effect of infusion *Satureja Khuzestanica* on dysmenorrhea in young women. Thesis of general physician, Lorestan University of Medical Science and health service, Iran, 1998