مجـلهی علمی، پژوهشی دانشگاه علـوم پزشکـی زنجـان
دورهی ۱۶، شمارهی ۶۲، بهار ۱۳۸۷، صفـحات ۳۷ تا ۴۴

تأثیر عصارهی الکلی گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*) بر روی شاخص‌های هماتولوژیک در موش صحرایی نر

دکتر مختار مختاری[۱]، **اسفندیار شریفی**[۲]، **افسانه پرنگ**[۳]

نویسندهی مسئول: کازرون، دانشکدهی علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست‌شناسی Mokhtar_Mokhtary@Yahoo.Com

دریافت: ۸۶/۱۱/۱۶ پذیرش: ۸۷/۴/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: *گیاه بیلهر (Dorema aucheri) از تیرهی چتریان است و ساکنان مناطق جنوبی کشور از این گیاه استفادهی غذایی می‌نمایند و بر این باورند که این گیاه خواص دارویی مفیدی نیز دارد. در این تحقیق اثر مقادیر مختلف عصارهی گیاه بیلهر بر روی هموگرام در موش صحرایی نر بالغ مورد بررسی قرارگرفت.*

روش بررسی: *۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار در قالب گروه‌های کنترل، شاهد و تجربی مورد مطالعه قرارگرفتند. گروه‌های تجربی به سه زیرگروه تقسیم شدند و عصارهی الکلی گیاه را با مقادیر ۴۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم برای مدت سی روز به صورت خوراکی دریافت کردند. گروه شاهد سرم فیزیولوژی دریافت نمود و گروه کنترل هیچ دارویی دریافت نکرد. در پایان روز سی‌ام از ناحیهی بطنی قلب خونگیری به عمل آمد و کلیهی نمونه‌های خونی با استفاده از روش‌های معمول آزمایشگاهی تعداد کل گلبول‌های سفید، قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (MCHC)، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH)، حجم متوسط گلبولی (MCV) و درصد لنفوسیت‌ها و منوسیت‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج به دست آمده با استفاده از روش‌های آماری مناسب مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفت.*

یافته‌ها: *نتایج حاصل نشان داد مصرف عصارهی گیاه بیلهر در پایان روز سی‌ام باعث افزایش معنی‌داری در تعداد مونوسیت‌ها، در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل شد. اختلاف معنی‌داری در تعداد کل گلبول‌های سفید و قرمز، درصد لنفوسیت‌ها، میزان هموگلوبین و هماتوکریت، MCHC، MCH و MCV بین گروه‌های تجربی و کنترل مشاهده نشد. هم‌چنین تعداد پلاکت‌ها در پایان روز سی‌ام کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد.*

نتیجه‌گیری: *نتایج این تحقیق نشان داد احتمالا گیاه بیلهر به خاطر داشتن ترکیبات فلاونوییدی که دارای خواص آنتی‌اکسیدانت نیز هستند باعث افزایش مونوسیت‌ها می‌شود. هم‌چنین به نظر می‌رسد فلاونوییدها با مهار تولید ترومبوکسان A_2 میزان پلاکت‌ها را نیز کاهش می‌دهد.*

واژگان کلیدی: عصارهی الکلی بیلهر، شاخص‌های هماتولوژیک، موش صحرایی نر

مقدمه

خون بافت مایع بدن است که از دو قسمت پلاسما و عناصر سلولی تشکیل شده است. پلاسما شامل آب، پروتئین‌ها، هورمون‌ها، کربوهیدرات‌ها، الکترولیت‌ها، آنزیم‌ها، لیپیدها، آنتی‌ژن‌ها و نمک‌های معدنی می‌باشد.

۱- دکترای فیزیولوژی، دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون

۲- کارشناس ارشد زیست‌شناسی، مربی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون

۳- کارشناس ارشد علوم جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون

Archive of SID

www.SID.ir

سلول‌های خونی شامل گلبول‌های قرمز، گلبول سفید و پلاکت‌ها می‌باشد. اهمیت شناخت و ترکیب خون برای تشخیص علت بسیاری از بیماری‌ها حائز اهمیت است (۱). بیلهر (*Dorema aucheri*) از گیاهان تیره‌ی چتریان است که در اوایل فصل بهار در برخی از استان‌ها از جمله کردستان، چهارمحال بختیاری، فارس و کهگلیویه و بویراحمد رویش دارد (۲). گیاهی علفی، پایا، پوشیده از تار و دارای ریشه است، دمبرگ‌ها دارای غلاف پوشاننده و ساقه و برگ‌های پایینی شامل تقسیمات سه‌شاخه‌ای عمیق یا سه برگچه‌ای هستند. گل‌آذین کپه‌ای آن به صورت چترساده‌ای کروی و بدون گریبان است و یا برگ‌های گریبان آن بی‌دوام هستند و خیلی زود می‌ریزند. گل‌های سفید یا زرد در گل‌آذین مجتمع هستند که در واقع نوعی خوشه‌ی بسیارگسترده است (۳). در گذشته از صمغ حاصل از گیاه در طب سنتی استفاده می‌شده است. هم‌چنین از آن غذاهای محلی تهیه می‌نمودند ولی امروزه بیشتر از این گیاه به عنوان چاشنی استفاده می‌شود. برخی نیز عقیده دارند عصاره‌ی این گیاه در پایین آوردن فشارخون مفید است (۴). بیلهرگیاهی سرشار از فلاونویید است. اولین گیاه از خانواده‌ی چتریان است که این مواد را تراوش می‌کنند (۵). تحقیقات نشان می‌دهد مصرف گیاه بیلهر تری‌گلیسرید و کلسترول خون را پایین می‌آورد (۶). این گیاه دارای اثرات محافظتی بر آسیب‌های کبدی نیز می‌باشد (۷). هم‌چنین دارای خاصیت محرکی، آنتی اسپاسمودیکی و اکسپکتورانتی می‌باشد و در برونشیت‌های مزمن و تنگی‌نفس به کار می‌روند (۲). این گیاه خوراکی نیز می‌باشد. در ایران بر اساس پژوهش‌های رایانه‌ای انجام شده تنها تأثیر عصاره‌ی هیدروالکلی این گیاه بر روی آنزیم‌های کبدی و کلسترول خون مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته است. در مورد فاکتورهای هماتولوژیک نیز مطالعات جامعی در داخل و خارج از کشور انجام نشده است که یکی از جنبه‌های نوآوری این تحقیق است. در مورد سایر خواص بیولوژیکی آن نیز مطالعاتی صورت نگرفته است. با توجه به این‌که این گیاه جزء گیاهان وحشی می‌باشد و احتمال سمی بودن آن نیز وجود دارد و با توجه به اطلاعات اندک در مورد تأثیر این گیاه بر روی فاکتورهای خونی و این که هرگونه تغییر محسوسی در فاکتورهای خونی می‌تواند شناختی برای نوعی بیماری و زمینه‌ساز بیماری‌های خونی و بیماری‌های وابسته به آن شود، این تحقیق انجام شده است تا در مصرف این گیاه احتیاط‌های لازم و از زیان‌های احتمالی آن جلوگیری به عمل آید.

روش بررسی

در این مطالعه‌ی تجربی از ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۲۰ گرم استفاده شد که از خانه‌ی پرورش حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه شد. سن حیوانات در زمان انجام آزمایش حدود ۲/۵ تا ۳ ماه بود. درجه‌ی حرارت محیط در زمان انجام آزمایش ۲۰ تا ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد در طول شبانه‌روز بود و شرایط نوری به صورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی تنظیم شد. حیوانات به آب و مواد غذایی به مقدار کافی دسترسی داشتند. در این تحقیق حیوانات به ۳ گروه تقسیم شدند (N=۱۰):

گروه اول: گروه کنترل، حیوانات در زمان آزمایش ماده‌ی خاصی دریافت نکردند.

گروه دوم: گروه شاهد، حیوانات این گروه روزانه مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل به صورت خوراکی به مدت سی روز دریافت کردند.

گروه سوم: گروه تجربی شامل سه زیرگروه بود و مقادیر مختلف عصاره‌ی گیاه بیلهر به میزان ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به مدت سی روز به روش خوراکی دریافت کردند.

روش تهیه‌ی عصاره‌ی الکلی بیلهر: بخش‌های هوایی گیاه بیلهر که مصرف خوراکی دارند در اوایل فصل بهار در سال

Archive of SID
www.SID.ir

۱۳۸۶ از کوه‌های اطراف شهرستان ممسنی جمع‌آوری و در شرایط مناسب و دور از نور آفتاب خشک و سپس پودر شد. ۸۰۰ گرم از پودر گیاه بیلهر در مخلوط آب و اتانل به نسبت یک به یک به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد و سپس صاف شد. برای اطمینان از این که ذرات معلق موجود در گیاه وارد عصاره نشود آن را سانتریفوژ نموده (به مدت ۱۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه) و سپس عصاره‌ی حاصل را در انکوباتور قرار داده تا الکل آن تبخیر شود. در نهایت عصاره‌ی گیاه به حالت غلیظ شده به دست آمد (۸). در این روش به ازای هر کیلوگرم وزن بدن میزان ۲۰۰،۴۰۰ و ۱۰۰ میلی گرم عصاره‌ی غلیظ شده را وزن نموده و در ۰/۲ میلی‌لیتر آب مقطر حل نموده و به هر سر موش به روش خوراکی خورانده شد (۷).

حیوانات پس از دریافت عصاره‌ی الکلی گیاه و سرم فیزیولوژی به صورت روزانه در ساعت ۸ صبح به مدت سی روز تا زمان خونگیری در شرایط آزمایشگاهی ثابت قرارداشتند. در پایان دوره‌ی آزمایش کلیه‌ی حیوانات گروه‌های مختلف با استفاده از دی‌اتیل‌اتر بیهوش شدند و نمونه‌های خونی از قلب تهیه شد (۹). قبل از خونگیری ۵۰ شیشه استریل مخصوص نگهداری خون حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر ماده‌ی ضدانعقاد خون (EDTA) آماده شد. پس از خونگیری نمونه‌های خونی موردنظر بلافاصله با احتیاط روی دیواره‌ی داخلی شیشه‌های مذکور ریخته و پس از بستن دربشان به آرامی با ماده‌ی ضدانعقاد مخلوط شدند.

بعد از آن شیشه‌های موردنظر در جعبه‌ای مخصوص محتوی یخ قرار داده و جهت انجام مراحل بعدی آزمایش به آزمایشگاه منتقل شد (۱۰). از دستگاه Cell Counter مدل MS9 برای اندازه‌گیری شاخص‌های خونی استفاده شد.

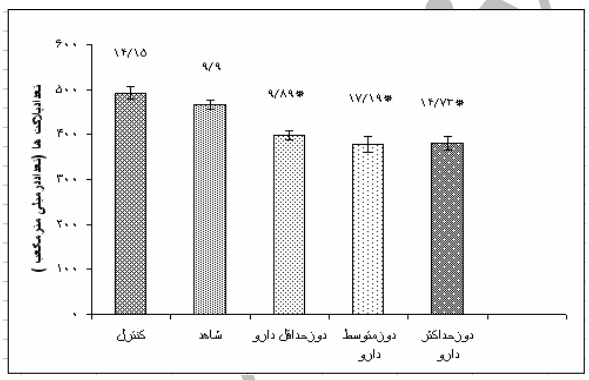
دقت دستگاه صددرصد می‌باشد و مدت زمانی که خون در دستگاه قرار داده می‌شود حداکثر ۲ دقیقه است. شمارش گلبول‌های قرمز و سفید به وسیله‌ی دستگاه و افتراق گلبول‌های سفید به وسیله‌ی Diff انجام گرفت.

به منظور مقایسه‌ی میانگین تعداد سلول‌های خونی بین گروه‌های تجربی و کنترل از روش T-Test، ANOVA، و Post Hoc Test استفاده شد و تمامی تجزیه و تحلیل‌ها با استفاده از برنامه‌ی SPSS انجام شد. اختلاف در سطح $P<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج به دست آمده به دنبال تأثیر عصاره‌ی الکلی گیاه بین گروه‌های تجربی و کنترل به همراه محاسبات آماری به صورت نمودار ارایه شده است. تجزیه و تحلیل آماری نتایج نشان داد مصرف عصاره‌ی الکلی گیاه بیلهر با مقادیر ذکر شده در پایان روز سی‌ام بر روی تعداد کل گلبول‌های سفید بین گروه‌های تجربی و گروه کنترل اختلاف معنی‌داری در سطح $P<۰/۰۵$ نشان نمی‌دهد.

درصد مونوسیت‌ها به دنبال دریافت مقادیر مختلف عصاره‌ی گیاه بیلهر در کلیه‌ی گروه‌های تجربی افزایش معنی‌داری در سطح $P<۰/۰۵$ نسبت به گروه کنترل نشان داد (نمودار ۱).



نمودار۱: تأثیر مقادیر مختلف مصرف عصاره‌ی گیاه بیلهر بر میانگین تعداد مونوسیت‌ها بین گروه‌های تجربی و کنترل

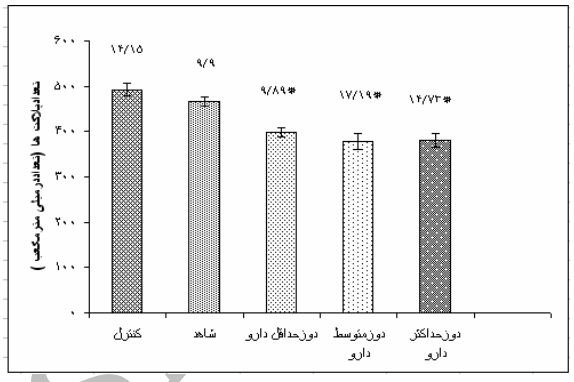
مقادیرنشان‌دهنده‌ی میانگین ± خطای معیار می‌باشد.

** نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های تجربی و کنترل است. اختلاف در سطح $P<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.*

اختلاف معنی‌داری در تعداد کل گلبول‌های قرمز، درصد لنفوسیت‌ها، میزان هموگلوبین و هماتوکریت،

Archive of SID
www.SID.ir

MCHC، MCH و MCV بین گروه‌های تجربی و کنترل مشاهده نشد. هم‌چنین میزان پلاکت در پایان روز سی‌ام کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد (نمودار ۲).



نمودار۲: تأثیر مقادیر مختلف مصرف عصاره‌ی گیاه بیلهر بر میانگین پلاکت بین گروه‌های تجربی و کنترل

مقادیر نشان‌دهنده‌ی میانگین ± خطای معیار می‌باشد.
** نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های تجربی و کنترل است.*
اختلاف در سطح $P<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

بحث

داروهای شیمیایی عمدتا با تقلید از فرمول داروهای گیاهی اما به صورت مصنوعی در آزمایشگاه‌های داروسازی تهیه می‌شوند، ولی اخیرا مشخص شده است، در صورتی که برخی از انواع ترکیبات موجود در گیاهان که در آزمایشگاه به صورت خالص تهیه می‌شوند همراه با سایر ترکیبات موجود در گیاه به مصرف برسند، عوارض جانبی آن‌ها کاهش یافته و تنها اثرات مفید آن‌ها در شخص آشکار می‌شود (۱۱). همان‌طور که در قسمت نتایج اشاره شد درصد مونوسیت‌ها به دنبال دریافت مقادیر مختلف عصاره‌ی گیاه بیلهر در کلیه‌ی گروه‌های تجربی افزایش معنی‌داری در سطح $P<۰/۰۵$ نسبت به گروه کنترل نشان داد. هم‌چنین میزان پلاکت در پایان روز سی‌ام کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد. این گیاه سرشار از آنتی‌اکسیدان‌هایی هم‌چون فلاونوییدها می‌باشد (۱۲). بیان (mcp-1) یا پروتئین جاذب شیمیایی مونوسیت‌ها که توسط اینترلوکین یک القا می‌شود تحت‌تأثیر فلاونوییدها متوقف می‌شود. mcp-1 از خانواده‌ی کموکین‌ها است و به طور اختصاصی جاذب و جلب‌کننده‌ی مونوسیت‌ها می‌باشد. این پروتئین اگر فعال باقی بماند باعث کوچک و غیرطبیعی شدن مونوسیت‌ها می‌شود. مهار بیان این پروتئین توسط فلاونوییدها به این صورت می‌باشد که برای بیان این پروتئین وجود یک فاکتور هسته‌ای بنام NF-KB لازم می‌باشد. فلاونوییدها مسیرهای پیام‌رسانی گوناگونی را که به وسیله‌ی پروتئین‌کیناز و کیناز وابسته به کالمدولین واسطه‌گری می‌شوند را متوقف و مهار می‌کنند و در نتیجه باعث توقف عمل NF-KB می‌شوند. هم‌چنین فاکتور هسته‌ای KB برای فعال شدنش نیاز به اکسید شدن دارد که فلاونوییدها با اثرات آنتی‌اکسیدانشان مانع فعال شدن NF-KB می‌شوند و از طریق این فرآیندها بیان (mcp-1) مهار می‌شود (۱۳). فلاونوییدها بازدارنده‌های قوی و فعالی برای چرخه‌ی فسفودی‌استراز چرخه‌ی AMP هستند که این امر باعث توقف عملکرد پلاکت‌ها می‌شود. نتایج به دست آمده از انکوباسیون پلاکت‌های انسانی یا حیوانی پیشنهاد می‌کند که فلاونوییدها از تراکم پلاکت‌های خونی جلوگیری می‌کند. به این صورت که فلاونوییدها با آراشیدونیک‌اسید واکنش انجام می‌دهند و بنابراین باعث توقف فعالیت سیکلواکسیژناز و در نتیجه باعث مهار تولید ترومبوکسان A2 پلاکت می‌شوند (۱۴). مطالعات نشان می‌دهد هیدروژن پراکساید (H_2O_2) برای فعال‌کردن مسیر فسفوانیوزیتولی لازم هستند. فلاونوییدها به خاطر خاصیت آنتی‌اکسیدانشان قادر به زدودن و دفع هیدروژن‌پراکسید هستند و بنابراین از تشکیل IP_3 جلوگیری می‌کنند. IP_3 جزو پیام‌برهای ثانویه‌ی درون سلولی پلاکت می‌باشند و با بالا رفتن غلظت آن باعث تکثیر و تمایز سلول می‌شوند و تا حدودی باعث نسخه‌برداری ژن‌های خاصی نیز می‌شوند (۱۵). هم‌چنین فلاونوییدها به

Archive of SID
www.SID.ir

وسیله‌ی مهار تجمع پلاکت‌ها و نیز با اثر محدودکننده بر روی دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها نظیر ویتامین E و C خطر بیماری‌های قلبی و عروقی را نیز کاهش می‌دهند (۱۶).

نتیجه‌گیری

احتمالا گیاه بیلهر به خاطر داشتن ترکیبات فلاونوییدی که دارای خواص آنتی‌اکسیدانت نیز هستند باعث افزایش مونوسیت‌ها می‌شود. هم‌چنین به نظر می‌رسد فلاونوییدها با مهار تولید ترومبوکسان A_2 میزان پلاکت‌ها را نیز کاهش می‌دهد. هرچند مطالعات بیشتری در زمینه‌ی شناسایی ترکیبات مؤثر گیاه لازم است.

منابع

1- Clod felter RL Jr. The peripheral smear. *Emerg Med Clin North Am.* 1986; 4(1): 59-74.

2- Zargari A. Pharmaceutical plants (persian). Tehran Vniversity Press. 1997, 212-221.

3- Gharaman A. Iranian chromophytes. First edition. University Press. 1993; 2: 668-769.

4- Wollenweber E, Dorr M, Rustaiyan A. Dorema aucheri the first umbelliferous plant found to produce exudates flavonoids. *Phytochem.* 1995; 38(6): 1417-1427.

5- Hsiao G, Shen My, Lin KH, et al. Antioxdant and hepatoproteceiv effect of antrodia camphorata extract. *J Agric Food Chem.* 2003; 51: 3302-8.

6- Sadeghi H, Ghaitasi I, Mazrooghi N, Sabzali S. The hepatoprotective effects of Dorema auchri on carbon tetrachloride induced liver damage in rats (Persian). *J Shahrekord University Med Sci.* 2007; 6(1): 38-43.

7- Germano MP, D Angelo V, Sanogor R, et al. Hepatoprotective and antibacterial effect of extracts from trichilia emetica vahi (Meliaceae). *J Ethnopharma Col.* 2005; 96: 227-32.

8- Allison f, Wrenmichael C, Christo P, Shawn M, Norris L. 90-Day oral toxicity study of a graps seed extract (1H636) in rats: Dry Creek Nutrrition. *Inc.* 2000; 29: 1-29.

9- Shishenian B, Farzin S. Medical Hematology. 20nd ed. Daneshjo Press. 1999; 79-109.

10- Samsamshriat H. Extraction of active medicinal plants substances and identification methods. First ed. Mani Press, 1992: 10-12.

11- Mirzaee A, Hakimi MH, Sadeghi H. Total antioxidant activity and phenolic content of Dorema aucheri: *Iran J Biocheme Mol Biol.* 2005; 1: 116.

12- Yoshihisa I, Hitoshi S, Eleni S, Masanori KI. Bioflavonoid quercetin inhibits interleukin-1-indiced trans criptional expression of monocyte chemo attractant protein-1- in glomerular cells via suppression of nuclear factor-KB. *Nephrol.* 2006; 10: 2290-6.

13- Pasquale P, Fabiom P, Andrea C, et al. The flavonoids quercetin and catechin synergistically in hibit platelet function by antagonizing the intracellular Production of hydrogen peroxide. *Clin Nutr.* 2000; 12(5): 1150-5.

14- Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides TC. Effects of plant flavonoids on mammalian

Archive of SID

www.SID.ir

cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev.* 2000; 52(4): 673-751.

15- Janssen K, Mensink RP, Cox FJ, et al. Effects of the flavonoids quercetin and apigenin on hemostasis in healthy volunteers: results from an in vitro and a dietary supplement study. *Am J Clin Nutr.* 1998; 67(2): 255-62.

16- Aniya Y, Koyama T, Miyagi C, et al. Free radical scavenging and hepatoprotective actions of the medicinal herb, Crassocephalum crepidioides from the Okinawa Islands. *Biol Pharm Bull.* 2005; 28(1): 19-23.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of Alcoholic Extract of Dorema auchrei on Homogram in Adult Male Rats

Mokhtari M, Sharifi S, Parang A

Corresponding Author's Address: Deparment of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Kazeroun Branch, Iran.

E-Mail: Mokhtar_Mokhtary@yahoo.com

Background and Objectives: *Dorema aucheri* belonging to the umbrella family plants, is used as food by the local residents of the Southern Iran. It is believed that this plant contains medication properties. In this research, the effect of different qnuantities of *Dorema aucheri* extract on homogram in adult male rats were investigated.

Materials and Methods: Forty adult male rats from wistar inbred were randomly divided into the following groups: control, sham operated and experimental groups. Experimental groups subdivided into three groups and received different doses of the plant alcoholic extract, 100, 200 and 400 mg/kg for 30 days. The sham group recieved normal saline and the control group received nothing. At the end of 30^{th} day, blood was taken from ventricle of the heart of the rats from all groups followed by routine hematology tests. The whole numbers of white blood cells (WBC), red blood cells (RBC), hematocrit, MCV, MCH, MCHC, lymphocyte percentage and monocytes and platelets were measured and the results were analysed.

***Results*:** The results showed that using *Dorema aucheri* alcoholic extract at the end of 30^{th} day, caused a significant increase in monocytes number in the experiment group comparing to the control group. The rate of platelet at the end of 30^{th} day showed a significant decrease in the test group.

Conclusion: The results indicated that *Dorema aucheri* probably contains flovonoidic component with antioxidant effect leading to the increase of monocytes and with inhibitory effect on thromboxane A2 production, causing a dicrease in platelet production.

Key words: Dorema aucheri, Homogram, Adult Male Rat

Archive of SID

www.SID.ir