

# تأثیر عصاره هیدروالکی گیاه علف چای بر مهاجرت سلولی و تولید واسطه‌های التهابی در پریتونیت حاد القاء شده با زیموزان در موش سفید آزمایشگاهی

شهلا قاسمی، سید میثم ابطحی فروشانی\*، عبدالغفار اوتق  
گروه میکروبیولوژی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۲۵

تاریخ وصول: ۱۳۹۵/۸/۵

## چکیده:

**زمینه و هدف:** پریتونیت القاء شده با زیموزان به منظور مطالعه فراخوانی مونوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها به حفره صفاقی و همچنین ارزیابی اثرات ضدالتهابی داروهای جدید و یا موجود به کار می‌رود. این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات عصاره هیدرو الکی گیاه علف چای بر پریتونیت حاد القاء شده با زیموزان در موش‌های سوری انجام شده است.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی ۵۰ سر موش سوری نر به طور تصادفی دره گروه به ترتیب با دارونما (فسفات سالین نرمال)، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم عصاره‌ی هیدرو الکی گیاه علف چای و دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم از داروی دیکلوفناک، یک ساعت قبل از القاء پریتونیت درمان شدند. به منظور القاء پریتونیت به هر موش ۲۰۰ میکرو لیتر از محلول زیموزان با غلظت ۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به صورت داخل صفاقی تزریق شد. بعد از ۴۸ ساعت محوطه صفاقی با ۵ میلی‌لیتر PBS سرد شسته شده و سلول‌های جدا شده به منظور ارزیابی شمارش تفریقی سلول‌ها، تولید نیتریک اکسید و شدت انفجار تنفسی مورد استفاده قرار گرفتند. داده‌های آماری با استفاده از آزمون‌های آماری تست کروسیکال والیس، مان ویتی و تعدیل بونفرونی تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** بر اساس یافته‌های به دست آمده، تولید نیتریک اکسید و میزان انفجار تنفسی در سلول‌های اگزودای استحصالی از لاواژ صفاق در موش‌هایی که عصاره علف چایی را در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم یا دیکلوفناک (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را دریافت کرده بودند، نسبت به موش‌های شاهد (مبتلا به پریتونیت و دریافت‌کننده فسفات سالین بافر) کاهش یافت. تعداد کلی سلول‌ها در محوطه صفاقی در همه گروه‌های درمانی کاهش یافت. با این حال نسبت تفریقی سلول‌ها، اختلاف معنی‌داری را در بین گروه‌های درمانی با عصاره هیدروالکی گیاه علف چای را نشان نداد. استفاده از دیکلوفناک و عصاره گیاهی منجر به کاهش سطح سایتوکاین‌های التهابی TNF- $\alpha$ ، IL-1 و IL-6 شد. در زمینه کاهش سطح تولید TNF- $\alpha$  و IL-1، دیکلوفناک قوی‌تر از دوزهای مختلف عصاره عمل کرده است. با این حال موش‌های مبتلا به پریتونیت و دریافت‌کننده عصاره هیدروالکی به خصوص در دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش بیشتری در سطح IL-6 نسبت به موش‌های مبتلا به پرتونئین و دریافت‌کننده دیکلوفناک نشان دادند.

**نتیجه‌گیری:** در مجموع به نظر می‌رسد که عصاره هیدروالکی گیاه علف چای می‌تواند به‌عنوان یک منبع طبیعی برای کنترل التهاب ناشی از پریتونیت حاد به کار رود.

**واژه‌های کلیدی:** پریتونیت، زیموزان، علف چای

**نویسنده مسئول:** سید میثم ابطحی فروشانی، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه میکروب شناسی

**Email:** meysamabtahi@hotmail.com

## مقدمه

به وسیله زیموزان به عنوان یک مدل بسیار مناسب جهت ارزیابی فرآیند التهاب حاد و همچنین ارزیابی چگونگی فراخوانی سلول‌های مونوسیت و نوتروفیل به داخل صفاق و در نهایت به عنوان یک مدل بسیار کارآمد برای داروهای ضدالتهابی مطرح است (۲-۴). این مدل یک مدل خود محدود شونده مشابه پریتونیت موجود در انسان بوده و از آنجایی که ورود سلول‌ها به داخل محوطه صفاقی صورت می‌گیرد ارزیابی کینتیک سلول‌ها در این روش به سادگی صورت خواهد گرفت (۴).

اجزای ایمنی ذاتی، از قبیل بیگانه‌خوارهای حرفه‌ای نقش مهمی در واکنش‌های دفاعی بر عهده دارند. بیگانه‌خوارهای حرفه‌ای شامل نوتروفیل‌ها و سیستم بیگانه‌خواری تک‌هسته‌ای، شامل مونوسیت‌ها و ماکروفاژها می‌باشند. به طور معمول نوتروفیل‌ها اولین و مونوسیت‌ها دومین خط دفاعی بدن در برابر عوامل بیگانه محسوب می‌شوند. این سلول‌ها فعالانه به سمت مواد کموتاکتیک و بیگانه مهاجرت کرده (کموتاکسی)، آن‌ها را می‌بلعند (فاگوسیتوز) و از بین برده و با تولید مدیاتورهای التهاب موجب ایجاد واکنش‌های التهابی می‌شوند (۶ و ۵). یکی دیگر از وظایف مهم سلول‌های بیگانه خوار و همچنین پاسخ‌های التهابی راه اندازی و تقویت واکنش‌های ایمنی تطبیقی است. امروزه تمایل به استفاده از گیاهان دارویی بلاخص در زمینه کاهش التهاب روز افزون است. در هر حال لازمه استفاده از این ترکیب‌های

التهاب، پاسخ بافت‌های عروقی به جراحت، آزرده‌گی و عفونت است. التهاب حاد اغلب با فیلتراسیون سلولی پر از نوتروفیل همراه است و در یک دوره چندروزه انجام می‌شود. درحالی‌که التهاب مزمن به وسیله فیلتراسیون سلولی محتوی سلول‌های تک‌هسته‌ای (مونوسیت، ماکروفاژ و لنفوسیت) مشخص می‌شود. التهاب مزمن ممکن است که برای هفته‌ها و یا حتی سال‌ها ادامه یابد و اغلب سبب تغییر غیرقابل برگشت بافت و از دست رفتن عملکرد آن می‌شود (۱).

مدت‌های مدیدی است که از پریتونیت عفونی القا شده به وسیله تزریق پاتوژن‌ها داخل حفره صفاقی، به عنوان یک مدل جهت مطالعه التهاب حاد استفاده شده است. متأسفانه این چنین مدل‌های التهابی به سختی کنترل می‌شوند، چون زمان دقیق و درجه پاسخ التهابی وابسته به پاتوژنیسیته و سرعت رشد میکروارگانیسم خاص استفاده شده، شدت و اثر پاسخ‌های ایمنی میزبان می‌باشد (۲ و ۳). تزریق زیموزان، جزء نامطول پلی ساکاریدی دیواره سلولی مشتق شده از *Saccharomyces cerevisiae*، به عنوان مدل خودالقا شونده پریتونیت در موش و خرگوش به صورت وسیعی استفاده شده است (۴). تزریق داخل صفاقی زیموزان تمامی نشانه‌های اصلی التهاب حاد شامل درد، فیلتراسیون لوکوسیت‌ها و سنتز واسطه‌های التهابی شامل؛ لوکوترین‌ها و پروستاگلاندین‌ها را ایجاد می‌کند (۵). پریتونیت القایی

التهابی حاد (پیریتونئیت القایی به وسیله زیموزان) در مدل موشی ارزیابی کنیم.

### روش بررسی

این مطالعه از نوع مداخله‌ای - تجربی است جامعه مورد مطالعه، شامل ۵۰ سر موش‌های نر سوری با محدوده سنی ۶ تا ۸ هفته می‌باشد که از حیوان خانه دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه شدند. این موش‌ها در شرایط استاندارد آب، غذا، دما و نور کافی نگهداری شدند. کلیه مراحل این تحقیق در کمیته اخلاق پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه مورد تأیید قرار گرفت.

بعد از تهیه گیاه علف چای، جنس و گونه آن به وسیله کارشناس دانشکده علوم تأیید شد. سپس گیاه در شرایط سایه خشک شده و به وسیله دستگاه خردکننده، کل گیاه به صورت پودر درآورده شد. عصاره‌گیری به شیوه متداول و به کمک حلال آب و اتانول به نسبت حجمی ۵۰ به ۵۰ صورت گرفت و پس از فیلتر کردن و خشک شدن عصاره در روتاری به صورت پودر لیوفلیزه در شرایط استریل تهیه شد (۱۵).

پس از طی زمان مورد نظر جهت تطابق موش‌ها (۲ هفته)، حیوانات به طور تصادفی در ۵ گروه قرار گرفته و به ترتیب بادوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی هیدرو الکی گیاه علف چای (گروه درمانی) و یا دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از داروی دیکلوفناک، یک ساعت قبل از القاء

گیاهی اطمینان از اثر بخشی آنها در یک مطالعه علمی و سیستماتیک است (۷ و ۸).

هوفاریقون، علف چای، هزار چشم یا گل راعی بانام علمی، *Hypericum perforatum* از جمله این گیاه دارویی ارزشمند از خانواده *Hypericaceae* می‌باشد (۹ و ۱۰). گیاه علف چای محتوی چندین ترکیب با فعالیت بیولوژیکی مانند؛ هایپرسیسین، سودوهایپرسیسین، فلاونوئیدها، پروسیانیدهای اولیگومریک و هایپرفورین می‌باشد. عصاره این گیاه به عنوان ضماد موضعی برای درمان زخم‌ها، سوختگی‌ها و درد عضلات استفاده می‌شود (۹). نشان داده است که هایپرفورین به عنوان یکی از ترکیب‌های اصلی گیاه علف چای دارای اثرات ضد باکتریایی علیه باکتری‌های گرم مثبت بوده و ممکن است برای درمان اعتیاد به الکل نیز ممکن است که مفید باشد. هایپرسیسین و سودوهایپرسیسین نیز اثرات ضد باکتریایی و ضد ویروسی دارند (۱۱-۱۴). خاصیت این گیاه در درمان افسردگی‌های خفیف تا متوسط و همچنین دردهای قاعدگی به اثبات رسیده به طوری که به عنوان یک دارو در بسیاری از کشورها از جمله ایران مجوز مصرف پیدا نموده است (۱۰).

اخیراً اثرات تعدیل‌کننده واکنش‌های ایمنی در مورد گیاه علف چای گزارش شده است (۱۵). با توجه به این که ایجاد التهاب و واکنش‌های ایمنی در بسیاری از جنبه‌ها به یکدیگر مربوط است، لذا در این مطالعه بر آن شدیم که اثرات احتمالی این گیاه را در یک مدل

پروتینیت درمان شدند. موش‌های گروه شاهد هم حجم موش‌های گروه تیمار بافر PBS دریافت نمودند. برای القای پرتونیت، بدین منظور زیموزان مشتق از مخمر *Saccharomyces cerevisiae* (سیگما- آمریکا) در شرایط استریل با بافر PBS در غلظت نهایی ۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر حل شد. در زمان القای بیماری (یک ساعت بعد از تزریق اجزای ضدالتهاب) به هر موش به صورت داخل صفاقی ۲۰۰ میکرو لیتر از محلول فوق تزریق شد (۴).

چهل و هشت ساعت پس از تزریق زیموزان، موش‌ها با جابه‌جایی مهره‌های گردنی کشته شدند. سپس حفره صفاقی موش‌ها لاواژ شد. برای این منظور شکاف کوچک، حدود ۰/۵ سانتی‌متری در خط میانی شکم ایجاد شد تا اجازه داده شود پوست شکم به سمت عقب کشیده شود که بعداً با اسپری اتانول ۷۰ درصد اسپری شد. ۵ میلی‌لیتر بافر PBS سرد حاوی ۰/۲ میلی‌مولار EDTA در شرایط استریل به داخل صفاق موش‌ها تزریق شد. پس از ماساژ حفره صفاقی، مایع لاواژ از حفره صفاقی به آرامی استخراج شد. مایع به یک لوله سانتریفیوژ ۱۵ میلی‌لیتری انتقال داده شد. نمونه آسپیره شده بلافاصله با سانتریوفیوژ در ۲۰۰۰ دور در دقیقه در طی ۲۰ دقیقه سانتریوفیوژ شده و بخش سلولی و مایع رویی جدا گردیدند. از بخش رویی جهت سنجش نیتریک اکسید و تست‌های الایزا استفاده شد. بخش پلاک سلولی جهت سنجش انفجار تنفسی و شمارش سلول‌ها استفاده شد.

به منظور حذف گلبول‌های قرمز احتمالی و رنگ‌آمیزی بخش سلولی، بخش پلاک سلولی با بافر هنکس به حجم اولیه رسانده شد. سپس با کشیدن ته لوله فالكون روی یک سطح ناصاف به آرامی و بدون آسیب رساندن به سلول‌های لکوسیت، سلول‌ها به حالت سوسپانسیون در آمدند. سپس ۲۰۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون سلولی به نسبت ۱ به ۲۰ با محلول مارکانو رقیق شد. مخلوط حداقل به مدت ۵ دقیقه به آرامی تکان داده شد و ۴۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون سلولی که با محلول مارکانو به نسبت ۱ به ۲۰ رقیق شده بود، بین لام نئوبار و لامل به آرامی تزریق شد و سلول‌ها در زیر میکروسکوپ معمولی شمارش شد. پنج خانه از جداول لام نئوبار شمارش شده، سپس عدد به دست آمده در پنج (برای ۲۵ خانه بودن لام نئوبار) و سپس در بیست (به دلیل رقیق شدن نمونه با محلول مارکانو) و سپس در ۱۰ ضرب شد. حاصل محاسبه تعداد سلول‌ها در یک میلی‌لیتر نمونه می‌باشد. به منظور شمارش تفریقی لکوسیت‌ها از رنگ‌آمیزی گیمسا استفاده شد. در نهایت در هر لام در قسمت‌های مختلف ۱۰۰ سلول شمارش شده و نسبت نوتروفیل به مونوسیت محاسبه شد.

برای انجام تست NBT (انفجار تنفسی)، ۰/۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون سلولی با ۰/۵ میلی‌لیتر محلول NBT یک‌دهم در صد در بافر هنکس و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول مخمر اپسونیزه (۱۰<sup>۸</sup> سلول در میلی‌لیتر) مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد دی اکسید کربن انکوبه شد.

ترسیم شده و از طریق رگرسیون و معادله خطی، غلظت نیتريت موجود در نمونه‌ها تعیین گردید (۱۶).

سنجش سایتوکاين‌ها در بخش مایع، برای سنجش هر یک از سایتوکاين‌های TNF- $\alpha$ ، IL-1 و IL-6 از کیت‌های ELISA مربوطه (شرکت Peprotech - بریتانیا) استفاده شد و بر طبق دستورالعمل مندرج در دفترچه راهنمای هر کدام از کیت‌ها اقدام گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز کروسیکال والیس، آزمون مان ویتنی یو تعدیل بونفرونی تجزیه و تحلیل شدند.

#### یافته‌ها

در حین شمارش تعداد کلی سلول‌ها و هم‌چنین شمارش تفریقی آن‌ها از محلول مارکانو که حاوی متیلن بلو است، به‌منظور حذف گوچه‌های قرمز استفاده شد. رنگ‌آمیزی به‌وسیله متیلن بلو، تفریق بین لوکوسیت‌ها را به دلیل تفاوت در مورفولوژی سلول و هسته ممکن می‌سازد. مونوسیت‌ها و ماکروفاژها به وسیله هسته‌های کلیوی شکل و سیتوپلاسم وسیع شان تشخیص داده می‌شوند. نوتروفیل‌ها به وسیله هسته‌های چندلوبي و سیتوپلاسم بسیار کمتر از مونوسیت‌ها و ماکروفاژها آشکار می‌شوند. لنفوسیت‌ها به راحتی به وسیله هسته‌های کروی و سیتوپلاسم بسیار کوچک قابل شناسایی هستند. بر این اساس نمودار ۱-الف مشخص است که عصاره‌های هیدروالکی هم‌راستا با دیکلوفناک منجر

نمونه با دور ۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از حذف مایع رویی برداشته شد، چند قطره متانول ۷۰ درصد به محتویات لوله فوق اضافه شد و ۱۰ دقیقه جهت تبخیر الکل در محیط آزمایشگاه قرار داده شد. با استفاده از بافر حجم این محتویات لوله حجم اولیه رسانده شد. مقدارهای ۲۰۰ میکرو لیتری از محتویات این لوله در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای ته تخت اضافه گردید. به هرکدام از این چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر KOH ۲ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه گردید. درنهایت داده‌های این آزمایش با قرائت پلیت ۹۶ خانه ته تخت در دستگاه الیزانگار با طول موج ۴۹۲ نانومتر مشخص شد (۴).

میزان تولید نیتريك اكسيد در سرم به وسیله روش رنگ سنجی گریس و استفاده از منحنی استاندارد نیتريت سدیم تعیین گردید. به‌طور خلاصه، ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه مایع لاواژ شده به صورت دوتایی به داخل چاهک‌های پلت ۹۶ خانه‌ای ته تخت ریخته شد. سپس ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول ۱ درصد سولفانیل آمید به چاهک‌ها اضافه شد. پلیت به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی و درجه حرارت اتاق نگاه‌داری شد. آنگاه به تمام حفره‌ها ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول ۱ درصد N-۱-۱ نفتیل اتیلن دی‌آمین‌دی‌هیدرو کلراید اضافه شد و بار دیگر به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی و درجه حرارت اتاق نگاه‌داری شد. در نهایت جذب نوری نمونه در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر به وسیله دستگاه الیزانگار قرائت گردید. هم‌زمان با استفاده از غلظت‌های مختلف نیتريت سدیم منحنی استاندارد

به کاهش معنی‌دار در میزان تام ارتشاح سلول به داخل صفاق موش‌های مبتلا به پریتونیت شده است، به طوری که دیکلوفناک منجر به کاهش ۵۲ درصدی در میزان سلول‌های ارتشاح یافته به صفاق موش‌های مبتلا شده و تحت درمان با دیکلوفناک نسبت به موش‌های شاهد (مبتلا و دریافت کننده PBS) شده است. این نسبت در موش‌های دریافت کننده عصاره در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب به میزان ۳۲، ۳۹ و ۴۶ درصد نسبت به موش‌های گروه شاهد کاهش یافته است. آنالیز آماری داده‌ها نشان داد با وجودی که با افزایش دوز عصاره تعداد سلول‌های ارتشاح یافته در موش‌های مبتلا به پریتونیت کاهش می‌یابد، ولی تغییر یاد شده از نظر آماری معنی‌دار نیست (عدم وابستگی به دوز، نمودار ۱). همچنین با وجود کاهش بیشتر در سطح سلول‌های ارتشاح یافته به وسیله دیکلوفناک، به نظر نمی‌رسد که تفاوت معنی‌داری بین عملکرد عصاره‌های هیدرو الکلی و هم‌چنین داروی دیکلوفناک وجود داشته باشد (نمودار ۱-الف).

نسبت سلول‌های نوتروفیل به مونوسیت در گروه شاهد به طور متوسط ( $0/04 \pm 0/06$ ) بود. این نسبت در گروه‌های دریافت کننده عصاره در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب به میزان ( $0/034 \pm 0/065$ )، ( $0/035 \pm 0/07$ ) و ( $0/03 \pm 0/068$ ) رسید. ارزیابی شمارش تفریقی سلول‌های موجود در محوطه بطنی موش‌های مبتلا به پریتونیت مشخص کرد با وجود این که عصاره

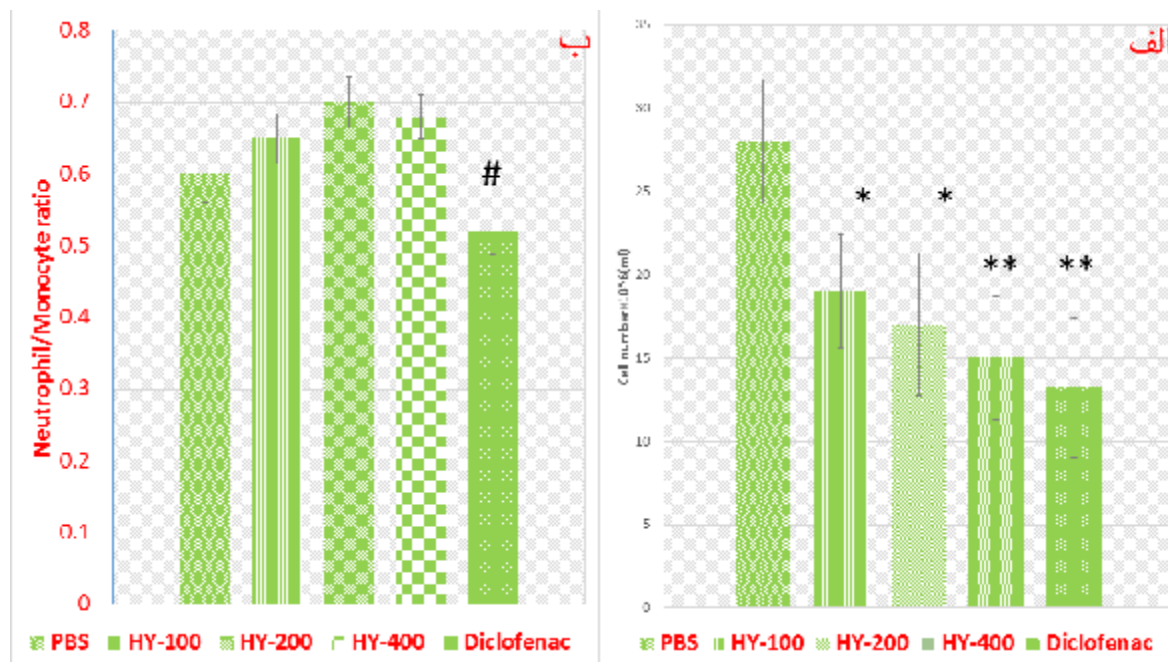
هیدروالکلی منجر به کاهش تعداد کلی سلول‌های وارد شده به صفاق شد، ولی بر روی نسبت نوتروفیل به مونوسیت‌ها تأثیر خاصی ندارد (نمودار ۱-ب). نسبت سلول‌های نوتروفیل به مونوسیت در گروه دریافت کننده دیکلوفناک ( $0/032 \pm 0/052$ ) بود. بر اساس آنالیز آماری به نظر می‌رسد که برخلاف عصاره‌های هیدرو الکلی، دیکلوفناک منجر به کاهش معنی‌دار در نسبت نوتروفیل به مونوسیت در مایع ارتشاحی به صفاق می‌شود (نمودار ۱-ب).

در تست احیای NBT توانایی و ظرفیت سلول‌های ایمنی ذاتی در تولید رادیکال‌های آزاد به ویژه آنیون سوپراکسید مشخص می‌گردد. آنیون سوپر اکسید تولید شده، ماده رنگی NBT (زرد، شفاف و محلول در آب) را احیا نموده و به فورمازان آبی نامحلول در داخل نوتروفیل تبدیل می‌کند. میزان فورمازان تولید شده با روش فوتومتر برای ارزیابی عملکرد انفجار تنفسی نوتروفیل اندازه‌گیری شد (نمودار ۲-الف). شدت انفجار تنفسی در همه دوزهای عصاره هیدروالکلی و هم‌چنین داروی دیکلوفناک کاهش معنی‌داری می‌یابد. داده‌ها نشان داد که دیکلوفناک منجر به کاهش ۴۷ درصدی در شدت انفجار تنفسی در سلول‌های ارتشاح یافته به صفاق در موش‌های مبتلا شده و تحت درمان با دیکلوفناک نسبت به موش‌های شاهد شده است. این نسبت در موش‌های دریافت کننده عصاره در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب به میزان ۱۵، ۳۵ و ۴۵ درصد نسبت به موش‌های گروه شاهد کاهش یافته است. آنالیز نتایج به دست آمده هم‌چنین

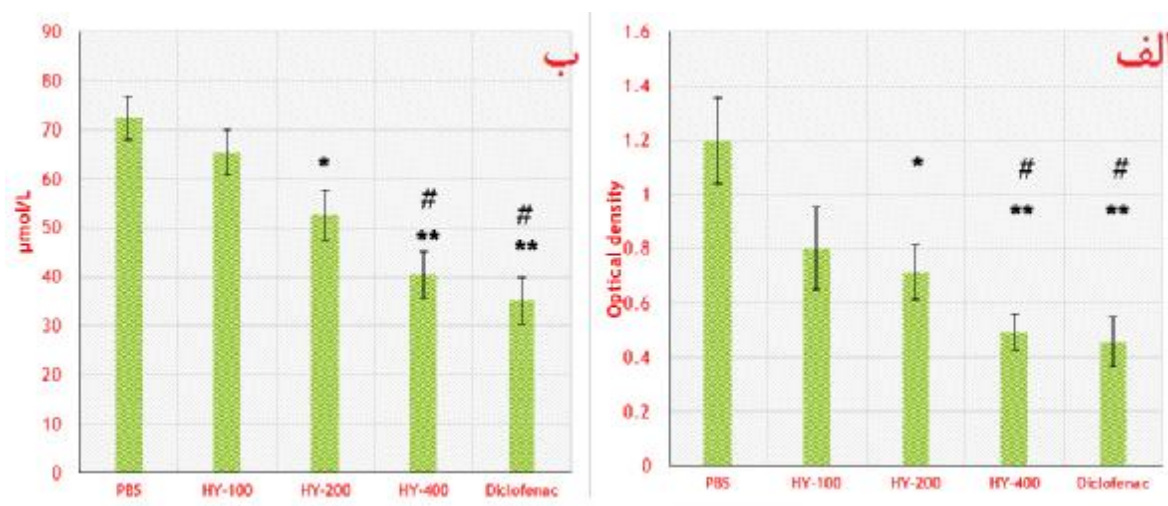
مطابق نمودار ۳، به نظر می‌رسد که پیش‌درمانی موش‌های مبتلا شده با عصاره هیدرو الکی علف چای موجب کاهش معنی‌دار تولید IL-6 و TNF- $\alpha$  شده است. بر این اساس سطح IL-1 در موش‌های مبتلا و دریافت‌کننده دیکلوفناک به میزان ۸۰ درصد و در موش‌های مبتلا و دریافت‌کننده عصاره در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب به میزان ۲۵، ۳۵ و ۴۱ درصد نسبت به موش‌های گروه سالم کاهش یافت. کاهش سطح TNF- $\alpha$  نیز به ترتیب در موش‌های مبتلا و دریافت‌کننده دیکلوفناک و عصاره به میزان ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به میزان نسبت به موش‌های گروه سالم کاهش یافت. البته سطح IL-6 در موش‌های مبتلا و دریافت‌کننده دیکلوفناک به میزان ۲۶ درصد و در موش‌های دریافت‌کننده عصاره در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب به میزان ۴۳، ۵۴ و ۷۱ درصد نسبت به موش‌های گروه سالم کاهش یافت. آنالیز آماری مشخص کرد که در کاهش اینترلوکین ۱ بین دوزهای مختلف عصاره تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما کاهش TNF- $\alpha$  و اینترلوکین ۶ به صورت کاملاً وابسته به دوز عصاره هیدروالکی علف چای صورت گرفته است. به علاوه نمودار ۳ نشان داد که در زمینه کاهش سطح تولید TNF- $\alpha$  و اینترلوکین ۱، دیکلوفناک قوی‌تر از دوزهای مختلف عصاره عمل کرده است. با این حال در زمینه کاهش تولید اینترلوکین ۶، عصاره هیدرو الکی به خصوص در دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت مؤثرتری عمل کرده است.

نشان داد که شدت انفجار تنفسی در دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره هیدرو الکی گیاه علف چای هیچ تفاوت معنی‌داری با داروی دیکلوفناک ندارد (نمودار ۲الف).

نیتریک اکسید از اکسیداسیون درون سلولی ال - آرژینین به وسیله نیتریک اکسید سنتتازها تولید می‌شود. اکسید نیتریت به شدت ناپایدار است و در اثر اکسیداسیون به نیترات و نیتریت تبدیل می‌شود که می‌توان مقدار آن را به روش رنگ سنجی گریس تعیین نمود. نتایج نشان داد که دیکلوفناک منجر به کاهش ۵۱ درصدی در نیتریک اکساید موجود در لاواژ صفاقی نسبت به موش‌های مبتلا شده از موش‌های شاهد شد. میزان نیتریک اکساید لاواژ صفاقی در موش‌های دریافت‌کننده عصاره در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب به میزان ۹، ۳۷ و ۴۴ درصد نسبت به موش‌های گروه شاهد کاهش یافته است. آنالیز آماری مشخص کرد که عصاره هیدروالکی گیاه علف چای در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منجر به تغییر معنی‌داری در سطح تولید نیتریک اکسید نشد (نمودار ۲ب). تولید نیتریک اکسید به طور معنی‌داری در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره هیدرو الکی و همچنین داروی دیکلوفناک کاهش می‌یابد. در اینجا به نظر می‌رسد که شدت کاهش تولید نیتریک اکساید در حین استفاده از دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره هیدرو الکی گیاه علف چای هیچ تفاوت معنی‌داری با داروی دیکلوفناک ندارد (نمودار ۲-ب).

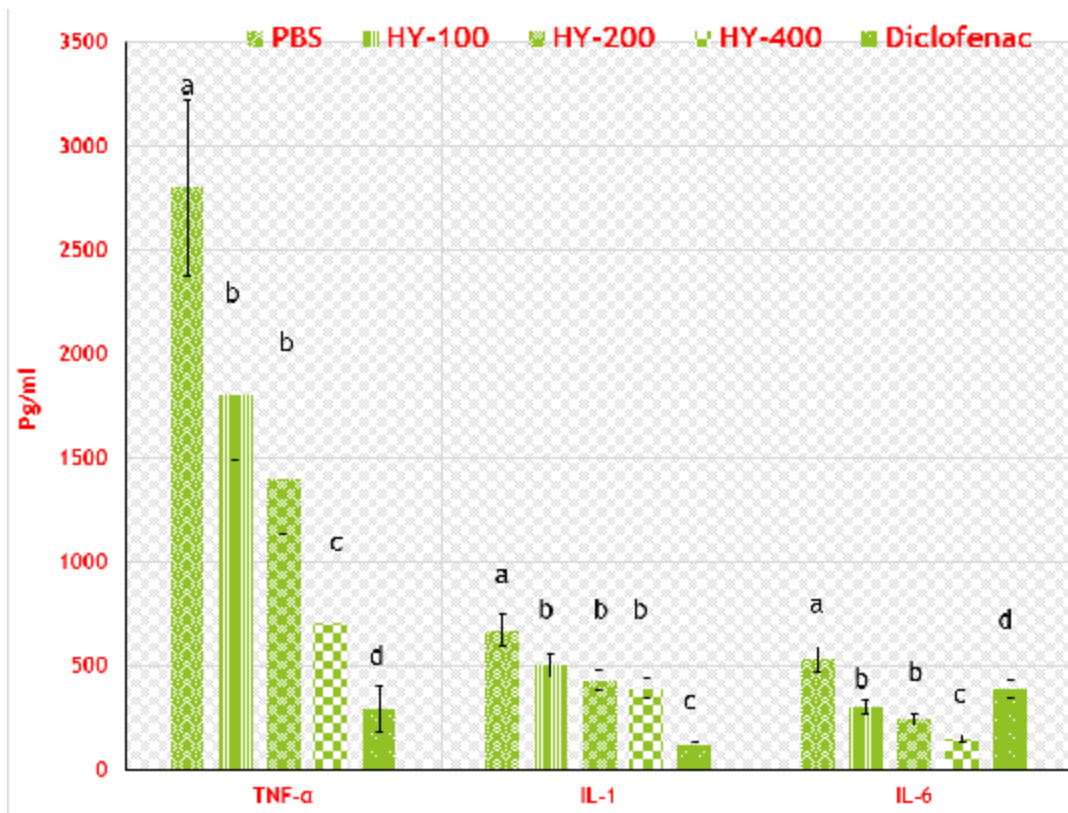


نمودار ۱. الف) ارزیابی تعداد کلی سلول‌های ارتشاح یافته به صفاق موش‌های سالم و مبتلا به پریتونیت. ب) ارزیابی تغییرات نسبت نوتروفیل به مونوسیت در سلول‌های استحصال‌ی از لاول صفاق موش‌های سالم و مبتلا به پریتونیت. \* و \*\* به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح  $p < 0.01$  و  $p < 0.001$  نسبت به موش‌های مبتلا و بدون درمان می‌باشد. # نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح  $p < 0.01$  نسبت به سایر گروه‌ها می‌باشد (PBS: گروه مبتلا به پریتونیت و درمان شده با پلاسبو، HY-100، HY-200، HY-400: گروه مبتلا به پریتونیت و درمان شده با عصاره هیدروالکی علف چای در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، Diclofenac: گروه مبتلا به پریتونیت و درمان شده با دیکلوفناک با دوز ۱۰ mg/kg).



نمودار ۲. الف) ارزیابی شدت انفجار تنفسی در سلول‌های استحصال‌ی از لاول صفاق موش‌های مبتلا به پریتونیت. ب) ارزیابی میزان تولید نیتریک اکسید در مایع رویی لاول صفاق موش‌های مبتلا به پریتونیت. \* و \*\* به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح  $p < 0.01$  و  $p < 0.001$  نسبت به موش‌های مبتلا و بدون درمان می‌باشد. # نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح  $p < 0.01$  نسبت به موش‌های دریافت‌کننده عصاره به میزان ۱۰۰ و یا ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد (PBS: گروه مبتلا به پریتونیت و درمان شده با پلاسبو، HY-100، HY-200، HY-400: گروه مبتلا به پریتونیت و درمان شده با عصاره هیدروالکی علف چای در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، Diclofenac: گروه مبتلا به پریتونیت و درمان شده با دیکلوفناک با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم).





نمودار ۳. ارزیابی میزان تولید سایتوکاینها در مایع رویی لاواژ صفاق موش‌های مبتلا به پریتونیت. حروف غیر همسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح می‌باشد ( $P < 0.05$ ). گروه مبتلا به پریتونیت و درمان شده با پلاسبو، HY-100، HY-200، HY-400: گروه مبتلا به پریتونیت و درمان شده با عصاره هیدروالکلی علف چای در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، Diclofenac: گروه مبتلا به پریتونیت و درمان شده با دیکلوفناک با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم).

## بحث

علف چای، میزان تولید آنتی‌بادی اختصاصی علیه گویچه‌های قرمز گوسفندی افزایش یافته و همچنین شدت پاسخ‌های ایمنی سلولی به صورت شدت واکنش از دیاد حساسیت تأخیری و همچنین میزان تکثیر لنفوسیت‌های T در جمعیت سلول‌های طحالی کاهش یافته است. بنابراین به نظر می‌رسد که تجویز عصاره هیدروالکلی گیاه علف چای موجب کاهش فعالیت‌های ایمنی سلولی و افزایش پاسخ‌های ایمنی هومورال می‌شود (۱۵).

بیماری‌های التهابی همواره به عنوان یک چالش در زندگی انسانها مطرح بوده اند. داروهای ضدالتهابی در دسترس به دلیل عوارض بالا و سایر مشکلات ممکن است که همیشه در همه موارد مفید نباشند. در همین راستا امروزه توجه زیادی به گیاهان دارویی شد (۱۷). در ارتباط با اثرات تعدیل‌کننده ایمنی گیاه علف چای، به وسیله ابطی و همکاران (۲۰۱۵) مطالعه‌ای صورت گرفته است. در این مطالعه نشان داده شده است که در موش‌های تحت تیمار با عصاره

تحقیق‌های قبلی در شرایط برون تنی مشخص کرده است که ترکیب‌های موجود در گیاه علف چای از قبیل هایپر فورین میزان بیان ژن‌های سیکلوژناز در مونسیت ماکروفاژها کاهش می‌یابد (۱۸). همچنین مشخص شده است که عصاره گیاه علف چای موجب مهار فعالیت آنزیم‌های سیکلوآکسیژناز و ه‌لیپوآکسیژناز خالص شده می‌گردد (۲۰). فرآورده‌های آنزیم سیکوآکسیژناز و لیپوآکسیژناز نقش اساسی و مهمی را در راه اندازی واکنش‌های التهابی و فراخوانی سلول‌های ایمنی به محل بافت ملتهب از طریق تولید پروستانوئیدها و لکوترین‌ها بازی می‌کنند (۱۹ و ۵). یکی از اولین مظاهر التهاب فراخوانی سلول‌های التهابی است (۵). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در شرایط پریتونیت القا شده توسط زیموزان، عصاره‌های هیدروآلکی و همچنین دیکلوفناک، منجر به کاهش معنی‌دار در میزان ارتشاح سلول به داخل صفاق شده است. با این حال به نظر نمی‌رسد که تفاوت معنی‌داری بین عملکرد عصاره‌های هیدروآلکی و همچنین داروی دیکلوفناک وجود داشته باشد. همچنین بر اساس نتایج به دست آمده، به نظر نمی‌رسد که عملکرد عصاره در کاهش تعداد سلول‌های ورودی به بافت ملتهب به صورت وابسته به دوز باشد. با وجود این که عصاره هیدروآلکی منجر به کاهش تعداد کلی سلول‌های وارد شده به صفاق شد، ولی بر روی نسبت نوتروفیل به مونسیت‌ها تأثیر خاصی نداشت. در عین حال به نظر

می‌رسد برخلاف عصاره‌های هیدروآلکی دیکلوفناک منجر به ورود انتخابی‌تر سلول‌های مونسیت به داخل صفاق می‌گردد. احتمالاً دیکلوفناک با تغییر تأثیرگذاری بر روی بروز مولکول‌های چسبان یا تغییر بروز الگوهای کموکاینی تولید شده به وسیله سلول‌های اندوتلیال منجر به تغییر ترافیک سلولی شده است.

نابودسازی یک عامل عفونی به وسیله سلول‌های ایمنی ذاتی به همکاری بخش‌های لیزوزومی و همچنین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن مرتبط می‌باشد (۲۱ و ۲۰). تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن در ایجاد و گسترش آسیب‌های بافتی ایجاد شده در طی یک فرآیند حاد التهابی نقش زیادی بازی می‌کند، به طوری که بسیاری از علایمی که در مدل‌های التهابی حاد از قبیل پریتونیت مشاهده می‌شود ناشی از تولید لجام‌گسیخته و مضر واسطه‌های التهابی، از قبیل؛ رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتریک اکسید خواهد بود (۴). بر اساس نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد که تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و همچنین نیتریک اکسید، به طور معنی‌داری در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ از عصاره هیدروآلکی و همچنین داروی دیکلوفناک کاهش می‌یابد. نتایج به دست آمده همچنین نشان داد که کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن در دوز ۴۰۰ از عصاره هیدروآلکی گیاه علف چای هیچ تفاوت معنی‌داری با داروی دیکلوفناک ندارد، از

جمعیت سلول‌های طحالی موش‌های ایمن شده با گویچه‌های قرمز گوسفند نیز پرداخته شده است. در این مطالعه نشان داده شده است که استفاده از عصاره هیدروالکی منجر به کاهش تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی اینترلوکین ۱۷ و اینترفرون گاما و سایتوکاین التهابی اینترلوکین ۶ شده است. سطح اینترلوکین ۱۰ به عنوان یک عامل ضدالتهابی کاهش معنی‌داری نشان نداد. هرچند که نسبت اینترفرون گاما به اینترلوکین ۱۰ و اینترلوکین ۱۷ به اینترلوکین ۱۰ به‌طور معنی‌داری به نفع اینترلوکین ۱۰ تغییر یافت (۱۵). ارزیابی ما در رابطه با تولید سیتوکین‌های التهابی نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار تولید اینترلوکین ۱ و اینترلوکین ۶ و  $TNF-\alpha$  به وسیله روش‌های درمانی ما بود. کاهش  $TNF-\alpha$  و اینترلوکین ۶ به صورت کاملاً وابسته به دوز در رابطه با عصاره هیدروالکی علف چای صورت گرفت. البته در کاهش اینترلوکین ۱ بین دوزهای مختلف عصاره تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در زمینه کاهش تولید  $TNF-\alpha$  و اینترلوکین ۱ به نظر می‌رسد که دیکلوفناک قوی‌تر از دوزهای مختلف عصاره عمل کرده است. در گذشته نیز نشان داده شده است که فلاونوئیدهای موجود در گیاه همراه با سودوهایپیرسین و هایپرفورین موجود، موجب مهار واسطه‌های التهابی از قبیل اینترلوکین ۱ و  $TNF-\alpha$  می‌شوند (۹). هرچند که در زمینه کاهش تولید اینترلوکین ۶ عصاره هیدرو الکی به‌خصوص در دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت مؤثرتری عمل

این جهت تأثیر عصاره گیاهی قابل مقایسه با دیکلوفناک می‌باشد. در همین راستا نشان داده شده است که میزان شدت انفجار تنفسی در سلول‌های فاگوسیت‌کننده طحالی در موش‌های دریافت‌کننده عصاره علف چای و تیمار شده با گویچه‌های قرمز گوسفندی در مقایسه با موش‌هایی که تنها با گویچه‌های قرمز گوسفندی ایمن شده بودند، کاهش معنی‌داری یافته است (۱۵).

در گذشته نشان داده شده است که هایپرفورین قادر به تعدیل تولید نیتریک اکسید در سلول‌های میکروگلیا و ماکروفاژ می‌باشد. همچنین هایپرفورین، قادر به کاهش میزان فاگوسیتوز زیموزان به وسیله سلول‌های ماکروفاژ به میزان ۴۰-۲۰ درصد از طریق کاهش مانوز-رسپتور و تعدیل حرکت سلولی می‌باشد (۱۸). بنابراین ممکن است که قسمتی از کاهش میزان تولید نیتریک اکسید و انفجار تنفسی و همچنین تغییر در حضور سلول‌ها که ما در این مطالعه مشاهده کردیم به دلیل تأثیر هایپرفورین موجود در عصاره هیدرو الکی و از طریق مشابه با مکانیسم گزارش شده در مطالعه یادشده باشد.

همچنین مشخص شده است که فلاونوئیدها و بسیاری از ترکیب‌های دیگر موجود در گیاه، خاصیت آنتی‌اکسیدانته دارند (۲۳ و ۲۲). این مسئله ممکن است که تا حدودی اثرات کاهنده تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن به وسیله عصاره را توجیه کند.

در تحقیقی که به وسیله ابطحی و همکاران صورت گرفته به ارزیابی پاسخ‌های سیتوکاینی در

کرده است. به نحو جالب توجهی در مطالعه‌های گذشته نیز ذکر گشته است که عمده اثرات ضدافسردگی این گیاه مربوط به کاهش سطح اینترلوکین ۶ در مغز مبتلایان به افسردگی بوده است (۲۴ و ۱۰). در اینجا نیز مزیت عصاره هیدروالکی نسبت به داروی دیکلوفناک در کاهش اینترلوکین ۶ مشاهده شد. در گذشته نیز به وسیله محمودی و همکاران مطالعه‌ای در رابطه با اثرات ضدالتهابی و ضد دردی گیاه علف چای در مدل ایجاد ادم به وسیله کاراژینان و ضد دردی به وسیله فرمالین و صفحه داغ انجام شده است. بر این اساس محققین گزارش کرده‌اند که عصاره گیاه علف چای با دوزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثر مشابهی در کاهش ادم ایجادشده به وسیله کاراژینان، در مقایسه با داروی ضدالتهاب استاندارد دیکلوفناک در دوز ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم نشان داده است. در آزمون فرمالین نیز گیاه علف چای به طور معنی‌داری موجب کاهش شدت درد شده بود (۲۵). همچنین نشان داده شده است که ماکروفاژهای تیمار شده با برخی از اجزای عصاره گیاه علف چای از قبیل سودوهایپرسین، آمنوفلاون و کوئرستین منجر به کاهش بیان آنزیم سیکلوژناز ۲ و تولید نیتریک اکسید پس از تحریک با LPS می‌شود. کاهش سطح سیتوکاین‌های اینترلوکین ۶،  $TNF-\alpha$  و اینترلوکین ۱ بتا نیز در ماکروفاژهای تحریک‌شده با LPS و تحت تیمار با کوئرستین گزارش شده است (۲۶ و ۲۷).

در نهایت ذکر این نکته لازم است که میزان LD50 در مورد سمیت حاد عصاره گیاه علف چای در مطالعه‌های گذشته در صورت تجویز داخل صفاقی ۱۱۱۱/۴۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم در موش سوری تعیین شده است (۲۵). دوزهای استفاده‌شده در این مطالعه به مراتب از سطح قابل ایجاد مسمومیت کمتر بوده است. با توجه به یافته‌های این تحقیق به خوبی مشخص است که استفاده از عصاره هیدروالکی علف چای به صورت قابل مقایسه با داروی استاندارد دیکلوفناک، به عنوان یک ضد التهاب غیر استروئیدی عمل کرده و منجر به کاهش التهاب حاد می‌گردد.

#### نتیجه‌گیری

در مجموع یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که عصاره هیدروالکی گیاه علف چای می‌تواند به عنوان یک منبع طبیعی برای کنترل التهاب از طریق تأثیرگذاری بر عملکردهای سلول‌های ایمنی ذاتی به کار رود.

#### تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه دکتری حرفه‌ای دامپزشکی بوده که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه انجام شده است. نویسندگان این مقاله از کارشناس محترم آزمایشگاه ایمنی شناسی دانشکده دامپزشکی، اصغر علیاری کمال تشکر را دارند.

## REFERENCES

1. Kratofil RM, Kubes P, Deniset JF. Monocyte trafficking in acute and chronic inflammation. *Trends Immunol* 2016; 32(10): 470–7.
2. Ajuebor MN, Flower RJ, Hannon R, Christie M, Bowers K, Verity A, et al. Endogenous monocyte chemoattractant protein-1 recruits monocytes in the zymosan peritonitis model. *J Leukoc Biol* 1998; 63(1): 108-16.
3. Carlo T, Levy BD. Molecular circuits of resolution in airway inflammation. *Scientific World J* 2010; 10: 1386-99.
4. Cash JL, White GE, Greaves DR. Zymosan-induced peritonitis as a simple experimental system for the study of inflammation. *Methods Enzymol* 2009; 461: 379-96.
5. Sheldon IM, Owens SE, Turner ML. Innate immunity and the sensing of infection, damage and danger in the female genital tract. *J Reprod Immunol* 2016; S0165-0378(16): 30027-4.
6. Yang J, Zhang L, Yu C, Yang XF, Wang H. Monocyte and macrophage differentiation: circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. *Biomark Res* 2014; 2: 1.
7. Sen T, Samanta SK. Medicinal plants, human health and biodiversity: a broad review. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2015; 147: 59-110.
8. Sofowora A, Ogunbodede E, Onayade A. The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2013; 10(5): 210-29.
9. Huang N, Singh N, Yoon K, Loiacono CM, Kohut ML, Birt DF. The immuno-regulatory impact of orally-administered hypericum perforatum extract on balb/c mice inoculated with h1n1 influenza a virus. *PLoS One* 2013; 8: e76491.
10. Oliveira AI, Pinho C, Sarmiento B, Dias AC. Neuroprotective activity of Hypericum perforatum and its major components. *Front Plant Sci* 2016; 7: 1004.
11. Ben-Eliezer D, Yechiam E. Hypericum perforatum as a cognitive enhancer in rodents: A meta-analysis. *Sci Rep* 2016; 6: 35700.
12. Ni J, Moulin P, Gianello P, Feron O, Balligand JL, Devuyst O. Mice that lack endothelial nitric oxide synthase are protected against functional and structural modifications induced by acute peritonitis. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 3205–16.
13. Ni J, Verbavatz JM, Rippe A. Aquaporin-1 plays an essential role in water permeability and ultrafiltration during peritoneal dialysis. *Kidney Int* 2006; 69: 1518–25.
14. Rosengren BI, Rippe A, Rippe C, Venturoli D, Sward K, Rippe B. Transvascular protein transport in mice lacking endothelial caveolae. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: H1371–7.
15. Abtahi Froushani SM, Esmaili gouvarchin Galee H, Khamisabadi M, Lotfallahzade B. Immunomodulatory effects of hydroalcoholic extract of Hypericum perforatum. *Avicenna J Phytomed* 2015; 5(1): 62-8.
16. Shahmoradi M, Khezri SH, Abtahi Froushani SM. The Effects of Nicotine on the Stimulation of the Cholinergic System and Immune Responses Changes in Animal Models of Multiple Sclerosis. *rmaghane-danesh* 2016; 21 (3): 212-224.
17. Jesuthasan AS, Uluwaduge DI. Ethnobotanics used in folk medicine of Tamil culture in Sri Lanka: a scientific review. *J Integr Med* 2017; 15(1): 19-26.
18. Kraus B, Wolff H, Elstner EF, Heilmann J. Hyperforin is a modulator of inducible nitric oxide synthase and phagocytosis in microglia and macrophages. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2010; 381(6): 541-53.
19. Albert D, Zündorf I, Dinger mann T, Müller WE, Steinhilber D, Werz O. Hyperforin is a dual inhibitor of cyclooxygenase-1 and 5-lipoxygenase. *Biochem Pharmacol* 2002 15; 64(12): 1767-75.
20. Esmaili Gouvarchin galeh H, Delirezh N, Abtahi Froushani SM, Afzale Ahangaran N. Calcitriol modulates the effects of the supernatants of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on neutrophil functions. *Turk J Biol* 2014; 38: 365-370.
21. Mansouri Motlagh B, Afzale Ahangaran N, Abtahi Froushani SM. Calcitriol modulates the effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on macrophage functions. *Iran J Basic Med Sci* 2015; 18: 672-6.
22. 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): e31326.

23. Saddiqe Z, Maimoona A, Abbas G, Naeem I, Shahzad M. Pharmacological screening of *Hypericum androsaemum* extracts for antioxidant, anti-lipid peroxidation, antiglycation and cytotoxicity activity. *Pak J Pharm Sci* 2016; 29(2): 397-405.
24. Canning S, Waterman M, Orsi N, Ayres J, Simpson N, Dye L. The efficacy of *Hypericum perforatum* (St John's wort) for the treatment of premenstrual syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *CNS Drugs* 2010; 24(3): 207-25.
25. Mahmoudi M, Javanmardi A, Semnani K, Saeedi M. The anti-inflammatory, anti-nociceptive, acute toxicity and determination of hypericine on *Hypericum perforatum*. *Journal of Babol University of Medical Science* 2016; 8(4): 7-14.
26. Huang N, Rizshsky L, Hauck CC, Nikolau BJ, Murphy PA, Birt DF. The inhibition of lipopolysaccharide-induced macrophage inflammation by 4 compounds in *Hypericum perforatum* extract is partially dependent on the activation of SOCS3. *Phytochemistry* 2012; 76: 106-16.
27. Huang N, Rizshsky L, Hauck C, Nikolau BJ, Murphy PA, Birt DF. Identification of anti-inflammatory constituents in *Hypericum perforatum* and *Hypericum gentianoides* extracts using RAW 264.7 mouse macrophages. *Phytochemistry* 2011; 72(16): 2015-23.

# The effects of hydro- alcoholic extract of *Hypericum perforatum* on cell migration and inflammatory mediators production in acute peritonitis induced by Zymosan in NMRI mice

Ghasemi SH, Abtahi Froushani SM<sup>\*</sup>, Ownagh A

Department of Microbiology, Veterinary Faculty, Urmia University, Urmia, Iran.

Received: 26 Oct 2016 Accepted: 13 Feb 2017

## Abstract

**Background and aim:** Zymosan-induced peritonitis model can use to study the recruitment of monocytes and neutrophils into the peritoneal cavity and to study the effects of existing and novel anti-inflammatory drugs. This study was conducted to evaluate the effects of hydroalcoholic extract of *Hypericum Perforatum* on acute peritonitis induced by Zymosan in NMRI mice.

**Methods:** Fifty male NMRI mice were randomly allocated in 10 equal groups and treated with 0, 100, 200 or 400 mg/kg of hydroalcoholic extract of *H. Perforatum* and or 10mg/kg diclofenac 1 hours before the induction of peritonitis. To induce peritonitis, each mouse intraperitoneally received 10 µg of zymosan in 0.4 ml of saline. After 48 h, the peritoneal cavity was lavaged by 5 ml of cold PBS and the isolated cells were used to evaluate cell differential count, nitric oxide production and severity of respiratory burst. Statistical data tests were analyzed using the Kruskal-Wallis test, Mann-Whitney and Bonferroni adjustment.

**Results:** The data showed that the nitric oxide and respiratory burst which was produced from exudate cells by peritoneal lavage in mice that received *H. Perforatum* at doses of 200 and 400 mg/kg or diclofenac compared to mice received normal saline were reduced. Total cell number in peritoneal cavity significantly decreased in all treatment group. However, no significant difference was observed between treatment groups with *Hypericum perforatum* extract. Using diclofenac or hydroalcoholic extract of *H. Perforatum* caused a significant decrease in the levels of TNF-α, IL-1 and IL-6. Diclofenac caused more profound reduction in the levels of TNF-α, IL-1 compared to extract. Nevertheless, the level of IL-6 was indicated a significant decrease in mice with peritonitis received hydroalcoholic extract especially in dose 400 mg/kg compared to mice with peritonitis received diclofenac.

**Conclusion:** In total it seems that the hydroalcoholic extract of *H. Perforatum* may be a suitable as natural source to control inflammation caused by acute peritonitis.

**Keywords:** Peritonitis, Zymosan, *Hypericum perforatum*

---

**Corresponding author:** Abtahi Froushani SM, Department of Microbiology, Veterinary Faculty, Urmia University, Urmia, Iran

**Email:** [meysamabtahi@hotmail.com](mailto:meysamabtahi@hotmail.com)

## Please cite this article as follows:

Ghasemi SH, Abtahi Froushani SM, Ownagh A. The effects of hydro- alcoholic extract of *Hypericum perforatum* on cell migration and inflammatory mediators production in acute peritonitis induced by Zymosan in NMRI mice. *Armaghane-danesh* 2017; 21 (10): 1041-1055.