



## بررسی اثرات عصاره هیدروالکلی گیاه اسپند بر میزان سطوح پارامترهای سرمی تیروئید و تغییرات هیستوپاتولوژی غده تیروئید در موش صحرایی ماده

مجید محرمی فر<sup>۱</sup>، علی محمد عینی<sup>۲\*</sup>، نازیلا وحیدی<sup>۳</sup>، مهدی احمدی فر<sup>۴</sup>، ناصر کلهر<sup>۵</sup>، محمدمهدی غلام بابائیان<sup>۶</sup>

### چکیده

مقدمه: اسپند با نام علمی *Peganum harmala* دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدقارچی، ضدسرطانی، ضدباکتریایی و موارد متعدد دیگری می‌باشد که به علت وجود آکالوئیدهای بتاکربولین و برخی فلاونوئیدها می‌باشد که در این مطالعه ما به بررسی اثرات این گیاه بر روی سیستم آندوکرینی (غده تیروئید) به صورت هیستوپاتولوژیکی و سنجش سرمی پرداخته شده است. روش بررسی: این پژوهش یک مطالعه تجربی است که در مرکز تحقیقات جهاد دانشگاهی استان قم تحت نظر چند تن از اعضا نظام دامپزشکی استان قم انجام گرفت. عصاره اندام هوایی گیاه جمع‌آوری شده در فصل اردیبهشت بر روی ۶۴ سر موش صحرایی بزرگ شامل چهار گروه کنترل و سه گروه تجربی مورد تیمار عصاره با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت شصت روز به صورت خوراکی و محلول در آب مورد آزمایش قرار گرفت که پس از خونگیری سطوح سرمی پارامترهای تیروئیدی و بافت تیروئید مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند. نتایج: عصاره گیاه اسپند در دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هورمون محرک تیروئید و در دوزهای ۴۰۰ هورمون تیروکسین و تری‌یود و تیرونین را به طور معنی‌داری کاهش داد ( $p < 0.05$ ) و در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم هیچگونه تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین میزان میانگین وزن گروه‌های ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب کاهش و افزایش معنی‌داری داشته است ( $p < 0.05$ ). نتیجه‌گیری: از گیاه اسپند می‌توان در انجام تحقیقات تکمیلی هیپرتیروئیدیسم و عوارض ناشی از آن استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: گیاه اسپند، غده تیروئید، هورمون‌های تیروئیدی

۱- کارشناس ارشد گروه علوم دامی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شبستر، شبستر، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه بافت شناسی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۳- کارشناسی ارشد گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان، ایران

۴- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه فیزیولوژی، دانشگاه علم و فرهنگ، تهران، ایران

۵،۶- کارشناس ارشد گروه ژنتیک، مرکز تحقیقات جانوری، جهاد دانشگاهی، واحد قم، قم، ایران

\* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۸۴-۳۲۹۳۹۰۲۵، پست الکترونیکی: ali.meini@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۷/۲۴

## مقدمه

حفظ هموستاز بدن نکته کلیدی در سلامت انسان است که به وسیله عوامل متعددی به ویژه محور هورمونی هیپوفیز- تیروئید کنترل می‌شود به طوری که کم کاری‌ها و پرکاری‌های تیروئید ضمن اختلال در سلامت بدن هزینه‌های زیادی را بر بیمار تحمیل می‌کند که در بسیاری از موارد امکان درمان آنها وجود ندارد (۱).

گیاهان دارویی برای قرن‌ها به عنوان دارو برای بیماری‌های انسانی و حیوانی استفاده شده است. آنها دارای بسیاری از ترکیبات شیمیایی دارویی فعال، عوامل آنتی‌باکتریالی و ضدقارچی هستند (۲،۳).

اسپند متعلق به خانواده زیگوفیلایا دارای ارتفاعی به طول حدود ۳۰ تا ۵۰ سانتی‌متر است، ظاهر آن بوته مانند، دارای برگ‌های سبز با تقسیمات باریک و دراز و نامنظم است. گل‌های آن درشت و دارای کاسبرگ نازک و گلبرگ بزرگ به رنگ سفید مایل به سبز، میوه آن پوشینه و حاوی دانه‌های متعدد به رنگ سیاه است و نشان داده است که دارای طیف متنوعی از خواص دارویی می‌باشد (۲).

تعداد زیادی آلكالوئیدهای بتاکربولین مانند: هارمالین، هارمین، هارمالول و هارمول در عصاره اسپند حضور دارند (۴). ترکیبات اصلی این گیاه آلكالوئیدهای کاربولین مانند: هارمین، هارمالین، هارمالول، هارمان، واسالین و واسیستون هستند. آلكالوئیدهای اسپند یک طیف وسیعی از فعالیت‌های دارویی از جمله مهار رسوب پلاکت‌ها (۵)، مهار مونو آمین اکسیداز، اثر ضداضطرابی و رفتاری و تأثیرات تقویت کننده سیستم ایمنی را دارند (۶).

برخی از آلكالوئیدهای گیاه اسپند روند تولید نوروترانسمیترهای دوپامین و سروتونین را به صورت وابسته به دور تحریک می‌کند (۷). مهمترین عامل کنترل سنتز و ترشح هورمون‌های تیروئیدی به وسیله اثر تنظیمی محور هورمونی هیپوتالاموس هیپوفیز اعمال می‌گردد. هورمون محرک تیروئید که از هیپوتالاموس آزاد می‌شود بر روی بخش قدامی هیپوفیز اثر گذاشته و باعث ترشح هورمون محرک تیروئید می‌گردد (۸). با

این حال، گزارش شده که اسپند شامل برخی از فلاونوئیدها است (۹،۱۰). هدف از این مطالعه بررسی اثرات عصاره کل گیاه اسپند بر میزان سطح پارامترهای تیروئیدی سرمی و نیز بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیکی غده تیروئید می‌باشد.

## روش بررسی

این پژوهش یک مطالعه تجربی است که در سال ۱۳۹۱ در مرکز تحقیقات جهاد دانشگاهی استان قم انجام گرفت. در این تحقیق از ۶۴ سر موش صحرایی ماده بالغ با وزن  $10 \pm 250$  گرم استفاده شد. نمونه‌ها به ۴ گروه ۸ تایی، شامل یک گروه کنترل سالم و سه گروه تجربی با غلظت‌های (۱۰۰ و ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) تقسیم‌بندی شدند.

تمام پارامترهای این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام شد و تحت نظارت اعضاء نظام دامپزشکی استان قم انجام شد.

در اردیبهشت ماه به میزان مورد نیاز کل گیاه اسپند (در فصل گلدهی) از منطقه اطراف قم منطقه تفرش جمع‌آوری شد.

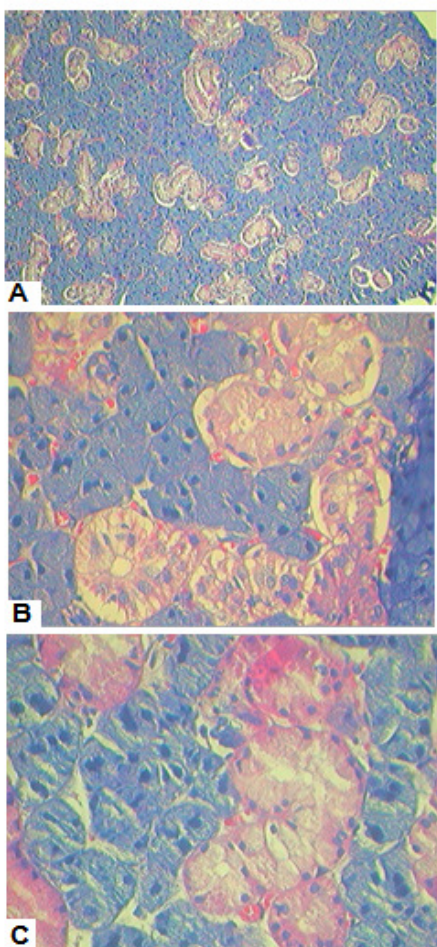
مقدار ۵۰۰ گرم از پودر کل گیاه شامل (گل، ساقه، برگ، دانه) در متانول خالص به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق به دور از نور خورشید خیسانده شد. پس از صاف کردن محلول با کاغذ صافی واتمن شماره یک با دستگاه روتاری در شرایط خلا حلال از عصاره خارج گردید.

گروه‌های تجربی غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره خشک شده گیاه را به صورت خوراکی و محلول در آب دریافت نمودند. پس از گذشت ۲ ماه با بهبودی خفیف حیوانات به وسیله فنوباربتال خونگیری از قلب انجام شد و پس از سانتریفیوژ، سرم‌های نمونه‌ها جمع‌آوری گردید و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌های تهیه شده به منظور اندازه‌گیری میزان هورمون TSH, T3, T4 به روش فوتومتریک مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه‌های غده تیروئید حیوانات تیمار شده نیز در فرمالین نگهداری و جهت تهیه مقطع میکروسکوپی به آزمایشگاه ارسال گردید.

## نتایج

نتایج حاصل بیانگر آن است که سطوح سرمی هورمون محرک تیروئید در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب ( $0/02 \pm 0/14$ ،  $0/04 \pm 0/12$ ) میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) نسبت به گروه‌های کنترل ( $0/18 \pm 0/18$ ) کاهش معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0/05$ ). در حالی که در گروه دریافت‌کننده دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین پس از اندازه‌گیری سطوح سرمی هورمون‌های تیروکسین و تری‌یدوتیرونین مشخص شد. میزان هورمون‌های فوق در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه‌های کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0/05$ ). در بررسی‌های انجام شده از نمونه‌های بافتی مشخص گردیده که گروه‌های مورد تیمار با غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل تغییرات ساختاری در اندازه فولیکول‌های ذخیره‌کننده هورمون در سطح غده تیروئید دارد که احتمالاً همین امر باعث کاهش میزان سطوح هورمون‌های تیروئیدی می‌باشد (تصویر ۱).

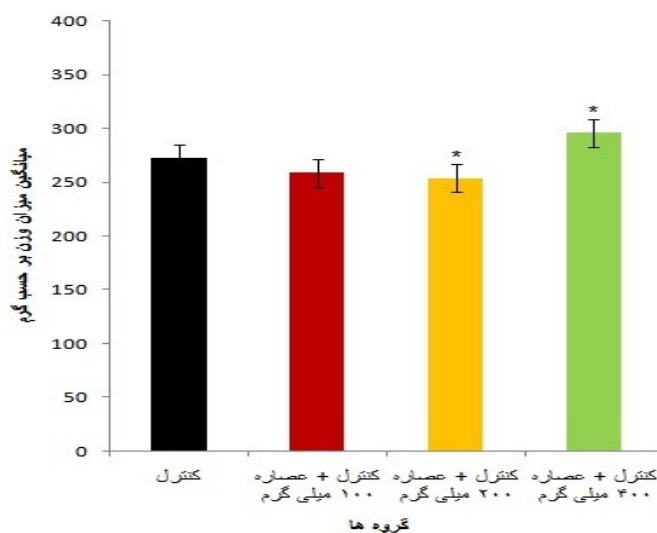
این نتایج نشان می‌دهد که غلظت هورمون تیروکسین با افزایش دوز عصاره دریافتی کاهش یافته است. تری‌یدوتیروئین در موش‌های مورد بررسی کاهش یافته است ( $p < 0/05$ ). همچنین میزان اوزان گروه‌ها نیز مورد ارزیابی قرار گرفت که میزان وزن گروه‌های مورد تیمار با غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری داشت ( $p < 0/05$ ) (جدول ۲) (نمودار ۱).



تصویر ۱ (A) نمایی از بافت سالم تیروئید با بزرگنمایی (×۴۰). (B) بافت تیروئید با تیمار غلظت و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم که فولیکول‌های ذخیره‌کننده و سلول‌های اطراف در حد معنی‌داری تحلیل رفته‌اند و از نظر شکل ظاهری تغییرات چشمگیری را داشته‌اند. با بزرگنمایی (×۲۰۰). (C) بافت تیروئید سالم اندازه فولیکول‌ها و سلول‌های اطراف طبیعی بوده و میزان هورمون ذخیره شده در فولیکول به وضوح مشخص است. با بزرگنمایی (×۲۰۰).

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار غلظت سرمی هورمون‌های تیروئیدی در گروه‌های مورد آزمایش

گروه	هورمون محرک تیروئید (میکروگرم بر دسی لیتر) (میانگین ± انحراف معیار)	هورمون تیروکسین (میکروگرم بر دسی لیتر) (میانگین ± انحراف معیار)	هورمون تری‌یدوتیروئین (میکروگرم بر دسی لیتر) (میانگین ± انحراف معیار)
کنترل	$0/18 \pm 0/18$	$1/2 \pm 3/11$	$0/21 \pm 1/07$
تیمار با غلظت ۱۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	$0/02 \pm 0/14$	$0/48 \pm 2/39$	$0/07 \pm 0/71$
تیمار با غلظت ۲۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	$0/9 \pm 0/18$	$0/38 \pm 2/11$	$0/11 \pm 0/63$
تیمار با غلظت ۴۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	$0/04 \pm 0/12$	$0/36 \pm 1/78$	$0/22 \pm 0/59$



نمودار ۱: میانگین وزن گروه کنترل در مقایسه با گروه های مورد آزمایش

### بحث

نفرین) و ایندول آمینی افزایش می‌یابد (۱۱) و از آنجا که سروتونین به عنوان یک نورو ترانسمیتر بازدارنده در ترشح هورمون آزادکننده تیروتروپین مطرح می‌باشد، لذا عصاره گیاه اسپند با افزایش میزان سروتونین باعث کاهش ترشح هورمون آزادکننده تیروتروپین گردیده و به دنبال آن سطوح هورمون محرک تیروئید در سرم و متعاقباً هورمون تیروکسین و تری‌یدوتیرونین کاهش می‌یابد (۹). همچنین عصاره دانه گیاه یا مهار آنزیم مونوآمینواکسیداز و متعاقب آن افزایش میزان دوپامین می‌گردد که می‌تواند سطوح سرمی هورمون‌های محور هیپوفیز تیروئید را کاهش می‌دهد (۱۳). بر اساس تحقیقات انجام شده ترکیبات استروئیدی باعث کاهش پروتئین‌های انتقال‌دهنده هورمون‌های تیروئیدی در سرم می‌شود (۱۴)، لذا با وجود استروئیدهای موجود در عصاره گیاه اسپند کاهش هورمون‌های تیروکسین و تری‌یدوتیرونین از طریق کاهش پروتئین‌های انتقال‌دهنده هورمون‌های تیروئیدی قابل توجه است (۱۵).

با توجه به تغییرات وزنی گروه‌های مورد مطالعه و نیز اثرات عصاره گیاه اسپند بر میزان سطوح پارامترهای تیروئیدی مورد بررسی پیشنهاد می‌گردد اثر ترکیبات موجود در عصاره گیاه اسپند روی محورهای هیپوتالاموسی-هیپوفیزی و همچنین

یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که عصاره گیاه اسپند اثرات کاهنده‌ای را بر عملکرد غده تیروئید دارد. همچنین مقایسه‌های آماری و ظاهری بافت غده تیروئید نیز حاکی از این اثرات می‌باشد. ترشح هورمون محرک تیروئید به وسیله هورمون آزادکننده تیروتروپین هسته پاراونتریکولار هیپوتالاموس تحریک می‌گردد و ساختارهای نوروترانسمیتری متعددی نورون‌های ترشح‌کننده هورمون آزادکننده تیروتروپین در هیپوتالاموس را کنترل می‌کنند (۱۰). یکی از این ساختارهای نوروترانسمیتری نوروپپتید Y می‌باشد (۱۱). از آنجا که فیبرهای موجود در گیاه اسپند از طریق افزایش ترشح لپتین بر فعالیت نورون‌های ترشح‌کننده نوروپپتید Y اثر مهاری دارند (۱۱، ۱۲) لذا با کاهش فعالیت نورون‌های ترشح‌کننده نوروپپتید Y که بر ترشح هورمون آزادکننده تیروتروپین اثر تحریکی دارد، میزان این نورهورمون در نتیجه ترشح هورمون محرک تیروئید کاهش می‌یابد (۱۲).

تحقیقات متعددی نشان داده‌اند که هارمالا یکی از آلکالوئیدهای موجود در عصاره دانه گیاه اسپند می‌باشد که دارای خاصیت مهارکنندگی آنزیم مونوآمینواکسیداز می‌باشد و با توجه به این که در صورت مهار این آنزیم سطوح نوروترانسمیترهای کاتکول آمینی (دوپامین، نوراپی نفرین و اپی

## سپاسگزاری

از تمام عزیزانی که در طول اجرای طرح تا اتمام طرح ما را یاری کردند خصوصاً معاونت محترم پژوهشی جهاد دانشگاهی قم و نیز مدیریت محترم مرکز تحقیقات جهاد دانشگاهی قم و همچنین نظام دامپزشکی استان قم صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نماییم.

میزان عوارض ناشی از مصرف طولانی مدت آن مورد بررسی قرار گیرد، زیرا یافته‌های این مطالعه بیانگر وجود ترکیباتی در عصاره گیاه اسپند است که اثرات بازدارندگی بر روی ترشح هورمون‌های تیروئیدی و کاهش وزن دارد، بنابراین می‌تواند در هیپر تیروئیدیسم به صورت کنترل شده مورد استفاده قرار گیرد.

## References:

- 1- Berrougui H, Lopez-Lazaro M, Martin-Cordero C, Mamouchi M, Ettaib A, Herrera MD. *Totoxic activity of methanolic extract and two alkaloidsextracted from seeds of Peganumharmala L.* J Nat Remedies 2005; 5(1): 41-45.
- 2- Shah A, Rasapalli S, Mello C, Singh BR, Cai S. *Antibacterial activity of commonly used traditional Chinese medicines as cold and flu remedies.* J Med Plants Res 2012; 6(2): 234-42.
- 3- Chaturvedi M, Dwivedi S, Dwivedi A, Barpete PK, Sachan R. *Formulation and evaluation of polyherbal anthelmintic preparation.* Ethnobotanical Leaflets 2009; 13(2): 329-31.
- 4- Herraiz T, González D, Ancín-Azpilicueta C, Arán VJ, Guillén H. *Beta-Carboline. alkaloids in Pegannumharmala and inhibition of human monoamine oxidase (MAO).* Food Chem Toxicol 2010; 48: 839-45.
- 5- Saeed SA, Farnaz S, Simjee RU, Malik AT. *Riterpenes and B-sitosterol from piper betel: isolation, antiplatelet and anti-inflammatory effect.* Biochem Soc Trans 1993; 21(4): 462S.
- 6- Wang X, Wang H, He A. *Study on the antitumor effect of total harmala.* J Chin Med Univ. 1996; 25: 240-42.
- 7- Abdel-Fattah A-FM, Matsumoto K, Murakami Y, El-Hady KAW, Mohamed MF, Watanabe H. *Facilitato. Inhibitory effects of harmaline on the tryptophan induced 5-hydroxyt syndrome and body temperature changes in pargyline-pretreated rats.* Jpn J Pharmacol 1996; 72: 39-47.
- 8- Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson L, Loscalzo J. *Harrisou's principles of internal medicine. Endocrinology and metabolism.* Trans. Esteghamaty A. Tehran: Timorzaded; 2006. [Persian]
- 9- Monsef HR, Ghobadi A, Iranshahi M. *Antinociceptive effects of PeganumharmalaL. alkalid extract on mouse formalin test.* J Pharm Pharmaceut Sci 2004; 7(1): 65-69
- 10- Sharaf M, El-Ansari MA, Matlin SA, Saleh NA. *Four flavonoid glycosides from Peganumharmala.* Phytochem 1997; 44(3): 533-36.
- 11- Legardi G, Lechan RM. *The arcuate nucleus is the major source for neuropeptide.* Endocrinology 1998; 39(7): 3262-69

- 12- Subhan N,alam A,Ahmed F,Shahid LZ.*Antinociceptive and gastroprotective effect of crude ethanolic extract of exocecaria agallocha linn.*turk J pharm Sci 2008; 5(3): 143-54
- 13- Farouk L, Laroubi A, Aboufatima R, Benharref A, Chait A. *Evaluation of the analgestic effect of alkaloid extract of peganum harmala L. possible mechanisms involved.* J Ethnopharmacol 2008; 115(3): 449-54
- 14- Cooper DS, Kilbanski A, Ridqway EC. *Dopamine modulation of TSH and its subunits:in vitro cell studies.* Clinical Endocrinol 2008; 18(3): 265-75.
- 15- David PG, Hsu TH. *Effect of a new hypolipidemic agent, MK-185,on serum thyroxine-binding globolin and dialyzable reaction thyroxine.* Endocrinometab 2002; 34: 200-8.

## ***Evaluation of Methanolic Extract of Peganum harmala on Pituitary-Thyroid Hormones and Histopathological Effect on Female Rats***

**Moharrami fard M(MSc)<sup>1</sup>, Mohammad eini A(MSc Student)<sup>\*2</sup>, Vahidi N(MSc)<sup>3</sup>, Ahmadi far M(MSc Student)<sup>4</sup>, Kalhor N(MSc)<sup>5</sup>, Gholambabaeian MM(MSc)<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>Department of Histology, Young Researchers and Elites Club, Islamic Azad University, Shabestar Branch, Shabestar, Iran

<sup>2</sup>Department of Histology, Young Researchers and Elites Club, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Department of Biology, Islamic Azad University, Garmsar Branch, Garmsar, Iran

<sup>4</sup>Department of Physiology, University of Science and Culture, Tehran, Iran

<sup>5,6</sup>Department of Genetic, ACECR, Qom branch. Qom, Iran

**Received:** 16 Oct 2014

**Accepted:** 5 Feb 2015

### ***Abstract***

**Introduction:** Peganum harmala from the zigophilauses family has compounds such as: alkaloid, saponine steroid and lignin which in used as a traditional medicine with antibacterial, anti-tumor, inhibition of MOA enzyme, and stimulation of the nerves system. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effect of the methanolic extract of Peganum harmala on serum levels of thyroids hormones parameters of adult rats.

**Methods:** In this experimental study, conducted at Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR) of Qom in 2012, 60 adult female rats weighed approximately 200±10 grams were divided into 4 groups: the control group, and 3 experimental groups (100,200,400 mg/kg Peganum harmala oral extract daily for 60 days). Finally by collecting the blood samples of the animals, serum level of TSH, T3 and T4 were measured and the collected data were analyzed via SPSS software utilizing ANOVA.

**Results:** The study results revealed that the 200, 400 mg/kg Peganum harmala extract significantly reduced the TSH, T3, T4 levels in rats, whereas experimental group of 100 mg/kg extract Peganum harmala did not demonstrate any significant changes.

**Conclusion:** The study results indicated that the Peganum harmala extract might be used for treatment of hyperthyroidism and its related complications. However further studies are necessitated to explore this concept.

**Keywords:** Peganum harmala; Thyroid; Thyroides hormones

#### ***This paper should be cited as:***

Moharramifard M, Mohammad eini A, Vahidi N, Ahmadifar M, Kalhor N, Gholambabaeian MM. *Evaluation of methanolic extract of peganum harmala on pituitary-thyroid hormones and histopathological effect on female rats.* J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2015; 23(3): 1987-93.

**\*Corresponding author: Tel: +98 983518229200, Email: ali.meini@yahoo.com**