



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

مجید محرومی 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>، محمد مهدی غلام بابائیان<sup>۶</sup>

## چکیده

مقدمه: اسپند با نام علمی *Peganum harmala* دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضدقارچی، ضدسرطانی، ضدبacterیایی و موارد متعدد دیگری می‌باشد که به علت وجود آلکالوئیدهای 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 اعضاء نظام دامپزشکی استان قم انجام گرفت. عصاره اندام هوایی گیاه جمع آوری 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- کارشناس ارشد گروه زنتیک، مرکز تحقیقات جانوری، جهاد دانشگاهی، واحد قم، قم، ایران

\* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۲۵-۳۲۹۳۹۰۸۴، پست الکترونیکی: ali.meini@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۱۶ تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۷/۲۴

## مقدمه

این حال، گزارش شده که اسپند شامل برخی از فلاوونوئیدها 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 میلی گرم/اکیلوگرم) تقسیم‌بندی شدند.

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

در اردیبهشت ماه به میزان موردنیاز کل گیاه اسپند (در فصل گلدهی) از منطقه اطراف قم منطقه تفرش جمع آوری شد.

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

گروه‌های تجربی غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم/اکیلوگرم عصاره خشک شده گیاه را به صورت خوراکی و محلول در آب دریافت نمودند. پس از گذشت ۲ ماه با بیهوشی خفیف حیوانات به وسیله فنوباربیتال خونگیری از قلب انجام شد و پس از سانتریفیبوژ، سرم‌های نمونه‌ها جمع‌آوری گردید و در دمای ۲۰-۲۰ 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.

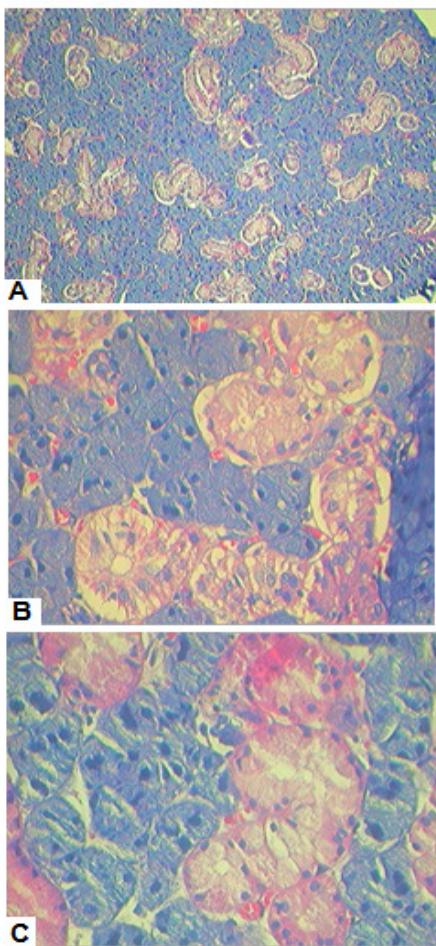
حفظ هموستاز بدن نکته کلیدی در سلامت انسان است که به وسیله عوامل متعددی به ویژه محور هورمونی هیپوفیز-تیروئید کنترل می‌شود به طوری که کم کاری‌ها و پرکاری‌های تیروئید ضمن اختلال در سلامت بدن هزینه‌های زیادی را بر بیمار تحملی می‌کند که در بسیاری از موارد امکان درمان آنها وجود ندارد (۱).

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 زیگوفیلاسیا 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 آلکالوئیدهای بتاکربولین مانند: هارمالین، هارمن، هارمالول و هارمول در عصاره اسپند حضور دارند (۴). ترکیبات اصلی این گیاه آلکالوئیدهای کاربولین مانند: هارمن، هارمالین، هارمالول، هارمان، والسالین و واسیستون هستند. آلکالوئیدهای 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 الکالوئیدهای گیاه اسپند روند تولید نوروترانسمیترهای دوپامین و سروتونین را به صورت وابسته به دور تحریک می‌کند (۷). مهمترین عامل کنترل سنتر 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



تصویر ۱ (A) نمایی از بافت سالم تیروئید با بزرگنمایی (۴۰ $\times$ ). (B) بافت تیروئید با تیمار غلظت و ۴۰۰ میلی گرم 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 $\times$ ). (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 $\times$ ).

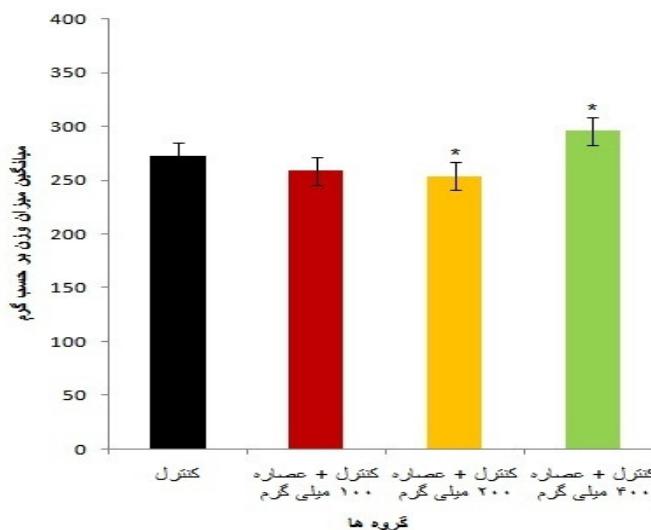
## نتایج

نتایج حاصل بیانگر آن است که سطوح سرمی هورمون محرک تیروئید در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به ترتیب ( $0.04 \pm 0.014$ ،  $0.02 \pm 0.012$ ) میلی گرم بر دسی لیتر) نسبت به گروه‌های کنترل ( $0.08 \pm 0.018$ ) کاهش معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0.05$ ). در حالی که در گروه دریافت‌کننده دوز ۱۰۰ میلی گرم 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 میلی گرم 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 میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل تغییرات ساختاری در اندازه فولیکول‌های ذخیره کننده 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. تری‌یدوتیرونین 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 میلی گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ) (جدول ۲) (نمودار ۱).

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

گروه	هر میانگین و انحراف معیار	هر میانگین و انحراف معیار	هر میانگین و انحراف معیار
کنترل			
تیمار با غلظت ۱۰۰ (میلی گرم بر کیلوگرم)	$0.04 \pm 0.018$	$0.02 \pm 0.014$	$0.08 \pm 0.018$
تیمار با غلظت ۲۰۰ (میلی گرم بر کیلوگرم)	$0.09 \pm 0.018$	$0.04 \pm 0.012$	$0.04 \pm 0.012$
تیمار با غلظت ۴۰۰ (میلی گرم بر کیلوگرم)			



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

## بحث

نفرين) و ايندول آميني افرايش مي يابد(۱۱) و از آنجا كه سروتونين به عنوان يك نورو ترانسميتير بازدارنده در ترشح هورمون آزادكننده تيروتروپين مطرح مي باشد، لذا عصاره گيه اسپند با افرايش ميزان سروتونين باعث كاهش ترشح هورمون آزادكننده تيروتروپين گردیده و به دنبال آن سطوح هورمون محرك تيروئيد در سرم و متعاقباً هورمون تيروكسين و ترييدوتiroپينin كاهش مي يابد(۹). همچنين عصاره گيه يا مهار آنزيم مونوآمينواكسيداز و متعاقب آن افرايش ميزان دوپامين مي گردد كه مي تواند سطوح سرمي هورمون هاي محور هيپوفيز تيروئيد را كاهش مي دهد(۱۳). بر اساس تحقيقات انجام شده تركيبات استروئيدي باعث كاهش پروتين هاي انتقال دهنده هورمون هاي تيروئيدي در سرم مي شود(۱۴)، لذا با وجود استروئيد هاي موجود در عصاره گيه اسپند كاهش هورمون هاي تيروكسين و ترييدوتiroپينin از طريق كاهش پروتئين هاي انتقال دهنده هورمون هاي تيروئيدي قابل توجيه است(۱۵).

با توجه به تغييرات وزني گروه هاي مورد مطالعه و نيز اثرات عصاره گيه اسپند بر ميزان سطوح پaramترهاي تيروئيدي موجود بررسى پيشنهاد مي گردد اثر تركيبات موجود در عصاره گيه اسپند روی محور هاي هيپوتalamousi - هيپوفيزى و همچنان

يافته هاي مطالعه حاضر نشان مي دهد كه عصاره گيه اسپند اثرات كاهنده اى را بر عملکرد غده تيروئيد دارد. همچنان مقاييسه هاي آماري و ظاهرى بافت غده تيروئيد نيز حاكي از اين اثرات مي باشد. ترشح هورمون محرك تيروئيد به وسيلي هورمون آزادكننده تيروتروپين هسته پاراونتريوكولار هيپوتalamous تحريك مي گردد و ساختارهای نورو ترانسميتير متعددی نورون هاي ترشح كننده هورمون آزادكننده تيروتروپين در هيپوتalamous را كنترل مي كنند(۱۰). يكى از اين ساختارهای نورو ترانسميتير نوروپيتيد Y مي باشد(۱۱). از آنجا كه فيبرهای موجود در گيه اسپند از طريق افرايش ترشح لپتین بر فعاليت نورون هاي ترشح كننده نوروپيتيد Y اثر مهاري دارند(۱۱،۱۲) لذا با كاهش فعاليت نورون هاي ترشح كننده نوروپيتيد Y كه بر ترشح هورمون آزادكننده تيروتروپين اثر تحريكى دارد، ميزان اين نورو هورمون در نتيجه ترشح هورمون محرك تيروئيد كاهش مي يابد(۱۲).

تحقيقات متعددی نشان داده اند كه هارما لا يكى از آلكالوئيد هاي موجود در عصاره دانه گيه اسپند مي باشد كه داراي خاصيت مهار كنندگي آنزيم مونوآمينواكسيداز مي باشد و با توجه به اين كه در صورت مهار اين آنزيم سطوح نورو ترانسینترهاي كاتكول آميني (دوپامين، نوراپي نفرين و ابي

## 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 هیپرتیروئیدیسم 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 alkaloids extracted 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, Barpeta 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 Peganumharmala 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: Timorزاده؛ 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 aglocha linn.*turk J pharm Sci 2008; 5(3): 143-54
- 13- Farouk L, Laroubi A, Aboufatima R, Benharref A, Chait A. *Evaluation of the analgesic 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; 118(3): 265-75.
- 15- David PG, Hsu TH. *Effect of a new hypolipidemic agent, MK-185, on serum thyroxine-binding globulin 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***

**Moharramifard M(MSc)<sup>1</sup>, Mohammad eini A(MSc Student)<sup>\*2</sup>, Vahidi N(MSc)<sup>3</sup>, Ahmadifar 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  $200\pm10$  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