SJKUMS
Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences
No.2/ Apr-May 2026;31(2):172-179
DOI: 10.22034/31.2.172
https://sjku.muk.ac.ir

Original Article

Effect of Persian Clover (*Trifolium resupinatum L.*) Extract on Thyroid Hormones in Subclinical Hypothyroidism: A Double-Blind Clinical Trial

Pezhman Sharifi[1], Sima Tozandehjani[2], Mohammad Aziz Rasouli[3], Khaled Emamzanbili[4], Shahnaz Ghafouri[5*]

1. MSc in Microbiology Sciences, Liver and Digestive Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
2. Texas Tech University, School of Veterinary Medicine, Amarillo, TX, USA
3. Clinical Research Development Center, Kowsar Hospital, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
4. Traditional Medicine Expert, Liver and Digestive Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
5. Assistant Professor, Liver and Digestive Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

Article history:
Received: November 12, 2025
Revised: February 14, 2026
Accepted: May 05, 2026
ePublished: July 16, 2026

***Corresponding author:** Shahnaz Ghafouri, Liver and Digestive Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

E-mail: drghafoorish76@gmail.com

Abstract

Background and Aim: Subclinical hypothyroidism represents a prevalent endocrine disorder affecting metabolic homeostasis. *Trifolium resupinatum L.* is a medicinal plant traditionally valued for its therapeutic properties. This study aimed to evaluate the effects of its hydroalcoholic extract on thyroid hormone profiles in patients with subclinical hypothyroidism.

Materials and Methods: Hydroalcoholic extract was prepared from dried *T. resupinatum* samples, and bioactive compounds were identified via GC-MS analysis. In a randomized clinical trial, 51 patients were allocated into two groups. The intervention group (n=25) received extract (500 mg/day) alongside levothyroxine, while the control group (n=26) received levothyroxine plus placebo. Following three months of treatment, serum TSH, total T3, and total T4 levels were measured using ELISA. Statistical analyses were conducted using SPSS software (version 25).

Results: GC-MS analysis identified phenolic compounds as principal constituents of the extract. Extract administration significantly elevated total T4 levels ($P<0.001$) and reduced TSH concentrations ($P=0.04$), compared to controls. No significant changes in total T3 were observed ($P=0.42$).

Conclusion: Hydroalcoholic extract of *T. resupinatum* demonstrates potential as an adjunctive therapy with levothyroxine for managing subclinical hypothyroidism by modulating TSH and T4 levels, thereby improving thyroid function.

Keywords: Hydroalcoholic extract, Hypothyroidism, Medicinal plants, Thyroid hormones, *Trifolium resupinatum L.*

Please cite this article as follows: Sharifi P, Tozandehjani S, Aziz Rasouli M, Emamzanbili Kh, Ghafouri Sh. Effect of Persian Clover (Trifolium resupinatum L.) Extract on Thyroid Hormones in Subclinical Hypothyroidism: A Double-Blind Clinical Trial. SJKUMS. 2026;31(2):172-179. DOI: 10.22034/31.2.172.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-09-07]

Copyright © 2026 Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/), which permits copying and redistributing the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

SJKUMS
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان
دوره ۳۱، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۴۰۵،صفحات:۱۷۲-۱۷۹
https://sjku.muk.ac.ir

مقاله اصلی

تأثیر عصارۀ شبدر ایرانی (*Trifolium resupinatum L.*) بر هورمون‌های تیروئیدی در کم‌کاری تحت‌بالینی تیروئید: کارآزمایی بالینی دوسوکور

پژمان شریفی[۱]، سیما توزنده‌جانی[۲]، محمد عزیز رسولی[۳]، خالد امام‌زنبیلی[۴]، شهناز غفوری[۵*]

۱. کارشناس ارشد میکروب‌شناسی، مرکز تحقیقات کبد و گوارش، پژوهشکدۀ توسعۀ سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
۲. دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فناوری تگزاس، آماریلو، تگزاس، ایالات متحده آمریکا
۳. مرکز توسعۀ تحقیقات بالینی، بیمارستان کوثر، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
۴. کارشناس طب سنتی، مرکز تحقیقات کبد و گوارش، پژوهشکدۀ توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
۵. استادیار، مرکز تحقیقات کبد و گوارش، پژوهشکدۀ توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۱۴۰۴/۰۸/۲۱
ویرایش: ۱۴۰۴/۱۱/۲۵
پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۱۵
انتشار: ۱۴۰۵/۰۴/۲۵

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی کردستان محفوظ است.

* **نویسنده مسئول:** شهناز غفوری، مرکز تحقیقات کبد و گوارش، پژوهشکدۀ توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

ایمیل: drghafoorish76@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: کم‌کاری تحت‌بالینی تیروئید از اختلالات شایع غدد درون‌ریز است که عملکردهای متابولیکی انسان را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. شبدر ایرانی (*Trifolium resupinatum L.*) گیاهی با خواص درمانی سنتی است. این مطالعه آثار عصارۀ هیدروالکلی این گیاه را در پروفایل هورمون‌های تیروئیدی در بیماران مبتلابه کم‌کاری تحت‌بالینی ارزیابی کرده است.

مواد و روش‌ها: ابتدا عصارۀ هیدروالکلی گیاه شبدر تهیه و ترکیبات فعال آن با GC-MS شناسایی شد. سپس، ۵۱ بیمار در دو گروه قرار گرفتند: گروه مداخله (n=۲۵) که عصاره را (۵۰۰ میلی‌گرم/ روز) همراه لووتیروکسین دریافت کردند و گروه کنترل (n=۲۶) که داروی لووتیروکسین را با پلاسبو گرفتند. سه ماه بعد، سطوح سرمی TSH، T3 و T4 با متد ELISA اندازه‌گیری شد. آنالیز آماری با نرم‌افزار SPSS نسخۀ ۲۵ انجام شد.

یافته‌ها: در آنالیز GC-MS ترکیبات فنولی بخش عمدۀ عصاره را تشکیل می‌دادند. افزایش معنادار T4 (P<۰/۰۰۱) و همچنین کاهش معنادار TSH (P=۰/۰۴) در گروه مداخله، در مقایسه با گروه کنترل دیده شد، ولی در T3 تغییر معناداری مشاهده نشد (P=۰/۴۲).

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی شبدر ایرانی با تعدیل سطوح TSH و T4، می‌تواند در کنار لووتیروکسین، درمان کمکی مناسبی در بیماران مبتلا به کم‌کاری تحت‌بالینی باشد.

واژگان کلیدی: کم‌کاری تیروئید، *Trifolium resupinatum L.*، عصارۀ هیدروالکلی، هورمون‌های تیروئیدی، گیاهان دارویی

استناد: شریفی، پژمان؛ توزنده جانی، سیما؛ رسولی، محمدعزیز؛ امام زنبیلی، خالد؛ غفوری، شهناز. تأثیر عصارۀ شبدر ایرانی (*Trifolium resupinatum L.*) بر هورمون‌های تیروئیدی در کم‌کاری تحت‌بالینی تیروئید: کارآزمایی بالینی دوسوکور. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، خرداد و تیر ۱۴۰۵؛۳۱(۲):۱۷۲-۱۷۹

مقدمه

کم‌کاری تیروئید (Hypothyroidism) یکی از اختلال‌های شایع غدد درون‌ریز انسان است که با کاهش تولید هورمون‌های تیروئیدی انسان، ازجمله هورمون‌های تری‌یدوتیرونین (T3) و تیروکسین (T4) و افزایش سطح هورمون محرک تیروئید (TSH)، به‌دلیل مکانیسم بازخورد محور هیپوتالاموس ـ هیپوفیز ـ تیروئید مشخص می‌شود [۱]. این وضعیت با تحت‌تأثیر قراردادن مسیرهای متابولیک متعدد و سیستم‌های مختلف بدن انسان، به بروز تظاهرات بالینی مختلفی مثل خستگی، تحمل‌نکردن سرما، افزایش وزن، کم‌اشتهایی، خشکی پوست و افسردگی منجر می‌شود. کم‌کاری تحت‌بالینی تیروئید، شکل خفیف‌تری از آن است که با افزایش سطح سرمی هورمون TSH به‌همراه سطوح طبیعی هورمون‌های T3و T4 در گردش خون تعریف می‌شود. کم‌کاری تحت‌بالینی تیروئید غالباً بدون علامت است و شخص بیمار هیچ‌گونه علامت خاصی ندارد، اما ممکن است در آینده، فرد به‌سمت کم‌کاری آشکار

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-09-07]

تیروئید پیشرفت کند [۱-۴].

امروزه، درمان استاندارد کم‌کاری تیروئید، جایگزینی هورمون با استفاده از لووتیروکسین سنتتیک است. اگرچه این درمان و این رویکرد در حالت کلی مؤثر است، ممکن است نتواند علائم را در همهٔ بیماران کاملاً بهبود بخشد و ممکن است فرد بیمار به استفادهٔ همیشگی و مادام‌العمر از این دارو نیاز داشته باشد [۵-۸]. ازاین‌رو، نیاز فزاینده به یافتن درمان‌های مکمل، خصوصاً داروهای گیاهی، در جهت کمک و حمایت از عملکرد تیروئید و نیز افزایش اثربخشی درمان استاندارد، ضروری و حیاتی به نظر می‌رسد[۸-۱۰].

گیاه *Trifolium resupinatum L.*، که معمولاً به‌عنوان شبدر ایرانی شناخته می‌شود، به خانوادهٔ Fabaceae متعلق است و به‌طور سنتی به‌علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و تعدیل‌کنندگی هورمونی، استفاده می‌شود. مطالعات فیتوشیمیایی اخیر نشان داده‌اند که این گیاه سرشار از ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و ایزوفلاون‌هاست و این ترکیبات می‌توانند در عملکرد غدد درون‌ریز مؤثر باشند [۱۱-۱۵]. این گیاه ترکیبات ایزوفلاونی دارد که به‌علت شباهت ساختاری با β-۱۷ استرادیول، می‌توانند با گیرنده‌های هورمونی تعامل داشته باشند و ممکن است در محورهای درون‌ریز آثار فیزیولوژیک داشته باشند [۱۶-۱۸]. در مطالعات in vitro، عصارهٔ گونه‌های *T. resupinatum* آثار قابل‌توجهی در رشد سلول‌های تیروئیدی نشان داده است که می‌تواند مبنایی برای بررسی آثار هورمونی بیشتر در مدل‌های حیوانی و انسانی باشد [۱۹]. به‌علاوه، داده‌های تجربی از مطالعات حیوانی نشان می‌دهد که ایزوفلاون‌ها می‌توانند در محور هیپوتالاموس ـ هیپوفیز ـ تیروئید و میزان TSH تأثیر بگذارند که توجیه بیشتری برای انتخاب مطالعه در فاز انسانی فراهم می‌کند [۲۰].

با توجه به مطالب ذکرشده و موضوع مهم نیاز به رویکردها و درمان‌های کمکی سالم‌تر و ایمن‌تر در درمان و مدیریت بیماری کم‌کاری تیروئید و آثار احتمالی هورمونی *T. resupinatum*، این مطالعه با هدف ارزیابی تأثیر عصارهٔ هیدروالکلی این گیاه در سطوح سرمی هورمون‌های TSH، T3 و T4 تام در بیماران مبتلابه کم‌کاری تحت‌بالینی تیروئید انجام شد.

روش کار

طراحی مطالعه و جمعیت مورد مطالعه

مطالعهٔ حاضر به‌صورت کارآزمایی بالینی تصادفی‌سازی‌شده، دوسوکور و کنترل‌شده با دارونما روی بیماران مبتلابه کم‌کاری تحت‌بالینی تیروئید انجام شد که از ژانویه تا ژوئن ۲۰۲۰ (دی ۱۳۹۸ تا خرداد ۱۳۹۹) به کلینیک غدد بیمارستان توحید سنندج مراجعه کردند. حجم نمونه نیز، با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$n = (Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 \times (p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)) / (p_1-p_2)^2$$

براساس مطالعه‌ای مشابه [۲۱]، با $\alpha = ۰/۰۵$، $\beta = ۰/۲۰$ و نرخ پاسخ مورد انتظار ۸۰ درصد در گروه مداخله و ۵۰ درصد در گروه کنترل، در نهایت، حداقل حجم نمونه برای هرکدام از گروه‌ها ۲۰ نفر تعیین شد لذا، با درنظرگرفتن احتمال ریزش نمونه‌ها، ۲۶ بیمار در هر گروه وارد مطالعه شدند.

معیارهای ورود و خروج

معیارهای ورود: بیماران ۱۸ تا ۶۵ ساله با تشخیص جدید کم‌کاری تحت‌بالینی تیروئید که دارای مقدار سطح سرمی هورمون TSH بیشتر از ۵/۴ میلی‌واحد بر لیتر و نیز با سطوح طبیعی و نرمال T3 و T4، که قبلاً تحت درمان قرار نگرفته بودند. همچنین، دارای حساسیت شناخته‌شده به داروهای گیاهی نبودند و رضایت‌نامهٔ کتبی آگاهانهٔ ورود به مطالعه را امضا کردند.

معیارهای خروج: بیماران مبتلابه کم‌کاری آشکار تیروئید، تیروئیدیت، بارداری، وجود بیماری قلبی‌عروقی، اختلالات خون‌شناسی، بدخیمی، انجام جراحی اخیر (در طول سه ماه) یا تمایل‌نداشتن به ادامهٔ مطالعه و خروج از آن.

تهیهٔ عصارهٔ گیاهی

ابتدا و در مرحلهٔ اول، گیاه *T. resupinatum* (ساقه و برگ) پس از تأیید کارشناس گیاه‌شناسی، در آزمایشگاه گیاهان دارویی دانشگاه کردستان، در دمای محیط و دور از نور مستقیم خشک و سپس پودر شد. عصاره‌گیری به روش خیساندن (maceration) انجام شد. عصارهٔ هیدروالکلی نیز با استفاده از نسبت ۱:۱ آب مقطر و اتانول (۲۰۰ میلی‌لیتر در مجموع) تهیه شد. گیاه پودرشده در مخلوط حلال، به‌مدت ۷۲ ساعت (سه روز) و در دمای اتاق با هم‌زدن به‌صورت دوره‌ای هر شش ساعت، خیسانده شد. سپس مخلوط درست‌شده، با استفاده از کاغذ صافی Whatman® صاف شد و عصارهٔ به‌دست‌آمده، با استفاده از دستگاه روتاری اواپراتور (Rotary Evaporator) و در دمای ۶۵ درجهٔ سانتی‌گراد تغلیظ شد. عصارهٔ تغلیظ‌شده در دستگاه آون با دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد و تا تبخیر کامل حلال آن خشک شد. در نهایت، عصارهٔ خشک‌شدهٔ به‌دست‌آمده در کپسول‌های ۵۰۰ میلی‌گرمی پر شد و تا هنگام استفاده از آن‌ها، در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد و در یخچال نگهداری شد [۲۲، ۲۳].

آنالیز کروماتوگرافی گازی ـ طیف‌سنجی جرمی (GC-MS)

برای انجام آنالیز کروماتوگرافی گازی ـ طیف‌سنجی جرمی (GC-MS)، مقدار مشخصی از عصارهٔ خشک‌شدهٔ T. resupinatum در اتانول مطلق حل و محلولی با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. محلول تهیه‌شده پس از صاف‌سازی با فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ میکرون، فاقد هرگونه رسوب قابل مشاهده بود و مستقیماً برای تزریق استفاده شد.

سپس دو میکرولیتر از محلول اتانولی عصاره به دستگاه GC-MS تزریق شد. دمای تزریق ۲۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد تنظیم شد. برنامهٔ دمایی ستون GC از ۱۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد (دو دقیقه) آغاز شد، سپس با نرخ ۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد در دقیقه به ۲۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد و در ادامه، با نرخ ۵ درجهٔ سانتی‌گراد در دقیقه به ۲۸۰ درجه سانتیگراد رسید و به‌مدت نه دقیقه در این دما ثابت نگه داشته شد. دمای منبع یونی ۲۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد، تأخیر حلال

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-09-07]

دو دقیقه و زمان کل اجرای آنالیز ۴۸ دقیقه بود [۲۴، ۲۵].

پروتکل مداخله

پس از نمونه‌گیری خون از بیماران، آن‌ها به‌طور تصادفی با استفاده از اعداد تصادفی تولیدشده با کامپیوتر، به دو گروه مداخله و کنترل تقسیم شدند. گروه اول، که گروه مداخله (۲۵ نفر = n) بود، روزانه یک عدد کپسول ۵۰۰ میلی‌گرمی حاوی عصارهٔ هیدروالکلی گیاه *T. resupinatum* همراه با داروی لووتیروکسین (دوز این دارو براساس سطوح هورمون TSH بیمار و توسط پزشک فوق‌تخصص غدد تنظیم شده است) دریافت کردند (یکی از بیماران این گروه به‌دلیل تمایل‌نداشتن به ادامهٔ مطالعه از پژوهش خارج شد). گروه دیگر مطالعه، یعنی گروه کنترل (۲۶ نفر = n)، نیز داروی لووتیروکسین را به‌همراه کپسول پلاسبو (دارونما)، که حاوی نشاسته (۵۰۰ میلی‌گرم) بود، دریافت کردند. شایان ذکر است در این مرحله، بیماران واردشده در این مطالعه و پرسنل آزمایشگاه دربارهٔ تخصیص گروه‌ها کور بودند و کورسازی کاملاً در آن رعایت شد.

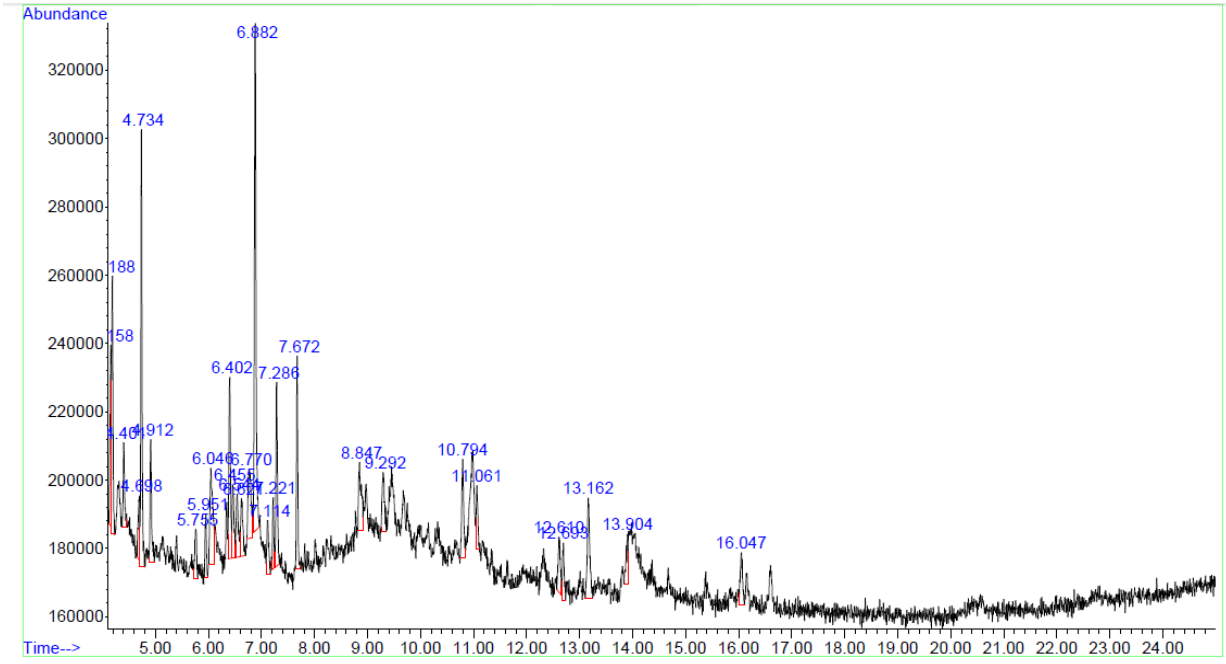
نمونه‌های خون از بیماران به‌صورت ناشتا (پس از ۸ تا ۱۰ ساعت ناشتایی شبانه) به میزان ۵ میلی‌لیتر در ابتدا گرفته شد و سپس در پایان ماه سوم نیز این کار تکرار شد. سرم بیماران، با دستگاه سانتریفیوژ و با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه از نمونه‌های خون آن‌ها جدا شد. سطوح سرمی هورمون‌های TSH، T3 و T4 هم با استفاده از کیت‌های الایزای ساخت شرکت Pishtaz Teb و براساس دستورالعمل‌های این شرکت، اندازه‌گیری شدند. تمامی اندازه‌گیری‌ها به‌صورت دوتایی و در آزمایشگاه بیمارستان توحید انجام پذیرفت.

روش تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

تجزیه‌و تحلیل‌های آماری نتایج بیماران با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخهٔ ۲۵ انجام شد. آزمون کلموگروف ـ اسمیرنوف برای ارزیابی نرمال‌بودن توزیع داده‌ها استفاده شد. متغیرهای پیوسته نیز در این مطالعه، به شکل میانگین ± انحراف معیار (SD) ارائه شدند. متغیرهای کیفی نیز به‌صورت فراوانی و درصد ذکر شد. در این مطالعه، از آزمون t مستقل و آزمون یومن ـ ویتنی برای مقایسهٔ ویژگی‌های پایه بین دو گروه استفاده شد. آزمون t زوجی برای مقایسه مقادیر قبل و بعد از انجام مداخله، در هر دو گروه استفاده شد. همچنین، تحلیل کوواریانس (ANCOVA) نیز برای مقایسهٔ تغییرات بین گروه‌ها با تعدیل برای مقادیر پایه به کار برده شد. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ نیز از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

نتایج

در آنالیز انجام‌شده با دستگاه کروماتوگرافی گازی ـ طیف‌سنجی جرمی یا همان GC-MS، ملاحظه شد که در عصارهٔ هیدروالکلی گیاه *T. resupinatum*، ترکیبات فنولی، ترکیب عمده و اصلی آن بود. براساس آنالیز GC-MS انجام‌شده و مقایسهٔ زمان بازداری پیک‌های مشاهده‌شده با استانداردها و مطالعات قبلی، پیک‌های عمده در کروماتوگرام احتمالاً شامل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی هستند. پیک‌های برجسته در زمان‌های بازداری ۴/۷۳، ۶/۴۰، ۶/۸۲ و ۷/۸۷ دقیقه مطابق با الگوی ترکیبات فنولی و ایزوفلاونی گزارش‌شده در *T. resupinatum* هستند [۱۴، ۲۶، ۲۷] (شکل ۱ و جدول ۱).



شکل ۱. کروماتوگرام GC-MS عصارهٔ اتانولی *T. resupinatum*

(آنالیز GC-MS نشان‌دهندهٔ حضور طیف وسیعی از ترکیبات فیتوشیمیایی است. مطالعات قبلی دربارهٔ *T. resupinatum* نشان داده‌اند که این گیاه سرشار از ترکیبات فنولی (ازجمله اسید کلروژنیک و اسید کافئیک)، ایزوفلاون‌ها (شامل فورمونونتین، جنیستئین، دایدزین و اونونین) و فلاونول‌ها (کوئرستین، کمپفرول و آستراگالین) است که این ترکیبات مهم‌ترین اجزای بیولوژیک فعال این گیاه را تشکیل می‌دهند [۱۴، ۲۶، ۲۷].

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-09-07]

جدول ۱. ترکیبات فنولی شناسایی‌شده در عصارهٔ اتانولی *T. resupinatum* با استفاده از آنالیز GC-MS

ردیف	نام ترکیب	فرمول مولکولی	وزن مولکولی (g/mol)	زمان بازداری (min)
۱	Phenol	C_6H_5OH	۹۴	۴/۷۳
۲	Carbamic acid, butylester, phenyl ester	$C_{11}H_{15}NO_3$	۲۰۹	۶/۸۲
۳	Phenol	C_6H_5OH	۹۴	۷/۸۷

(ترکیبات بر اساس مقایسهٔ طیف جرمی با کتابخانه‌های استاندارد شناسایی شدند.)

ویژگی‌های جمعیت‌شناختی

۵۱ بیمار از ابتدا تا انتهای این مطالعه حضور داشتند (۲۵ نفر در گروه مداخله و ۲۶ نفر در گروه کنترل). ویژگی‌های جمعیت‌شناختی در هر دو گروه مورد مطالعه در جدول ۲ مشاهده می‌شود. در نتایج به‌دست‌آمده، هیچ تفاوت معناداری بین دو گروه، از نظر سن بیماران، جنسیت آن‌ها، محل سکونت و نیز شاخص تودهٔ بدنی (BMI) مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

جدول ۲. ویژگی‌های جمعیت‌شناختی جمعیت مورد مطالعه

متغیر	گروه مداخله (درصد) تعداد (n = 26)	گروه کنترل (درصد) تعداد (n = 25)	P-value
جنس			
مرد	۲ (۸/۸)	۲ (۷/۷)	۰/۹۶
زن	۲۳ (۹۲)	۲۴ (۹۲/۳)	
محل سکونت			
روستانشین	۴ (۱۶)	۲ (۷/۷)	۰/۳۰
شهرنشین	۲۱ (۸۴)	۲۴ (۹۲/۳)	
سن (برحسب سال)	۳۵/۷۶ ± ۱۳/۰۸	۳۳/۰۳ ± ۹/۰۲	۰/۳۹
BMI	۲۷/۰۱ ± ۴/۶۵	۲۶/۵۶ ± ۳/۳۸	۰/۶۹

BMI: شاخص توده بدنی؛ SD: انحراف معیار

آثار عصارهٔ *T. resupinatum* بر سطوح هورمون‌های تیروئیدی

در جدول ۳ آثار عصارهٔ *T. resupinatum* در سطوح هورمون‌های تیروئیدی آورده شده است. در گروه اول، یعنی گروه مداخله، سطح سرمی TSH، از مقدار ۱۵/۲۶ ± ۱۳/۷۹ در ابتدای مطالعه، به ۲/۰۱ ± ۲/۴۳ میلی‌واحد بر لیتر پس از سه ماه، به‌طور معناداری کاهش نشان داد (P =۰/۰۰۰۳). این پراکندگی بالا در داده‌های اولیه، نشان‌دهندهٔ تنوع قابل توجه در سطوح TSH بیماران با کم‌کاری تحت‌بالینی تیروئید در ابتدای مطالعه بود. سطح سرمی هورمون T4 نیز به‌طور معناداری از مقدار ۱/۱۴ ± ۷/۲۸ میکروگرم بر دسی‌لیتر در ابتدای مداخله، به ۱/۵۱ ± ۸/۸۲ میکروگرم بر دسی‌لیتر در انتهای مداخله افزایش پیدا کرد (P< ۰/۰۰۱). در گروه دیگر، یعنی گروه کنترل این مطالعه، که بیماران ما فقط داروی لووتیروکسین به‌همراه دارونما مصرف کردند، هورمون TSH از ۴/۳۰ ± ۹/۲۲ میلی‌واحد بر لیتر در ابتدا، به مقدار ۱/۷۰ ± ۴/۶۸ میلی‌واحد بر لیتر در انتهای مداخله کاهش نشان داد (P< ۰/۰۰۱) و هورمون T4 نیز از ۱/۷۷ ± ۷/۸۹ میکروگرم بر دسی‌لیتر به ۱/۸۰ ± ۸/۰۴ میکروگرم بر دسی‌لیتر در پایان مداخله افزایش یافت (P = ۰/۶۶۴).

جدول ۳. آثار عصارهٔ *T. resupinatum* بر سطوح هورمون‌های تیروئیدی

متغیر	کنترل (n = 26)	مداخله (n=25)	P_2 value
TSH (mIU/L)			
قبل	۹/۲۲ ± ۴/۳۰	۱۳/۷۹ ± ۱۵/۲۶	۰.۰۴*
بعد	۴/۶۸ ± ۱/۷۰	۲/۴۳ ± ۲/۰۱	
P_1 value	<۰/۰۰۱†	<۰/۰۰۱†	
T4 (µg/dL)			
قبل	۷/۸۹ ± ۱/۷۷	۷/۲۸ ± ۱/۱۴	<۰/۰۰۱*
بعد	۸/۰۴ ± ۱/۸۰	۸/۸۲ ± ۱/۵۱	
P_1 value	۰/۶۶۴†	<۰/۰۰۱†	

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-09-07]

T3 (ng/mL)			
قبل	۱/۴۸ ± ۰/۳۵	۱/۵۲ ± ۰/۳۸	
بعد	۱/۵۴ ± ۰/۳۹	۱/۵۹ ± ۰/۴۲	۰/۴۲*
P_1 value	۰/۴۶۸†	۰/۵۱۲†	

P_1 value از آزمون t زوجی برای مقایسهٔ قبل و بعد از مداخله در هر گروه

P_2 value از ANCOVA برای مقایسهٔ تغییرات بین گروه‌ها با تعدیل برای مقادیر پایه

† آزمون t زوجی؛ *ANCOVA

در آنالیز سطح سرمی، هورمون T3 در هیچ‌کدام از دو گروه مورد مطالعه تغییر معناداری نداشت. در گروه مداخله، سطح این هورمون از مقدار ۰/۳۸ ± ۱/۵۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر به ۰/۴۲ ± ۱/۵۹ نانوگرم بر میلی‌لیتر در انتهای مداخله رسید (P =۰/۵۱۲). همچنین، در گروه کنترل، سطح آن از ۰/۳۵ ± ۱/۴۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر به ۰/۳۹ ± ۱/۵۴ نانوگرم بر میلی‌لیتر در پایان مداخله تغییر یافت (P = ۰/۴۶۸).

تحلیل کوواریانس (ANCOVA) با تعدیل برای مقادیر پایه، تفاوت‌های معناداری بین گروه‌ها هم برای هورمون TSH (P=۰/۰۴) و هم برای هورمون T4 (P< ۰/۰۰۱) به چشم خورد، به‌طوریکه گروه مداخله بهبودهای بیشتری را نشان داد. هیچ تفاوت معنادار بین‌گروهی‌ای برای سطوح هورمون T3 مشاهده نشد (P = ۰/۴۲).

بحث

در این مطالعه، که به‌صورت کارآزمایی بالینی تصادفی‌سازی‌شده و کنترل‌شده انجام پذیرفت، آثار عصارهٔ هیدروالکلی گیاه شبدر ایرانی (*T. resupinatum*) به‌عنوان درمانی کمکی در بیماران مبتلابه کم‌کاری تحت‌بالینی تیروئید در همراهی با داروی لووتیروکسین بررسی شد. نتایج مهم به‌دست‌آمده این بود که این عصاره توانایی تقویت آثار درمانی داروی لووتیروکسین را به‌طور معناداری داشت و موجب کاهش بیشتر سطوح هورمون TSH و افزایش بیشتر سطوح هورمون T4 در مقایسه با مصرف لووتیروکسین به‌تنهایی شد.

در آنالیز فیتوشیمیایی این عصاره مشاهده شد که ترکیبات فنولی قسمت عمدهٔ آن را تشکیل می‌دهند که این یافته با مطالعات قبلی دیگر کاملاً سازگاری داشت [۲۸-۳۰] که در آن‌ها نشان داده‌اند ترکیبات فنولی اجزای زیستی فعال و غالب در گیاه *T. resupinatum* است. ترکیبات فنولی در مطالعات مختلف، با عنوان ترکیبات دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و نیز دارای آثار بالقوهٔ تعدیل‌کنندگی بر غدد درون‌ریز شناخته شده‌اند [۳۱، ۳۲].

به نظر می‌رسد گیاه *T. resupinatum*، بهبود عملکرد تیروئید را از طریق مکانیسمی انجام می‌دهد که شامل مسیرهای متعددی است. نخست، خواص آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی سبب محافظت بافت تیروئید در برابر آسیب اکسیداتیو می‌شود. در مطالعات مختلف مشاهده شده که آنتی‌اکسیدان‌ها در بعضی مواد غذایی مانند زردچوبه یا در ویتامین‌هایی مثل C و E، توانایی محافظت در برابر کم‌کاری تیروئید ناشی از دارو را ایجاد می‌کنند و می‌توانند از سنتز هورمون‌های تیروئیدی حمایت کنند [۳۲]. استرس اکسیداتیو می‌تواند ضمن آسیب به تیروسیت‌ها و ایجاد اختلال در فعالیت آنزیم تیروئید پراکسیداز (آنزیمی که برای سنتز هورمون‌های تیروئید وجود آن ضروری است)، موجب مختل‌شدن عملکرد تیروئید شود. ازاین‌رو، با کاهش استرس اکسیداتیو، عصارهٔ هیدروالکلی *T. resupinatum* ممکن است سبب افزایش کارایی تولید هورمون تیروئید شود. دوم، ترکیبات فنولی می‌توانند موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، مثل کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز، شوند که این آنزیم‌ها در حفظ یکپارچگی سلولی نقش حفاظتی دارند. آن‌ها به جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب سلولی کمک و در نتیجه، از عملکرد بهینهٔ تیروئید حمایت می‌کنند [۳۲، ۳۳].

یافتهٔ دیگر مطالعهٔ حاضر مبنی‌بر اینکه سطوح هورمون T3 در هیچ‌یک از دو گروه مورد مطالعه به‌طور معناداری تغییر نکرد، می‌تواند با این واقعیت توجیه شود که هورمون T4 محصول ترشحی اولیهٔ غدهٔ تیروئید است و حدود ۸۰ درصد هورمون T3 از طریق تبدیل محیطی T4 در بافت‌های هدف توسط آنزیم‌های دی‌یودیناز (به‌ویژه دی‌یودیناز نوع ۱ و ۲) تولید می‌شود [۳۴، ۳۵]. تغییرنکردن هورمون T3 احتمالاً نشان می‌دهد که عصارهٔ شبدر ایرانی عمدتاً در عملکرد غدهٔ تیروئید و ترشح هورمون‌ها اثر می‌گذارد تا در مکانیسم‌های تبدیل محیطی [۱۷، ۳۶].

تاکنون، مطالعات مختلفی تأثیرات مفید و سودمند برخی داروهای گیاهی را در عملکرد تیروئید گزارش کرده‌اند، مثلاً صائب و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که روغن گیاه پستهٔ وحشی، غنی از ترکیبات فنولی است که سبب افزایش غلظت هورمون‌های تیروئیدی در موش‌های مبتلا به کم‌کاری تیروئید القایی می‌شود [۳۷]. همچنین، در مطالعه‌ای دیگر که دهقانی و همکاران در سال ۲۰۱۰ انجام دادند،مشخص شد که عصارهٔ هیدروالکلی گیاه زیره موجب افزایش سطوح هورمون‌های T3 و T4 و کاهش سطح هورمون TSH در موش‌های ماده می‌شود [۳۸]. با توجه به این یافته‌ها، می‌توان اذعان کرد که گیاهان غنی از ترکیبات فنولی می‌توانند عملکرد تیروئید را تعدیل کنند.

مطالعهٔ حاضر، محدودیت‌هایی نیز داشت. حجم نمونهٔ آن به نسبت بزرگ نیست و مدت زمان کوتاه انجام آن، تعمیم‌پذیری یافته‌ها را با محدودیت همراه می‌کند. همچنین، اندازه‌گیری و سنجش نشانگرهای استرس اکسیداتیو یا فعالیت آنزیم‌های

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-09-07]

آنتی‌اکسیدانی در این مطالعه انجام نشد. این موضوع می‌توانست در بینش‌های مکانیسمی ما در این مطالعه مؤثر باشد و می‌توان پیشنهاد داد در مطالعات آینده، مطالعات مشابهی، اما با حجم‌های نمونه بزرگ‌تر، دوره پیگیری طولانی‌تر و بررسی مکانیسم‌های مولکولی زیربنایی مورد توجه محققان قرار گیرد. همچنین یکی از محدودیت‌های این مطالعه، پراکندگی قابل‌توجه در سطوح پایه TSH بیماران بود که منعکس‌کنندهٔ ناهمگنی جمعیت بیماران با کم‌کاری تحت‌بالینی تیروئید است.

یافته‌های مطالعهٔ اخیر نشان می‌دهد که عصارهٔ گیاه *T. resupinatum* در بیماران مبتلا به کم‌کاری تحت‌بالینی تیروئید، ممکن است به‌عنوان درمانی کمکی و ارزشمند به‌همراه درمان استاندارد با لووتیروکسین عمل کند. به نظر می‌رسد این عصاره سبب تقویت پاسخ درمانی می‌شود و امکان تجویز دوزهای کمتر هورمون سنتتیک و نیز کنترل بهتر علائم را در این بیماران فراهم می‌آورد. بااین‌حال، نویسندگان مقاله تأکید می‌کنند که بیماران نباید بدون نظارت پزشکی، درمان استاندارد را با داروهای گیاهی جایگزین کنند.

نتیجه‌گیری

عصارهٔ هیدروالکلی گیاه *Trifolium resupinatum L* می‌تواند به‌عنوان درمان کمکی در کنار درمان با داروی لووتیروکسین استفاده شود و به‌طور معناداری سبب بهبود پارامترهای عملکرد تیروئید در بیماران مبتلا به کم‌کاری تحت‌بالینی تیروئید شود. عصارهٔ این گیاه موجب کاهش سطوح TSH و افزایش سطوح T4 در مقایسه با مصرف داروی لووتیروکسین به‌تنهایی می‌شود، درحالی‌که سطوح T3 بدون تغییر باقی می‌ماند که این آثار احتمالاً به‌علت خواص آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی موجود در عصارهٔ شبدر ایرانی است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از تمامی بیماران و خانواده‌های آنان به‌خاطر همکاری و مشارکت در این مطالعه اعلام می‌کنند.

ملاحظات اخلاقی

کمیتهٔ اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی کردستان (IR.MUK.REC.1397/384) این مطالعه را تأیید کرده است. همچنین، در سامانهٔ مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ایران یا همان IRCT و با کد ثبت IRCT20190415043279N3 ثبت آن انجام شده است. از تمام بیماران در این مطالعه رضایت‌نامهٔ کتبی آگاهانهٔ شرکت در مطالعه اخذ شد و محرمانگی بیماران نیز مطابق با اصول اعلامیهٔ هلسینکی حفظ شد. این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کردستان انجام شد.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ‌گونه تعارض منافعی در رابطه با انتشار این مطالعه ندارند.

REFERENCES

1. Ku EJ, Yoo WS, Chung HK. Management of subclinical hypothyroidism: a focus on proven health effects in the 2023 Korean Thyroid Association guidelines. Endocrinol Metab (Seoul). 2023;38(4):381-91. [DOI: 10.3803/EnM.2023.1778]
2. Chaker L, Bianco AC, Jonklaas J, Peeters RP. Hypothyroidism. Lancet. 2017;390(10101):1550-62. [DOI: 10.1016/S0140-6736(17)30703-1]
3. Biondi B, Cooper DS. The clinical significance of subclinical thyroid dysfunction. Endocr Rev. 2008;29(1):76-131. [DOI: 10.1210/er.2006-0043]
4. Stott DJ, Rodondi N, Kearney PM, Ford I, Westendorp RG, Mooijaart SP, et al. Thyroid hormone therapy for older adults with subclinical hypothyroidism. N Engl J Med. 2017;376(26):2534-44. [DOI: 10.1056/NEJMoa1603825]
5. Garber JR, Cobin RH, Gharib H, Hennessey JV, Klein I, Mechanick JI. Clinical practice guidelines for hypothyroidism in adults. Thyroid. 2012;22(12):1200-35. [DOI: 10.1089/thy.2012.0205]
6. Wiersinga WM. Paradigm shifts in thyroid hormone replacement therapies for hypothyroidism. Nat Rev Endocrinol. 2014;10(3):164-74. [DOI: 10.1038/nrendo.2013.258]
7. Jonklaas J, Bianco AC, Cappola AR, Celi FS, Fliers E, Heuer H, et al. Evidence-based use of levothyroxine/liothyronine combinations in treating hypothyroidism: a consensus document. Eur Thyroid J. 2021;10(1):10-38. [DOI: 10.1159/000512970]
8. Bianco AC, Kim BS. Pathophysiological relevance of deiodinase polymorphism. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 2018;25(5):341-6. [DOI: 10.1097/MED.0000000000000427]
9. Ekor M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. Front Pharmacol. 2014;4:177. [DOI: 10.3389/fphar.2013.00177]
10. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A. Medicinal plants and their effect on thyroid hormones: a review. J HerbMed Pharmacol. 2014;3(1):27-33. [Link]
11. Sadeghi H, Hadavi R, Sadat-Hosseini M, Ghorbani A. Antioxidant and phytochemical properties of Trifolium resupinatum L. grown in Iran. Res J Phar. 2019;6(4):49-56.
12. Asghari G, Dehghan N, Jalali M. Phytochemical investigation and estrogenic activity of Trifolium species. Iran J Pharm Sci. 2015;11(1):23-30.
13. Ghasemi A, Zahediasl S. Potential adverse effects of phytoestrogens on the endocrine system. Iran J Basic Med Sci. 2016;19(1):1-12. [DOI: 10.22038/ijbms.2016.6385]
14. Marzouk MM, Ragheb AY, Youssef EM, Ragab NA, El-Taher EM, Garf IAE, et al. Isoflavone-rich extract of Trifolium resupinatum: anti-obesity attributes with in silico investigation of its constituents. Rev Bras Farmacogn. 2024;34(3):522-35. [DOI: 10.1007/s43450-024-00503-0]
15. Kolodziejczyk-Czepas J, Nowak P, Kowalska I, Stochmal A. Antioxidant action of six Trifolium species in blood platelet experimental system in vitro. Mol Cell Biochem. 2015;410(1):229-37. [DOI: 10.1007/s11010-015-2553-y]
16. Křížová L, Dadáková K, Kašparovská J, Kašparovský T. Isoflavones. Molecules. 2019;24(6):1076. [DOI: 10.3390/molecules24061076]
17. Sathyapalan T, Dawson AJ, Rigby AS, Thatcher NJ, Kilpatrick ES, Atkin SL. The effect of phytoestrogen on

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-09-07]

thyroid in subclinical hypothyroidism: randomized, double blind, crossover study. Front Endocrinol (Lausanne). 2018;9:531. [DOI: 10.3389/fendo.2018.00531]
18. Chavda VP, Chaudhari AZ, Balar PC, Gholap A, Vora LK. Phytoestrogens: chemistry, potential health benefits, and their medicinal importance. Phytother Res. 2024;38(6):3060-79. [DOI: 10.1002/ptr.8166]
19. Paździora W, Grabowska K, Zagrodzki P, Paśko P, Prochownik E, Podolak I, et al. Quantitative analysis of isoflavones from Fabaceae species and their chemopreventive potential on breast cancer cells. Molecules. 2025;30(11):2379. [DOI: 10.3390/molecules30112379]
20. Dal Forno GO, Oliveira IM, Cavallin MD, Santos TIA, Sleiman HK, Falbo MK, et al. Peripubertal soy isoflavone consumption leads to subclinical hypothyroidism in male Wistar rats. J Dev Orig Health Dis. 2023;14(2):209-22. [DOI: 10.1017/S2040174422000526]
21. Chedraui P, San Miguel G, Hidalgo L, Morocho N, Ross S. Effect of Trifolium pratense-derived isoflavones on the lipid profile of postmenopausal women with increased body mass index. Gynecol Endocrinol. 2008;24(11):620-4. [DOI: 10.1080/09513590802288283]
22. Sultana B, Anwar F, Ashraf M. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. Molecules. 2009;14(6):2167-80. [DOI: 10.3390/molecules14062167]
23. Azwanida N. A review on the extraction methods used in medicinal plants, principle, strength and limitation. Med Aromat Plants. 2015;4(196):2167-0412. [DOI: 10.4172/2167-0412.1000196]
24. Ezhilan BP, Neelamegam R. GC-MS analysis of phytocomponents in the ethanol extract of Polygonum chinense L. Pharmacognosy Res. 2012;4(1):11. [DOI: 10.4103/0974-8490.91028]
25. Akbari Bazm M, Khazaei M, Khazaei F, Naseri L. Nasturtium officinale L. hydroalcoholic extract improved oxymetholone-induced oxidative injury in mouse testis and sperm parameters. Andrologia. 2019;51(7):e13294. [DOI: 10.1111/and.13294]
26. Janda B, Stochmal A, Montoro P, Piacente S, Oleszek W. Phenolics in aerial parts of Persian clover: Trifolium resupinatum. Nat Prod Commun. 2009;4(12):1934578X0900401210. [DOI: 10.1177/1934578X0900401210]
27. Tava A, Pecio Ł, Lo Scalzo R, Stochmal A, Pecetti L. Phenolic content and antioxidant activity in Trifolium germplasm from different environments. Molecules. 2019;24(2):298. [DOI: 10.3390/molecules24020298]
28. Rice-Evans C, Miller N, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Sci. 1997;2(4):152-9. [DOI: 10.1016/S1360-1385(97)01018-2]
29. Abid M, Abid Ali Khan M. Medicinal plant: environment interaction and mitigation to abiotic stress. In: Medically important plant biomes: source of secondary metabolites. Singapore: Springer; 2019. p. 21-50. [DOI: 10.1007/978-981-13-9566-6_2]
30. Sayyed-Alangi SZ, Nematzadeh M. Formulation, development and evaluation of bifunctionalized nanoliposomes containing Trifolium resupinatum sprout methanolic extract: as effective natural antioxidants on the oxidative stability of soybean oil. BMC Chem. 2019;13:1-11. [DOI: 10.1186/s13065-019-0568-4]
31. Habza-Kowalska E, Kaczor AA, Bartuzi D, Piłat J, Gawlik-Dziki U. Some dietary phenolic compounds can activate thyroid peroxidase and inhibit lipoxygenase-preliminary study in the model systems. Int J Mol Sci. 2021;22(10):5108. [DOI: 10.3390/ijms22105108]
32. Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacol Rev. 2000;52(4):673-751. [Link]
33. Kar A, Panda S, Bharti S. Relative efficacy of three medicinal plant extracts in the alteration of thyroid hormone concentrations in male mice. J Ethnopharmacol. 2002;81(2):281-5. [DOI: 10.1016/S0378-8741(02)00048-X]
34. Bianco AC, Salvatore D, Gereben B, Berry MJ, Larsen PR. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. Endocr Rev. 2002;23(1):38-89. [DOI: 10.1210/edrv.23.1.0455]
35. Maia AL, Goemann IM, Meyer ELS, Wajner SM. Type 1 iodothyronine deiodinase in human physiology and disease. J Endocrinol. 2011;209(3):283-97. [DOI: 10.1530/JOE-10-0481]
36. Esposito D, Rotondi M, Accardo G, Vallone G, Conzo G, Docimo G, et al. Influence of short-term selenium supplementation on the natural course of Hashimoto's thyroiditis: clinical results of a blinded placebo-controlled randomized prospective trial. J Endocrinol Invest. 2017;40(1):83-9. [DOI: 10.1007/s40618-016-0535-4]
37. Saeb M, Nazifi S, Sabet M, Nazem H, Gheisari HR, Saeb S, et al. Effect of dietary wild pistachio oil on serum thyroid hormones, lipids and leptin concentration in experimental hyperthyroidism in male rat. J Gorgan Univ Med Sci. 2009;11(4):8-15.[Link]
38. Dehghani F, Panjehshahin M, Vojdani Z. Effect of hydroalcoholic extract of caraway on thyroid gland structure and hormones in female rat. Iran J Vet Res. 2010;11(4):337-41. [Link]

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-09-07]