

The effect of hydroalcoholic extract of *Medicago sativa* on liver function tests, blood biochemical factors and coagulation system in male rats.

Servatyari K., Medical Student¹, Ahmadi A., PhD², Kashefi H., MSc³, Menbari M.N., PhD Student⁴, Rostami A., PhD⁵, Moloudi M.R., PhD⁶

1. Medical Student, Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran .

2. Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. (Corresponding Author), Tel:+98-87-6664674, abbasahmadi@gmail.com

3. MSc Biostatistics, Social Determinants of Health Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

4. ph.D Student of molecular medicine, Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

5. Associate Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

6. Assistant Professor, Liver & Digestive Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. (Corresponding Author), Tel:+98-87-6664674, x.moloudi@muk.ac.ir

ABSTRACT

Background and Aim: *Medicago sativa* (Alfalfa) has been used traditionally as liver protectant, antioxidant agent and also for the treatment of bleeding and digestive problems. The aim of this study was to evaluate the effect of hydroalcoholic extract of *Medicago sativa* on liver function tests, blood biochemical factors and coagulation system parameters in male rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 32 male Wistar rats were randomly divided into 4 groups (n= 8) including control, and three experimental groups which received gavage (250, 500, 750 mg/kg/day). These groups were treated for 14 days and on the 15th day plasma levels of total protein, fibrinogen, Na, glucose, alanine amino transferase (ALT), and alkaline phosphatase (ALP) were measured. We also measured platlet count, prothrombin time (PT) and partial thromboplastin time (PTT). The results were analyzed by one way ANOVA.

Results: The results of the present study showed that use of the extract decreased significantly the serum levels of ALP, ALT, and also blood glucose concentration in the experimental groups, compared to the control group. Furthermore, alfalfa increased total protein and fibrinogen in a dose dependent manner in the experimental groups ($p < 0.01$, $p < 0.001$).

Conclusion: The results of this study showed hepatoprotective effect of alfalfa extract. The effect of alfalfa on coagulation system was exerted via increasing the blood level of fibrinogen and it had no effect on other indices.

Key words: *Medicago sativa*, Liver function tests, Fibrinogen, Blood platelets, Glucose.

Received: May 15, 2016 **Accepted:** Jul 11, 2016

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه یونجه بر تست‌های عملکردی کبد، فاکتورهای

بیوشیمیایی خون و سیستم انعقادی در موش صحرایی نر

کارو ثروت یاری^۱، عباس احمدی^۲، هاجر کاشفی^۳، محمد نظیر منبری^۴، امین رستمی^۵، محمد رامان مولودی^۶

۱. دانشجوی پزشکی، عضو کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۲. استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران، (مؤلف مسؤول)، تلفن ثابت: ۰۸۷-۶۶۶۴۶۷۴، abbas.ahmadi@gmail.com

۳. کارشناس ارشد آمار زیستی، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت، گروه آمار زیستی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۴. دانشجوی دکتری پزشکی مولکولی، عضو کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۵. دانشیار شیمی آلی، گروه شیمی دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

۶. استادیار، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران، (مؤلف مسؤول)، تلفن ثابت: ۰۸۷-۶۶۶۴۶۷۴، x.moloudi@gmail.com

چکیده

مقدمه: گیاه یونجه به طور سنتی به عنوان محافظ کبد، آنتی اکسیدان، تسکین مشکلات گوارشی و برای کاهش زمان خونریزی استفاده می‌شود. این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره یونجه بر تست‌های عملکردی کبد، فاکتورهای بیوشیمیایی خون و سیستم انعقادی در موش صحرایی نر انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۳۲ سر موش صحرایی نر به طور تصادفی به ۴ گروه (n = ۸) کنترل و سه گروه درمانی دریافت‌کننده غلظت‌های (۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ میلی گرم / کیلوگرم / گاواژ روزانه) عصاره هیدروالکلی یونجه تقسیم شدند. بعد از ۱۴ روز تیمار در روز ۱۵ام، نمونه خونی از حیوانات گرفته شد و فاکتورهای پروتئین کل^۱، فیبرینوژن، پلاکت خون، زمان پروترومبین (PT^۲)، زمان ترومبوپلاستین نسبی (PTT^۳)، سدیم، گلوکز، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT^۴) و آلکالن فسفاتاز (ALP^۵) اندازه‌گیری شد. نتایج توسط آنالیز واریانس یک طرفه^۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره یونجه به طور قابل توجهی سطح سرمی ALT، ALP، و غلظت گلوکز خون را در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد. علاوه بر این، یونجه بصورت وابسته به دوز سطح پروتئین کل، فیبرینوژن و سدیم پلاسما را در مقایسه با گروه کنترل بصورت معنی‌دار (P < ۰/۰۱، P < ۰/۰۰۱) افزایش داد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره یونجه دارای اثرات محافظت کبدی بوده و اثرات آن بر سیستم انعقادی از طریق افزایش سطح فیبرینوژن خون بوده و اثری بر سایر شاخص‌ها ندارد.

واژه‌های کلیدی: یونجه، تست‌های عملکردی کبد، فیبرینوژن، پلاکت خون، گلوکز

وصول مقاله: ۹۵/۲/۲۶ اصلاحیه نهایی: ۹۵/۴/۱۵ پذیرش: ۹۵/۴/۲۱

¹ Total protein

² Prothrombin time

³ Partial thromboplastin time

⁴ Alanine amino transferase

⁵ Alkaline phosphatase

⁶ One way ANOVA

مقدمه

از قدیم استفاده از گیاهان برای مصارف گوناگون مانند تهیه مواد غذایی، ادویه و مصارف دارویی به منظور درمان یا کاهش علائم بیماریها، معمول و مرسوم بوده است. در بیشتر موارد جستجوی خواص گیاهان از راه‌های علمی و نتیجه تحقیقات منتشره شده منجر به تأیید نسخه‌های قدیم و ارزش‌های درمانی ذکر شده برای گیاهان شده است. در طی دهه اخیر تعداد زیادی از گیاهان و افزودنیهای گیاهی غذایی (۱ و ۲) جهت اثرات درمانی، در طیف وسیعی از بیماریهای عصبی، روان، گوارشی و قلب و عروق بکار رفته‌اند که، در برخی موارد اثرات محافظتی آنها بر بافتهای بدن مانند مغز و کبد در مورد آنها گزارش شده است (۳-۵).

یکی از این گیاهان که دارای سابقه‌ای طولانی در استفاده‌های غذایی و دارویی در طب سنتی چین، هند و بسیاری از مناطق خاورمیانه است، گیاه یونجه با نام علمی *Medicago Sativa* و نام عمومی *Alfalfa* می‌باشد که در افزایش اشتها، هضم غذا، و بهبود سوء تغذیه موثر است (۶). گزارش شده است که عصاره برگ گیاه یونجه غیر از کاهش ترشح اسید معده، در درمان زخم معده و مشکلات روده‌ای نیز موثر است (۷ و ۸). از قدیم الایام یونجه به علت اثرات سریع و قابل توجه در درمان بیماران مبتلا به کمبود ویتامین C، افزایش سرعت التیام بافتی و کاهش تورم استفاده شده است. همچنین به نقش مثبت آن در تحریک سلول‌های فیروبلست، کندروبلست و کندروسیت‌ها اشاره شده است (۹). در طب سنتی از یونجه به عنوان مکمل خون^۷ نامبرده می‌شود (۱۰). در بررسی‌های اتنوبوتانیکیال فارماکولوژی مناطق کردنشین مشخص شده است که از گیاه یونجه بمنظور جلوگیری از خونریزی‌های پوستی و تسریع فرایند انعقاد استفاده می‌شود (۱۱-۱۳).

این گیاه حاوی مقادیر قابل توجه آهن، کلسیم، ویتامین‌های A، K، C و آمینو اسیدهای لیزین، فیل آلانین، آسپاراژین و

سیستین است (۱۴). یونجه به دلیل دارا بودن منگنز و همچنین از طریق کاهش فعالیت آنزیم‌های اصلی متابولیسم گلوکز در کبد، نه تنها باعث کاهش سطح گلوکز خون و در نتیجه اثرات ضد دیابتی می‌شود، بلکه با تحریک سلول‌های بتا پانکراس سبب تحریک ترشح انسولین از این سلول‌ها می‌شود (۱۵). مطالعات منتشر شده نشان داده است که مواد موثره موجود در عصاره گیاه یونجه موجب کاهش استاتوز کبدی از طریق اثر گذاری بر ژنهای دخیل در متابولیسم کلسترول می‌شود. از جمله این اثرات تنظیم افزایش گیرنده LDL (Ldlr)، گیرنده نوع X کبدی نوع α (LXR α) و گیرنده فارتزوئید X (FXR) است و استفاده از آن در ضایعات کبدی به عنوان یک عامل محافظ کبد مطرح شده است (۱۶). به علت وجود میزان بالای ویتامین K در این گیاه در صورت مصرف توأم با وارفارین ممکن است منجر به کاهش اثرات وارفارین در افراد مصرف کننده باشد، بنابراین به نظر می‌رسد که در موارد خونریزی ناشی از سوء مصرف وارفارین، می‌توان از یونجه به عنوان آنتی دوت وارفارین استفاده نمود (۱۷). با توجه به مطالب ذکر شده و به علت وجود مقادیر زیاد ویتامین C و K و نقش این عوامل در روند پلاکت سازی، انعقاد خون و استفاده وسیع از آن در طب سنتی برای بند آوردن خون به هنگام جراحات (۱۸ و ۱۴)، هدف از این مطالعه بررسی بیوشیمیایی تاثیر دوزهای مختلف عصاره گیاه یونجه بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون و کبد موش صحرایی نر بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی (مداخله ای) که در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی دانشکده پزشکی در سال ۱۳۹۵ انجام شد، تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم، به ۴ گروه ۸ تایی (انتخاب تعداد نمونه^۸ بر اساس واریانس نتایج مطالعات حیوانی منتشر شده مشابه، انتخاب شد) به صورت

^۷ Blood tonic

کاملاً تصادفی تقسیم شدند (۲۱-۱۹). حیوانات در شرایط آزمایشگاهی مناسب (دمای $24 \pm 2^\circ\text{C}$) شرایط نوری استاندارد و سیکل روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته، رطوبت نسبی ۶۰-۴۰٪ و امکان دسترسی مداوم به آب و غذا به صورت یکسان است) نگه‌داری شدند.

روش عصاره‌گیری برگ گیاه یونجه بدین ترتیب بود که پس از شستشوی برگ گیاه یونجه با آب و خشک کردن در دمای آزمایشگاه، بوسیله آسیاب پودر شده و برای استخراج عصاره گیاه از روش استخراج پیوسته با دستگاه سوکسله و حرارت در نقطه جوش حلال استفاده شد. بدین منظور ۲۰۰ گرم از پودر گیاه یونجه را در کارتوش استوانه‌ای با کاغذ صافی واتمن ریخته و در دستگاه سوکسله قرار گرفت. ترکیبات گیاه بوسیله حلال (اتانول ۷۵٪ و آب مقطر به نسبت ۴ به ۱) استخراج شد. در ادامه گرمای ۵۵ درجه سانتیگراد باعث تبخیر حلال شد و در لوله مبرد، حلال تقطیر شده به صورت قطره قطره به مدت ۲۴ ساعت بر روی پودر یونجه ریخته شد و آهسته آهسته سبب شدن ترکیبات آلی گیاه یونجه شد. که این کار چندین مرتبه در طول شبانه روز انجام شد تا کاملاً ترکیبات آلی گیاه به وسیله حلال تقطیر شده اتانول و آب شسته، و از کاغذ صافی زیر پودر عبور کرده تا کاملاً خالص شود. سپس این عصاره به وسیله لوله‌های تعبیه شده در داخل سوکسله به داخل بالن ریخته شد. برای خالص سازی عصاره و جدا کردن حلال از عصاره، از دستگاه روتاری مدل Heidolph ساخت کشور آلمان استفاده شد. بعد از تنظیم دمای مخزن آب روتاری ۵۰ درجه و قرار دادن بالن محتوی عصاره و حلال در داخل آن، دور آن را در دور ۵۰ rpm تنظیم می‌نماییم. برای اینکه دمای ذوب و جوش حلال پایین آورده شود تا با دمای کمتر حلال جدا شود و صدمه‌ای به ترکیبات آلی موجود در عصاره وارد نشود از پمپ خلأ که به روتاری متصل است، استفاده شد. (۴).

گروههای آزمایش در این مطالعه شامل گروه کنترل دریافت کننده روزانه (۱۴ روز) حامل عصاره، گروه دوم

دریافت کننده یک میلی لیتر حاوی عصاره یونجه با دوز 250 mg/kg ، گروه سوم دریافت کننده یک میلی لیتر حاوی عصاره یونجه با دوز 500 mg/kg و گروه چهارم دریافت کننده یک میلی لیتر حاوی عصاره یونجه با دوز 750 mg/kg بود. بمنظور رساندن عصاره یونجه به غلظت های مد نظر، از آب مقطر در نسبت های خاص بعنوان حلال استفاده شد. به منظور تجویز خوراکی روزانه عصاره یا حلال آن از راه دهان، از سرنگ ۵ سی سی و نیدل گاوژ (Curved, 10 Gauge, 15.2cm length, 6.4mm tip) استفاده شد. کل فرایند گاوژ در هر سر موش در مدت زمان کمتر از یک دقیقه و در حد امکان با کمترین استرس وارده انجام شد.

در روز ۱۵م حیوانات با استفاده از ترکیب کتامین (mg/kg) ۵۰ (زیلازین 10 mg/kg) به نسبت پنج به دو بیهوش شده و خون گیری از ورید شکمی انجام شد. بلافاصله سرم خون توسط سانتریفوژ در دور ۲۵۰۰ بار در دقیقه به مدت ۵ دقیقه جدا و آنزیم های عملکردی کبد ALT، ALP، و پروتئین کل به وسیله دستگاه اتوآنالیزر هیتاچی به روش اسپکتروفتومتری مورد بررسی قرار گرفت. میزان فیبرینوژن با استفاده از کیت شرکت مهسا یاران و دستورالعمل ارائه شده اندازه گیری شد. قسمتی از نمونه خون در لوله آزمایش حاوی ماده ضد انعقادی EDTA^۸ جهت بررسی میزان شمارش پلاکت خون با استفاده از دستگاه Sysmex مدل KX-21N انجام شد، میزان PT و PTT با استفاده از کیت (Pacific Hemostasis, Co) انجام گرفت.

نتایج تحلیل آماری به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد^۹ (SEM) شاخص ها در هر گروه بیان شد. به منظور اطمینان از نرمال بودن توزیع متغیرهای کمی از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسه های چند گانه از آنالیز واریانس یک طرفه و بدنبال آن از آزمون تعقیبی Tukeys'

^۸ Ethylene di-amine tetra-acetic Acid

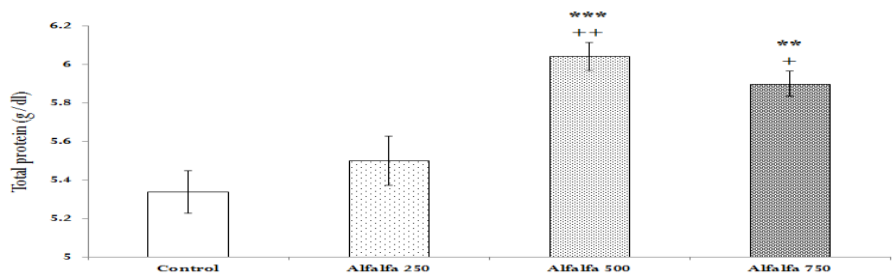
^۹ Standard Error of the Mean

استفاده شد. در همه تحلیل ها $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

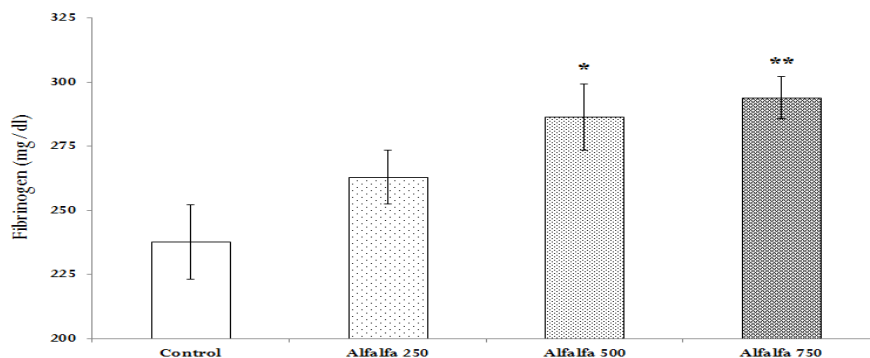
نتایج

گاواژ ۱۴ روزه عصاره هیدرو الکلی برگ گیاه یونجه در موشهای صحرایی از یک طرف باعث افزایش معنی دار میزان پروتئین کل پلاسما در گروههای ۷۵۰ و ۵۰۰ mg/kg دریافت کننده عصاره نسبت به گروه کنترل شد (نمودار ۱، $P < 0.001$ ، $P < 0.01$) و از طرف دیگر این افزایش در گروههای ۷۵۰ و ۵۰۰ mg/kg بصورت معنی دار بیشتر از

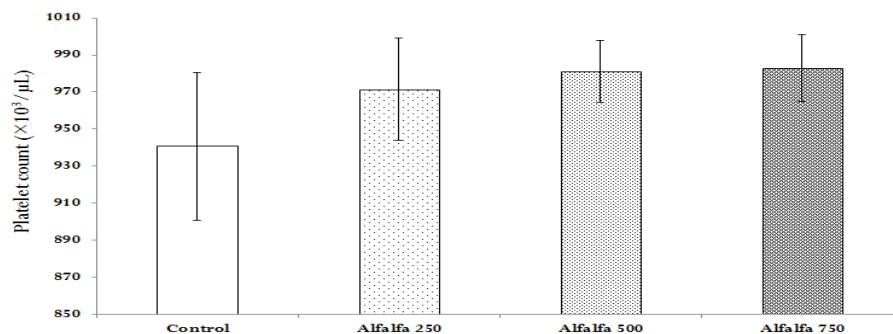
گروه ۲۵۰ mg/kg دریافت کننده عصاره بود (نمودار ۱، $P < 0.01$ ، $P < 0.05$). همچنین عصاره بصورت وابسته به دوز، میزان فیبرینوژن پلاسما را بصورت معنی دار در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد (نمودار ۲، $P < 0.01$ و $P < 0.05$). در بررسی آزمایشگاهی فاکتورهای انعقادی مشخص شد که حیوانات تیمار شده با عصاره در مقایسه با گروه کنترل، تغییر معنی داری را در میزان پلاکت و شاخص های PT و PTT را بوجود نیاورد (نمودارهای ۳ و ۴).



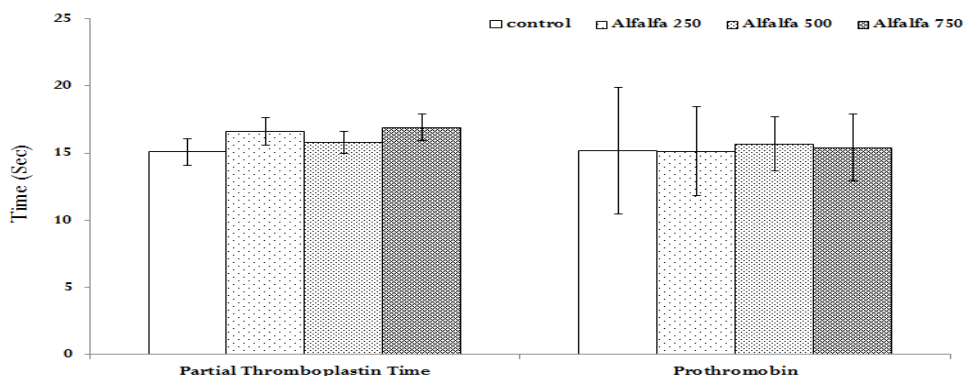
نمودار ۱. مقایسه میزان توتال پروتئین سرم در گروه کنترل (حامل عصاره) و گروههای دریافت کننده دزهای ۷۵۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ mg/kg عصاره هیدرو الکلی برگ گیاه یونجه. هر ستون بیانگر میانگین $\pm$ SEM برای نمونه خونی از هشت سر موش صحرایی نر می باشد. $P < 0.001$ و $P < 0.01$ تفاوت معنی دار با گروه کنترل را نشان می دهند. $P < 0.01$ و $P < 0.05$ تفاوت معنی دار با گروه دریافت کننده ۲۵۰ mg/kg عصاره یونجه (Alfalfa) را نشان می دهند.



نمودار ۲. مقایسه میزان فیبرینوژن سرم در گروه کنترل (حامل عصاره) و گروههای دریافت کننده دزهای ۷۵۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ mg/kg عصاره هیدرو الکلی برگ گیاه یونجه. هر ستون بیانگر میانگین $\pm$ SEM برای نمونه خونی از هشت سر موش صحرایی نر می باشد. $P < 0.01$ و $P < 0.05$ تفاوت معنی دار با گروه کنترل را نشان می دهند.



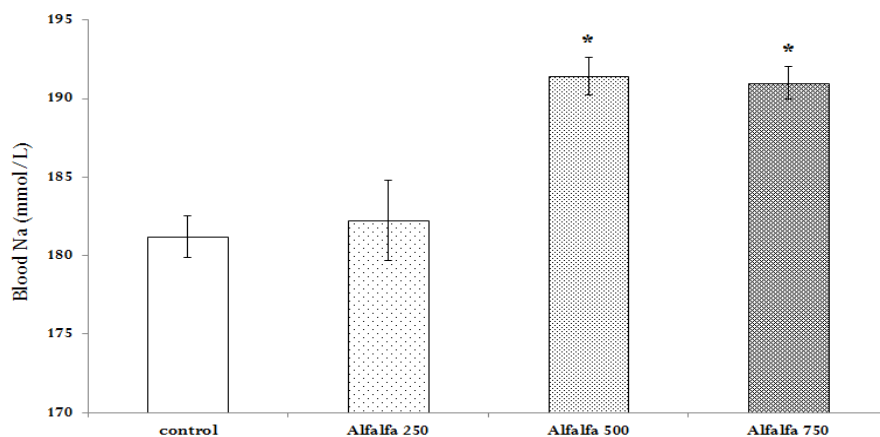
نمودار ۳. مقایسه میزان پلاکت خون در گروه کنترل (حامل عصاره) و گروههای دریافت کننده دُزهای ۷۵۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ عصاره هیدروالکلی برگ گیاه یونجه. هر ستون بیانگر میانگین $\pm$ SEM برای نمونه خونی از هشت سر موش صحرایی نر می باشد.



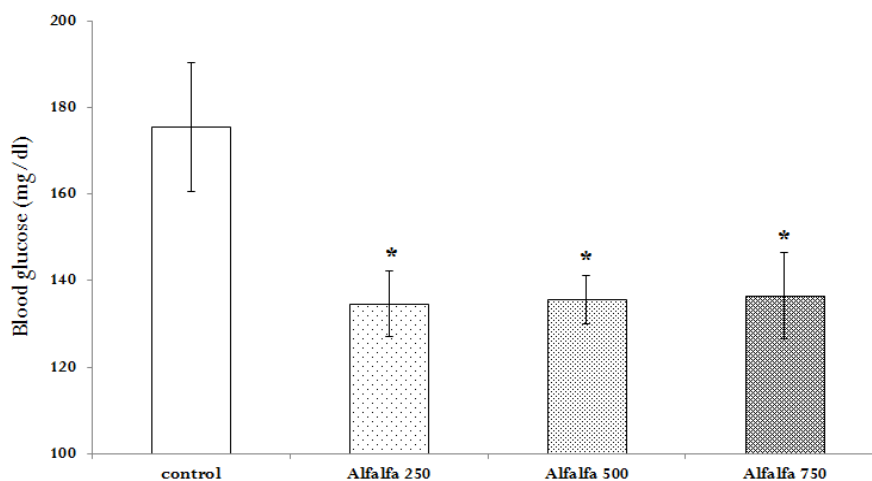
نمودار ۴. مقایسه میزان PT و PTT پلاسما در گروه کنترل (حامل عصاره) و گروههای دریافت کننده دُزهای ۷۵۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ عصاره هیدروالکلی برگ گیاه یونجه. هر ستون بیانگر میانگین $\pm$ SEM برای نمونه خونی از هشت سر موش صحرایی نر می باشد.

میزان آنزیمهای شاخص عملکردی کبد (ALT و ALP) در اثر گاوآژ ۱۴ روزه عصاره در دوزهای ۷۵۰ و ۵۰۰ mg/kg (برای شاخص ALP) و دوز ۵۰۰ mg/kg (برای شاخص ALT) بصورت معنی داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافتند (نمودار ۷، $P < 0.001$ ، $P < 0.05$). از طرفی در مقایسه دوزهای مختلف عصاره تفاوت معنی داری بین گروههای دریافت کننده دُز ۷۵۰ و ۵۰۰ عصاره با گروه دریافت کننده دُز ۲۵۰ مشاهده شد (نمودار ۷، $P < 0.001$ ، $P < 0.05$).

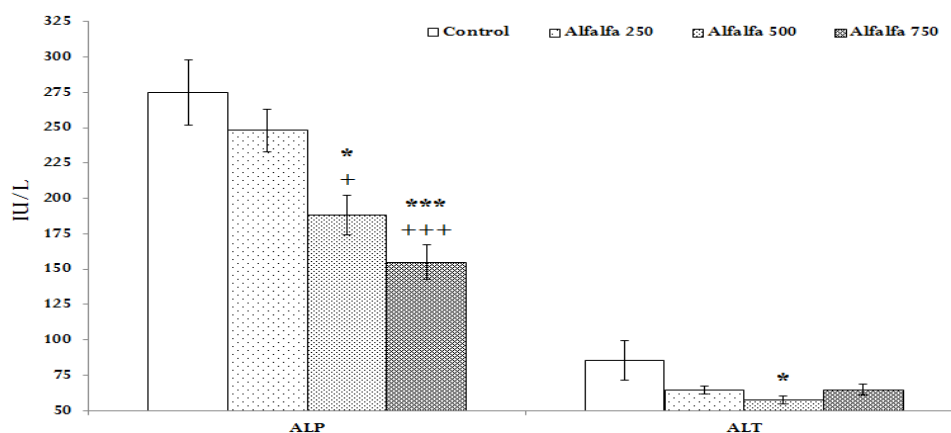
فاکتورهای بیوشیمیایی بررسی شده خون در این مطالعه (سدیم و گلوکز) در اثر تجویز ۱۴ روزه عصاره نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری را نشان دادند، این افزایش در مورد گلوکز در همه دوزهای مورد استفاده بود، در حالیکه در مورد سدیم فقط در دوزهای ۷۵۰ و ۵۰۰ mg/kg عصاره، افزایش معنی دار بود (نمودار ۵ و ۶، $P < 0.05$ ، $P < 0.001$).



نمودار ۵. مقایسه میزان سدیم خون در گروه کنترل (حامل عصاره) و گروههای دریافت کننده دزهای ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی برگ گیاه یونجه. هر ستون بیانگر میانگین $\pm$ SEM برای نمونه خونی از هشت سر موش صحرایی نر می باشد. $P < 0.05$ * تفاوت معنی دار با گروه کنترل را نشان می دهند.



نمودار ۶. مقایسه میزان گلوکز در گروه کنترل (حامل عصاره) و گروههای دریافت کننده دزهای ۲۵۰ و ۷۵۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی برگ گیاه یونجه. هر ستون بیانگر میانگین $\pm$ SEM برای نمونه خونی از هشت سر موش صحرایی نر می باشد. $P < 0.05$ * تفاوت معنی دار با گروه کنترل را نشان می دهند.



نمودار ۷. مقایسه میزان ALP و ALT سرم در گروه کنترل (حامل عصاره) و گروه‌های دریافت کننده دُزهای ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی برگ گیاه یونجه. هر ستون بیانگر میانگین $\pm$ SEM برای نمونه خونی از هشت سر موش صحرایی نر می‌باشد. $P < 0.05$ و $***P < 0.001$ تفاوت معنی دار با گروه کنترل را نشان می‌دهند. $P < 0.05$ و $***P < 0.001$ تفاوت معنی دار با گروه دریافت کننده ۲۵۰ mg/kg عصاره یونجه (Alfalfa) را نشان می‌دهند.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره هیدروالکلی برگ گیاه یونجه موجب افزایش غلظت کل پروتئین پلاسما می‌شود که احتمالاً قسمت عمده آن مربوط به افزایش فیبرینوژن است. افزایش گلبولین‌های پلاسما، ممکن است بعلت اثر محرک این گیاه بر سیستم ایمنی و افزایش معنی‌دار مقدار لنفوسیت‌های B و T (۲۲)، خاصیت وسیع ضد باکتریایی (۲۳-۲۵) و ویروسی باشد (۲۶). افزایش سطح فیبرینوژن پلاسما و عدم تغییر معنی‌دار شاخص‌های PT و PTT ممکن است به علت ترکیبات فیتواستروژن یونجه باشد (۲۷) که مصرف آن احتمالاً منجر به افزایش سطح فیبرینوژن پلاسما می‌شود. در این رابطه گزارش شده است که افزایش استروژن منجر به افزایش سطح فیبرینوژن پلاسما می‌شود، بطوریکه قطع مصرف قرص‌های کنتراستپو همزمان با کاهش سطح استروژن باعث کاهش سطح فیبرینوژن پلاسما نیز می‌شود (۲۸). از طرف دیگر افزایش غلظت فیبرینوژن پلاسما باعث بهبود فرایند اختلال تشکیل لخته در طول

ترومبوسیتوپنی و جلوگیری از طولانی شدن فرایند خونریزی می‌شود (۲۹).

هرچند که یافته‌های ما نشان داد که عصاره یونجه بر روی میزان پلاکت خون تاثیر معنی‌داری نداشت. اما گزارش شده است که کنسانتره پروتئین یونجه در خوک منجر به تحریک مسیرهای سلولهای خونی از جمله گلبول‌های قرمز (و به طبع آن هموگلوبین و هماتوکریت) می‌شود (۳۰). این نتایج متفاوت احتمالاً بعلت متفاوت بودن پروتکل آزمایش و ترکیب متفاوت یونجه که بصورت کنسانتره بوده است. بنظر می‌رسد این اثر گذاری کنسانتره برگ یونجه بصورت مکمل بواسطه ریز مغذی‌های غنی یونجه باشد که در کنترل کم خونی، توزیع بهتر گلبول قرمز و بهبود ظرفیت کل اتصالی آهن باشد (۳۱). همچنین گزارش شده است این ترکیب می‌تواند یک جایگزین مناسب برای مکمل‌های آهن و اسید فولیک در عارضه‌های کم خونی در دختران باشد (۳۲).

هیپاتوسیت‌ها به طور طبیعی حاوی مقداری زیادی آنزیم‌های متابولیکی هستند که در اثر آسیب و اختلال در غشای

این ترکیب با کاهش سطح پلاسمایی آنزیم‌های ALT و ALP دارای اثر محافظتی بر روی کبد می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بدینوسیله مراتب تشکر و سپاس خود را از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کردستان و کمیته تحقیقات دانشجویی، به خاطر حمایت‌های مالی اعلام می‌دارند. این مقاله از نتایج طرح مصوب در کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی کردستان با شماره ۱۳۹۵/۲۰ استخراج گردیده است.

پلاسمایی این سلول‌ها، به داخل پلاسمانشت می‌کنند و باعث افزایش سطوح سرمی این آنزیم‌ها می‌شوند. بنابراین افزایش غلظت این آنزیم‌ها، معیار مناسبی برای ارزیابی میزان آسیب سلول‌های کبدی به شمار می‌رود (۳۳). کاهش سطح پلاسمایی آنزیم‌های کبدی می‌تواند بعثت تغییرات نیمه عمر، افزایش دفع، کاهش تولید یا افزایش برداشت این آنزیم‌ها باشد (۳۴). بسیاری از عوامل آنتی‌اکسیدانی و کاهنده‌های تولید رادیکال‌های آزاد موسوم به تثبیت‌کننده‌های غشای سلولی^{۱۰}، می‌توانند موجب کاهش سطح پلاسمایی این آنزیم‌ها شوند (۳۵). یونجه بعثت دارا بودن ترکیباتی مانند ایزوفلاوین، بتا سیتوسترول، ویتامین‌ها و مقادیر فراوان آنتی‌اکسیدان، اثرات محافظتی بر کبد داشته (۳۶) و باعث تعدیل عمل سیتوکین‌های التهابی و کاهش پاسخ التهاب می‌شود (۳۷). در تایید یافته‌های ما گزارش شده است که عصاره متانولی ۱٪ یونجه در دوزهای مشخص باعث کاهش سمیت کبدی در طپور شده و بصورت معنی - دار سطح پلاسمایی آنزیم‌های ALT و ALP را کاهش می - دهد (۳۸). در تایید یافته‌های ما در رابطه با اثرات کاهنده قند خون، گزارش شده است که اجزاء مختلف گیاه یونجه بوسیله اثرات تجمعی موجب افزایش آزاد سازی انسولین و کاهش غلظت پلاسمایی گلوکز می‌شوند (۳۹). همچنین گیاه یونجه بواسطه ترکیبات ایزوفلاوینی غیر از کاهش گلوکز خون، مانع گلیکولیزه شدن هموگلوبین می‌شود (۴۰).

نتیجه گیری

یافته‌های حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره هیدرو الکلی گیاه یونجه از طریق افزایش میزان فیبرینوژن خون احتمالاً بر روی فرآیند انعقاد خون موثر بوده و این اثر ارتباطی با تغییر میزان پلاکت خون ندارد. همچنین اثرات

¹⁰ Membrane stabilizer

Reference

- 1.Foster S. Tyler's Honest Herbal: A Sensible Guide to the Use of Herbs and Related Remedies .3nd Ed. USA, New York: Haworth Herbal Press, 2012:23-25.
- 2.Schulz V, Hänsel R, Blumenthal M, Tyler VE. Rational phytotherapy: A reference guide for physicians and pharmacists: Springer Science & Business Media; 2013:174-5.
- 3.Ghaderkhani S, Moloudi MR, Izadpanah E, Mohammadi R, Rostami A, Khomand P. Effect of hydroalcoholic extract of cinnamomum on strychnine-induced. Journal Of Isfahan Medical School 2015;32:388-95.
- 4.Moloudi MR, Hassanzadeh K, Rouhani S, Zandi F, Ahmadi A, Khalwatian P, et al. Effect of chloroformic extract of Cichorium intybus on liver function tests and serum level of TNF- α in obstructive cholestasis in rat. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences 2014;19:10-9.
- 5.Heydari S, Hassanzadeh K, Moloudi M, Izadpanah E. Effect of hydroalcoholic extract of Cinnamomum on morphine-induced withdrawal symptoms in rats. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2015;20: 8-14.
- 6.Malekinejad H, Agh N, Vahabzadeh Z, Varasteh S, Alavi MH. In vitro reduction of zearalenone to β -zearalenol by rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) hepatic microsomal and post-mitochondrial subfractions. Iranian Journal of Veterinary Research;13: 28-35.
- 7.Lybbert T, Gibbs P, Cohen N, Scott B, Sigler D, Green E, editors. Feeding alfalfa hay to exercising horses reduces the severity of gastric squamous mucosal ulceration. Proceedings of the 53rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, Orlando, Florida, USA, 1-5 December, 2007; 2007: American Association of Equine Practitioners (AAEP.)
- 8.Bora KS, Sharma A. Phytochemical and pharmacological potential of *Medicago sativa*: A review. Pharmaceutical Biology 2011;49:211-20.
- 9.Khayatzadeh J, Rafiei H, Farhoodi M. The wound healing effect of *Medicago sativa* extract on pinna rabbit cartilage. Arak Medical University Journal 2009;12:29-38.
- 10.Mikaili P, Shayegh J, Asghari MH, Sarahroodi S, Sharifi M. Currently used traditional phytomedicines with hot nature in Iran. Annals of Biological Research 2011;2:56-68.
- 11.Kaval I, Behçet L, Cakilcioglu U .Ethnobotanical study on medicinal plants in Geçitli and its surrounding (Hakkari-Turkey). Journal of Ethnopharmacology 2014;155:171-84.
- 12.Esmaeili S, Malekmohammadi M, Hassanpour A, Mosaddegh M. Ethnobotanical survey of medicinal plants used traditionally in two villages of Hamedan, Iran. Research Journal of Pharmacognosy 2014;1:7-14.
- 13.Ahmed HM. Ethnopharmacobotanical study on the medicinal plants used by herbalists in Sulaymaniyah Province, Kurdistan, Iraq. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine 2016;12:1.
- 14.Brinker FJ. Herb contraindications & drug interactions: 1nd Ed. sandy: Eclectic Medical Publications, 2001: 215-19.
- 15.Amraie E, Farsani MK, Sadeghi L, Khan TN, Babadi VY, Adavi Z. The effects of aqueous extract of alfalfa on blood glucose and lipids in alloxan-induced diabetic rats. Interventional Medicine and Applied Science 2015;7:124-8.
- 16.Liang X-p, Zhang D-q, Chen Y-y, Guo R, Wang J, Wang C-z, et al. Effects of alfalfa saponin extract on mRNA expression of Ldlr, LXR α , and FXR in BRL cells .Journal of Zhejiang University Science 2015;6:479-86.

17. Basch E, Ulbricht C, Harrison M, Sollars D, Smith M, Dennehy C, et al. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) A Clinical decision support tool. *Journal of Herbal Pharmacotherapy* 2003;3:69-90.
18. Khoshvaghti A, Nazifi S, Akbarpour B, Razavi S. The effects of vitamin C on vitamin K-related clotting factors. *Comparative Clinical Pathology* 2011;20:513-7.
19. Moloudi R, Nabavizadeh F, Nahrevanian H, Hassanzadeh G. Effect of different doses of GLP) ۲-Teduglutide) on acute esophageal lesion due to acid-pepsin perfusion in male rats. *Peptides* 2011;32:2086-90.
20. Hassanzadeh A, Shahvaisi K, Hassanzadeh K, Izadpanah E, Amini A, Moloudi MR. Effects of rebamipide and encapsulating rebamipide with chitosan capsule on inflammatory mediators in rat experimental colitis. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences* 2015;20:94-104.
21. Nabavizadeh F, Moloudi R, Dehpour AR, Nahrevanian H, Shahvaisi K, Salimi E. The effects of cholestasis and cirrhosis on gastric acid and pepsin secretions in rat: Involvement of nitric oxide. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2010;13:207-12.
22. Dong X, Gao W, Tong J, Jia H, Sa R, Zhang Q. Effect of polysavone (alfalfa extract) on abdominal fat deposition and immunity in broiler chickens. *Poultry Science* 2007;86:1955-9.
23. Avato P, Bucci R, Tava A, Vitali C, Rosato A, Bialy Z, et al. Antimicrobial activity of saponins from *Medicago* sp. structure-activity relationship. *Phytotherapy Research* 2006;20:454-7.
24. Aliahmadi A, Roghanian R, Emtiazi G, Ghassempour A. A simple method for primary screening of antibacterial peptides in plant seeds. *Iranian Journal of Microbiology* 2011;3:104.
25. Doss A, Parivuguna V, Vijayasanthi M, Surendran S. Antibacterial evaluation and phytochemical analysis of *Medicago sativa* L. against some microbial pathogens. *Indian Journal of Science and Technology* 2011;4:550-2.
26. Kun ZLZDF. The inhibition of refined components of *medicago sativa* polysaccharides to the activities of reverse transcriptase of HIV and protease of HIV. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology* 2006;2:010.
27. Shi Y, Guo R, Wang X, Yuan D, Zhang S, Wang J, et al. The regulation of alfalfa saponin extract on key genes involved in hepatic cholesterol metabolism in hyperlipidemic rats. *PloS one* 2014;9:e88282.
28. Kamath S, Lip G. Fibrinogen: biochemistry, epidemiology and determinants. *QJM: An International Journal of Medicine*. 2003;96:711-29.
29. Velik-Salchner C, Haas T, Innerhofer P, Streif W, Nussbaumer W, Klingler A, et al. The effect of fibrinogen concentrate on thrombocytopenia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2007;5:1019-25.
30. Pietrzak K, Grela ER. Influence of alfalfa protein concentrate dietary supplementation on blood parameters of growing-finishing pigs. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 2015;59:393-9.
31. Bhalja P, Subhadra M. Effect of nutritional counseling and alfalfa supplementation on exercise performance and nutritional anemia of overweight and obese adult females. *Journal of Human Ecology* 2011;35:155-9.
32. Vyas S, Collin SM, Bertin E, Davys GJ, Mathur B. Leaf concentrate as an alternative to iron and folic acid supplements for anaemic adolescent girls: a randomised controlled trial in India. *Public Health Nutrition* 2010;13:418-23.

- 33.Hoekstra LT, de Graaf W, Nibourg GA, Heger M, Bennink RJ, Stieger B, et al. Physiological and biochemical basis of clinical liver function tests: a review. *Annals of Surgery* 2013;257:27-36.
- 34.Mohammadi A, Baneshi MR, Vahabzadeh Z, Khalili T. The Influence of Lecithin Administration on Hepatic Expression FMO3 and FMO5 Genes in N-Mary Mice. *Biosciences Biotechnology Research Asia* 2016; 13:1797-1803.
- 35.Lin H-M, Tseng H-C, Wang C-J, Lin J-J, Lo C-W, Chou F-P. Hepatoprotective effects of *Solanum nigrum* Linn extract against CCl₄-induced oxidative damage in rats. *Chemico-Biological Interactions* 2008;171:283-93.
- 36.Al-Dosari MS. In vitro and in vivo antioxidant activity of alfalfa (*Medicago sativa* L.) on carbon tetrachloride intoxicated rats. *The American Journal of Chinese Medicine* 2012;40:779-93.
- 37.Paradkar PN, Blum PS, Berhow MA, Baumann H, Kuo S-M. Dietary isoflavones suppress endotoxin-induced inflammatory reaction in liver and intestine. *Cancer Letters* 2004;215:21-8.
- 38.Izadpanah E, Hassanzadeh K, Yousefinejad V, Shahveisi K, Fatahi N, Moloudi MR. Effect of selegiline on liver cholestasis induced by bile duct ligation in rat. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences* 2016;21:20-30.
- 39.Bnouham M, Ziyat A, Mekhfi H, Tahri A, Legssyer A. Medicinal plants with potential antidiabetic activity-A review of ten years of herbal medicine research (1990-2000). *International Journal of Diabetes and Metabolism* 2006;14:1.
- 40.Hosseini M, Asgary S, Najafi S. Inhibitory potential of pure isoflavonoids, red clover, and alfalfa extracts on hemoglobin glycosylation. *Arya Atherosclerosis* 2015;11:133.