



مقاله پژوهشی

بررسی اثر درمانی عصاره هیدرولکلی علف چای بر کولیت القاشه توسط اسید استیک در موش صحرایی نر

نادر تنبیده^۱، سیده لیلا نعمت‌الهی^{۲*}، سید وحید حسینی^۳، مسعود حسین‌زاده^۴، داود مهربانی^۱، علیرضا صفرپور^۵، مسعود سپهری منش^۶، امید کوهی حسین‌آبادی^۷، آسماء نجیبی^۸

- ۱- مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی و فن‌آوری ترانس ژنیک، بخش فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
- ۲- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
- ۳- مرکز تحقیقات کلورکتال، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
- ۴- بخش پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
- ۵- مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
- ۶- مرکز حیوانات آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
- ۷- بخش سامانه‌شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۵/۲۵

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۱/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: اثر ضدالتاہبی علف چای از دیرباز مورد توجه بوده است. کولیت اولسروز یک فرم از بیماری‌های مزمن التهابی روده است. در این مطالعه اثرات علف چای بر تغییرات هیستوپاتولوژیکی و سطح مالون دی آلدھید (MDA) به دست آمده از بافت کولون رت‌ها با کولیت ایجاد شده ارزیابی گردید.

مواد و روش‌ها: ۷۰ سر رت نر از نژاد Sprague Dawley در ۷ گروه به تعداد مساوی تقسیم شدند. کولیت به وسیله اسیداستیک در آن‌ها ایجاد شد. گروه ۱ و ۲، ۳ سی سی محلول خوارکی با غلظت‌های به ترتیب 600 mg/kg و 300 mg/kg دریافت کردند. در گروه ۳ و ۴، ۱ سی سی ژل به ترتیب ۲۰ و ۱۰ درصد انما شد. در گروه ۵ به عنوان گروه کنترل مثبت ۱ سی سی آسکول انما گردید و در گروه ۶ به عنوان گروه کنترل منفی ۱ سی سی نرمال سالین انما شد. گروه ۷ تنها ژل پایه از طریق انما دریافت کرد. نمونه کولون رت‌ها جهت ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژیک و سطح MDA بافتی بعد از گذشت ۷ روز از شروع درمان بررسی شدند.

نتایج: عصاره علف چای در دو فرم خوارکی و انما از طریق کاهش فعالیت MDA اثرات درمانی بهتری روی بافت رت‌هایی که کولیت در آن‌ها ایجاد شده بود داشتند. در فرم انما، ژل ۲۰ درصد اثر بهتری نسبت به ژل ۱۰ درصد نشان داد. در فرم خوارکی با دوز 600 mg/kg نسبت به 300 mg/kg اثر درمانی بهتری مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: علف چای می‌تواند به عنوان درمان انتخابی مخصوصاً در فرم انما در بیماری کولیت استفاده شود.

کلمات کلیدی: علف چای، کولیت، بیماری التهابی مزمن روده، مالون دی آلدھید

مقدمه

بیماری التهابی مزمن روده شامل کولیت اولسروز و بیماری کرون است که به عنوان یک بیماری بهبود یابنده، مزمن و عودکننده التهابی روده بزرگ تعریف می‌شود. این بیماری پیچیده و چند فاکتوری است و علت مشخصی ندارد هرچند تأثیر عوامل محیطی، ژنتیکی و فاکتورهای ایمنی در ایجاد بیماری نشان داده شده است. بیماری به وسیله چند مکانیسم پاتوفیزیولوژی نظری افزایش رونویسی بعضی از سایتوکاین‌ها نظیر TNF, IL1, IL6 ایجاد می‌شود و علائم بالینی از قبیل درد شکمی، اسهال و خون در مدفع و کاهش وزن دارد (۱ و ۲). شیوع کولیت اولسروز ۱۰-۲۰ نفر در ۱۰۰ هزار نفر در سال در کشورهای غربی است (۳). میزان ابتلا به این بیماری در کشورهای صنعتی و کشورهای آسیایی در دو دهه اخیر افزایش یافته و نسبت ابتلای مردان به زنان $0.9/1$ است (۲). کولیت اولسروز پایدار می‌تواند ریسک گسترش کانسر کلورکتال

* نویسنده مسئول: سیده لیلا نعمت‌الهی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
Email: sl.nematollahi@gmail.com



مواد و روش‌ها

آماده کردن گیاه

عصاره‌گیری در دانشکده داروسازی زیر نظر کارشناسان و استادی محترم به صورت زیر تهیه شده و تحويل مجری طرح گردیده است. گیاه تازه علف چای از شیراز تهیه و گونه آن در قسمت گیاه‌شناسی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شیراز مشخص شد. برای تهیه عصاره هیدروالکلی، گیاهان برای ۵ روز در دمای اتاق، خشک و سپس پودر گردیده و با روش آتانول-آب (۷۰:۳۰) برای ۴۸ ساعت منتقل گردید و حمل خارج‌سازی حلal صورت گرفت. عصاره نیمه جامد و فرم ژل آن بعد از فیلتر شدن و تبخیر، تحت کاهش فشار در دستگاه rotary evaporator (روتاری) تهیه شد (۸).

نگهداری حیوانات

۷۰ سر رت نر از نژاد Sprague Dawley با دامنه وزنی 220 ± 20 گرم تهیه شدند و با استفاده از جدول اعداد تصادفی در ۷ گروه (هر گروه ۱۰ سر رت) و به صورتی که در ادامه می‌آیند زیرگروه بندی شدند. رت‌ها در شرایط استاندارد با رطوبت نسبی 55 ± 5 درصد و دمای محیط 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و آزادانه آب و غذا روزانه دریافت می‌نمودند. این مطالعه در کمیته اخلاق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز بررسی و بر اساس مصوبه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی تصویب گردید. دوزهای مصرفی بر اساس مطالعات قبلی (۲۱ و ۲۲) و با مشاوره متخصص طب سنتی محاسبه گردید.

گروه ۱: رت‌ها یک سی سی محلول عصاره هیدروالکلی علف چای با دوز 600 mg/kg از طریق خوراکی روزانه دریافت کردند. گروه ۲: رت‌ها یک سی سی محلول عصاره هیدروالکلی علف چای با دوز 300 mg/kg از طریق خوراکی روزانه دریافت کردند. گروه ۳: رت‌ها یک سی سی ژل ۲۰ درصد عصاره هیدروالکلی علف چای از طریق انما روزانه دریافت کردند.

گروه ۴: رت‌ها یک سی سی ژل ۱۰ درصد عصاره هیدروالکلی علف چای از طریق انما روزانه دریافت کردند.

گروه ۵: گروه کنترل مثبت که رت‌ها یک سی سی آسکول از طریق انما روزانه دریافت کردند.

گروه ۶: گروه کنترل منفی که رت‌ها ۱ سی سی نرمال سالین از طریق انما روزانه دریافت کردند.

را تا ۱۰ برابر افزایش دهد (۴-۶). در مدت ۲۰ سال مدل‌های مختلفی از کولیت به عنوان یک ابزار ضروری برای کشف مکانیزم‌های بیماری‌زاوی بیماری التهابی روده برای تعیین درمان‌های بالقوه توسعه یافته که شامل sodium sulfate, 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid, oxazolone, indomethacin و acetic acid است، در بین این عوامل کولیت ایجادشده به وسیله اسید استیک بیشتر شبیه کولیت در انسان است (۷ و ۸). چندین رژیم دارویی برای درمان کولیت اولسرroz وجود دارد. گسترش و شدت کولیت اولسرroz و محل آنatomیکی آن روی داروهایی که برای بیماران استفاده می‌شود تاثیر دارد. این درمان‌ها شامل درمان‌های خوراکی و موضعی است. داروهای aminosalicylate analogues (Sulfasalazine آنالوگ‌های آمینوسالیسیلات)، corticosteroids (کورتیکواستروئیدها)، immunomodulators (داروهای suppressive antimetabolites آینتی متابولیت‌های سرکوبگر)، antitumor necrosis factor (آینتی متابولیت‌های سرکوبگر)، (infliximab) و در بعضی موارد آینتی‌بیوتیک‌ها به عنوان درمان‌های انتخابی استفاده شده‌اند (۹). در مطالعات قبلی داروهای گیاهی نظیر زرشک، کلپوره، گل همیشه بهار، شیرین بیان، توت فرنگی و بنه جهت درمان کولیت اولسرroz پیشنهادشده است (۱۴-۸). علف چای (hypericum perforatum) که به عنوان St. John's wort می‌شود یک گیاه دائمی با گل‌های زرد است که به خانواده Clusiaceae تعلق دارد و برای درمان اضطراب، افسردگی، بردگی‌ها و به عنوان آینتی‌اکسیدان، مسکن و محافظت‌کننده سیستم عصبی استفاده می‌شود (۱۶). این گیاه دارای اثرات آینتی باکتریال و آینتی‌وایرال است (۱۷) که از طریق مهار فاکتور رونویسی- κB عمل می‌نماید (۱۸) و با serine/threonine kinases protein kinase C (PKC) هستند مداخله می‌کند (۱۹). خانواده علف چای اثر قابل توجه در بهبودی زخم‌ها و اثر ضدالتهابی دارد (۲۰). اثر مفید علف چای بر روی بهبودی موکوزیت دهانی در همسرت طلایی بررسی شده است (۱۶)، اما اثر فرم‌های مختلف دارویی آن بر روی کولیت اولسرroz در حیوانات و انسان بهندرت بررسی شده است.

هدف از این مطالعه تعیین اثر عصاره هیدروالکلی گیاه علف چای در دو فرم خوراکی و انما بر روی بهبودی موکوزیت دهانی از جهت تغییرات هیستوپاتولوژیکی و سطح MDA در رت‌های نر است.



کشته شدند و ۱۰ سانتی‌متر از انتهای کولون آن‌ها برای ارزیابی تغییرات هیستوپاتولوژیکی (zخم، ulcer (التهاب)، disorganization (آسه‌های کریپت)، repair (به‌هم‌ریختگی بافتی)، destruction (تخرب بافتی)، granulation (بازسازی) و (بافت دانه‌ای)) تهییه و به آزمایشگاه پاتولوژی دانشکده پزشکی منتقل شد (۲۶-۲۳). دو نمونه از عکس‌های تغییرات هیستوپاتولوژیکی در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است.

اندازه‌گیری MDA

نمونه‌های بافتی کولون در دمای ۰-۸۰ درجه سانتی‌گراد برای ارزیابی‌های بعدی فعالیت MDA نگهداری و سپس اندازه‌گیری شدند (۲۵). وجود MDA از شکل‌گیری کمپلکس رنگی در حضور HCL و TBA (thiobarbituric acid) به‌وسیله spectrophotometer (اسپکتروفوتومتر) در طول موج ۵۳۲ نانومتر (Shimadzu uv-160, Japan) می‌شود تشخیص داده شد (۳, 3'-tetraethoxypropane). استفاده و یافته‌ها بر اساس $\mu\text{mol/g}$ گزارش گردید.

آنالیز آماری

نتایج به صورت mean \pm SD گزارش شدند. تفاوت بین گروه‌ها به‌وسیله one-way ANOVA و تست تکمیلی significant difference (LSD) post-hoc آنالیزهای آماری به‌وسیله نرم‌افزار SPSS انجام گردید (version 16, Chicago, IL, USA). نتایج معنادار به ازای $P < 0.05$ در نظر گرفته شد (۲۷). داده‌های کیفی مثل نمره دهی بر اساس Mann-Whitney U test

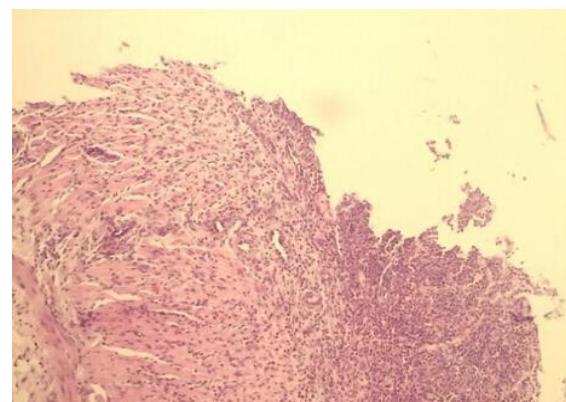
نتایج

مقایسه میزان MDA بین ۷ گروه در نمودار ۱ نشان داده شده است. بین گروه‌های ۶ و ۷ با ۵ گروه دیگر و همچنین بین گروه‌های ۲، ۴ و ۵ با دو گروه ۱ و ۳ تفاوت معناداری وجود دارد ($P < 0.05$). سطح همه گروه‌های درمانی ۱-۵ کمتر از گروه‌های ۶ و ۷ نمایش داده شد. تمامی نمره دهی هیستوپاتولوژی که پروسه‌های التهابی را شامل می‌شود در نمودار ۲ نشان داده شده است. بر اساس نمره دهی الگوهای التهابی، کاهش معناداری در گروه‌های درمانی ۱ تا ۵ در مقایسه با گروه ۶ مشاهده می‌شود ($P < 0.05$). هرچند این کاهش در گروه‌های ۲، ۳ و ۴ با ۷ معنادار نیست ($P > 0.05$). همچنین

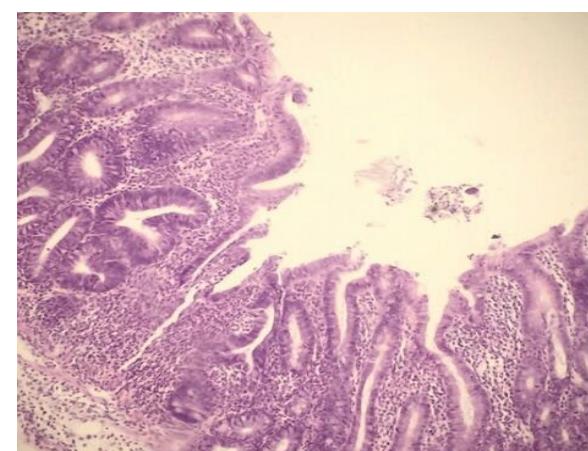
گروه ۷: رت‌ها ژل پایه را از طریق انما روزانه دریافت کردند.
روش ایجاد کولیت

رت‌ها به مدت ۳۶ ساعت بدون غذا نگهداری شدند تا روده‌های آن‌ها قبل از ایجاد کولیت تخلیه شود، سپس یک لوله نرم پلی اورتان به قطر ۲ میلی‌متر جهت تزریق درون رکتومی اسید استیک انتخاب و ۸ سانتی‌متر به درون رکتوم وارد شد و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک ۳ درصد انما شد. تمامی مراحل تحت بیهوشی سطحی با کتامین (۱۰۰ mg/kg) محصول شرکت آلمانی Rotexmedica و زایلازین (۱۰ mg/kg) محصول شرکت هلندی Alfasan صورت گرفت.

از ریابی هیستوپاتولوژیکی بعد از گذشت ۷ روز از ایجاد کولیت رت‌ها به روشن اخلاقی



شکل ۱: عکس میکروسکوپی نمونه از کولون موش‌های صحرایی بعد از القا کولیت توسط اسید استیک

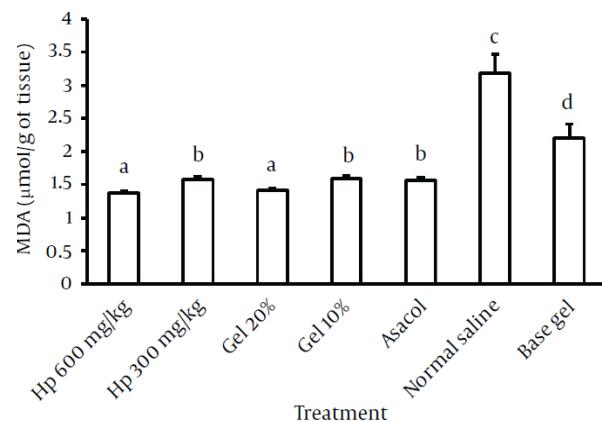


شکل ۲: عکس میکروسکوپی نمونه از کولون موش‌های صحرایی بعد از القا کولیت توسط اسید استیک

ژل ۲۰ درصد اثرات درمانی بهتری در مقایسه با ژل ۱۰ درصد و شکل خوارکی ۶۰۰ mg/kg اثرات درمانی بهتری در مقایسه با دوز ۳۰۰ mg/kg دارد. مقایسه این اثرات درمانی با آساقول ۶۰۰ mg/kg مخصوصاً در شکل ژل ۲۰ درصد انما و عصاره ۶۰۰ mg/kg خوارکی یک تفاوت معناداری در بهبودی رت‌های دارای کولیت نشان می‌دهد.

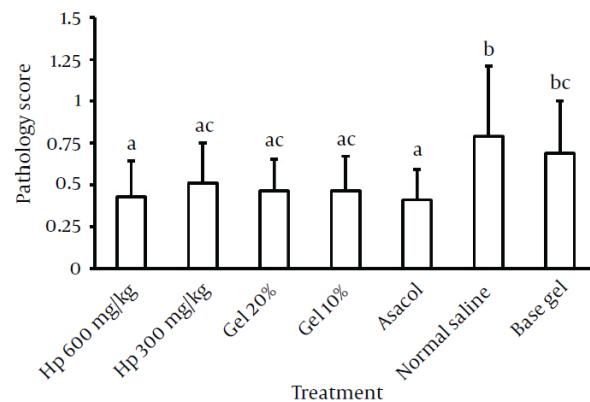
بحث و نتیجه‌گیری

این مطالعه اثرات درمانی عصاره علف چای در دو دوز ۶۰۰ mg/kg خوارکی و ۳۰۰ mg/kg خوارکی و ژل ۱۰ و ۲۰ درصد انما در کولیت ایجادشده بهوسیله اسید استیک با اندازه‌گیری تغییرات هیستوپاتولوژی بافتی و اندازه‌گیری سطح MDA در رت‌ها را مقایسه می‌کند. هر دو شکل خوارکی و انما اثر درمانی قابل ملاحظه‌ای دارند که بستگی به دوز عصاره علف چای دارد. در درمان کولیت اولسرورز بیشتر از داروهایی استفاده می‌شود که اثر ضدالتهابی دارند (۹). در این میان داروهای گیاهی به خاطر عوارض جانبی کمتر بیشتر موردنوجه قرار گرفته‌اند. علف چای که خاصیت بهبودی زخم‌ها و اثر ضدالتهابی دارد جزو این دسته است (۲۰). اثر ضدالتهابی علف چای می‌تواند به دلیل القای سنتز نیترید اکساید (iNOS) و سیکلواکسیزناز ۲ (COX₂) باشد (۱۵). مهم‌ترین جزء علف چای که اثر ضدالتهابی دارد hyperforin و pseudohypericin و hyperoside flavonoids به میزان کمتری اثر ضدالتهابی دارد (۲۸). همچنین hyperoside جزء فعال دیگر علف چای بهوسیله مهار کردن محصولات interleukin 6، tumor necrosis factor و nitric oxide (۲۹) این وظیفه را انجام می‌دهد. درمجموع خانواده Clusiaceae به صورت گستردگی موردمطالعه قرار گرفته است. علف چای به عنوان عضوی از این خانواده اثرات درمانی روی سوختگی‌ها (۳۰) و بیماری‌های دستگاه گوارش و زخم‌ها (۳۱) داشته است. اثر درمانی علف چای روی مدل‌های کولیت اولسرورز قبلاً بهوسیله مطالعه‌ای که Dost و همکاران انجام داده‌اند گزارش شده است. در این مطالعه تأثیر علف چای روی التهاب و پاسخ سیستم ایمنی موکوس کولون، در رت‌های Wistar که کولیت در آن‌ها بهوسیله 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) (اسید سولفونیک تری نیتروبنزن) (۴۶) ایجادشده ارزیابی شده است. در این مطالعه اثر محافظت کننده



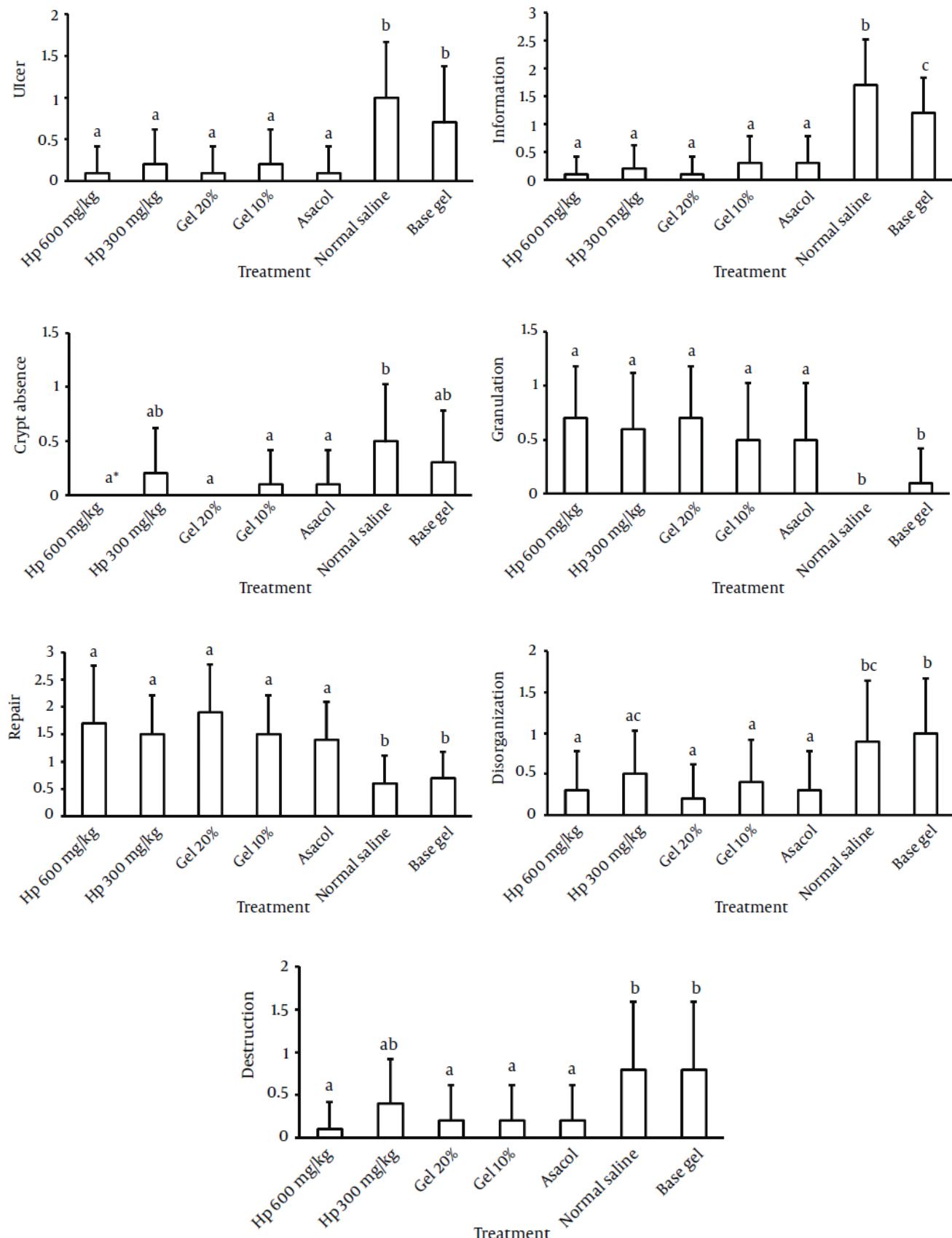
نمودار ۱. سطح MDA در بافت کولون رت‌ها بعد از ۷ روز در گروه‌های مختلف (اختلاف حروف دال بر معنی دار بودن در سطح $p<0.05$ است)

تفاوت گروه‌های ۶ و ۷ نیز معنادار نیست ($P>0.05$). بر اساس خصوصیات التهابی کاهش معناداری در ulcer (زمم)، crypt abscess (التهاب)، disorganization (بههم ریختگی بافتی) و destruction (تخربی بافتی) مشاهده می‌شود و مقداری افزایش در repair و granulation در گروه ۱ تا ۵ در مقایسه با گروه‌های ۶ و ۷ دیده



نمودار ۲. درجه‌بندی هیستوپاتولوژی بافت کولون رت‌ها بعد از ۷ روز در گروه‌های مختلف (اختلاف حروف دال بر معنی دار بودن در سطح $p<0.05$ است)

می‌شوند. درمجموع بیشترین اثرات درمانی در گروه علف چای با دوز ۶۰۰ mg/kg خوارکی و ژل ۲۰ درصد انما بر اساس ارزیابی ۷ مرحله التهاب مشاهده می‌شود (نمودار ۳). بنابراین می‌توان گفت اثر درمانی علف چای وابسته به دوز آن است، همان‌طور که



نمودار ۳: مدل ارزیابی هیستوپاتولوژی بافت در بافت کولون رت‌ها با کولیت اولسروز بعد از ۷ روز (اختلاف حروف دال بر معنی‌دار بودن در سطح $p<0.05$ است)



در پایان، این مطالعه نشان می‌دهد که استعمال روزانه عصاره هیدروالکلی علف چای در شکل انما یا خوارکی، می‌تواند کولیت ایجادشده به‌وسیله اسید استیک در کولون رت‌ها را بهبود دهد. نتایج اندازه‌گیری MDA بافتی و تغییرات هیستوپاتولوژیکی نشان‌دهنده کاهش التهاب در گروه‌های درمان هستند. اثر نشان‌دهنده کاهش التهاب در گروه‌های درمان هستند. اثر ضلالتهاب و ضد میکروبی علف چای می‌تواند آن را به عنوان داروی انتخابی در درمان کولیت اولسروز معرفی کند. مطالعات بعدی برای نشان دادن اثرات علف چای در کارآزمایی‌های بالینی ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

از دکتر محجوب واحدی از مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز به خاطر تهیه رت‌ها و همکاری صمیمانه ایشان قدردانی می‌شود. این مقاله مستخرج از پایان‌نامه مقطع دکتری عمومی رشته پزشکی سیده لیلا نعمت الهی می‌باشد که با حمایت معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شده است.

تعارض منافع

نویسنده‌گان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده‌اند.

علف چای در بیماری التهابی مزمن روده ایجادشده به‌وسیله TNBS بر اساس مکانیزم‌های ضلالتهابی و آنتی‌اکسیدانی علف چای نشان داده شده است (۳۲). در مطالعه قبلی در مقایسه با این مطالعه کولیت به‌وسیله ماده متفاوتی ایجادشده و عصاره علف چای در نوع تهیه، دوزها، روش تجویز و اشکال دارویی متفاوتی استفاده شده است، درحالی‌که مدت زمان ارزیابی و یافته‌ها به هم شبیه است که نشان‌دهنده اثرات درمانی علف چای روی کولیت است. اثر بهبودی زخم‌ها در علف چای به دلیل افزایش تحریک محصولات fibroblast collagen و fibroblast fibroblast در شکل پلی گونال می‌شود که با کردن سلول‌های fibroblast در بازسازی زخم‌ها دارد (۳۲). چندین گزارش مبنی بر افزایش سطح MDA در بیماری کولیت اولسروز و کاهش آن با درمان به‌وسیله عوامل شیمیایی (۳۳-۳۵) و درمان‌های گیاهی (۱۴-۸) وجود دارد. MDA برای اندازه‌گیری سطح lipid peroxidation استفاده می‌شود. در این مطالعه سطح MDA در گروه‌های درمان شده به‌وسیله علف چای کاهش یافته است که این کاهش می‌تواند نشان‌دهنده lipid peroxidation باشد. این اثر قبلًا در موکوزیت دهانی در رت‌ها در برابر lipid peroxidation نشان داده شده است (۱۶).

References

1. Safarpour AR, Hosseini SV, Mehrabani D. Epidemiology of inflammatory bowel diseases in Iran and Asia; a mini review. *Iran J Med Sci*. 2013;38(2 Suppl):140-9.
2. Taghavi SA, Safarpour AR, Hosseini SV, Noroozi H, Safarpour M, Rahimikazerooni S. Epidemiology of Inflammatory Bowel Diseases (IBD) in Iran: A review of 740 patients in Fars province, Southern Iran. *Ann Colorectal Res*. 2013;1(1):17-22.
3. Loftus EV Jr. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology*. 2004;126(6):1504-17.
4. Mehrabani D, Almasi-Hashiani A, Moshfeghi K, Khedmati E. Survival Rate and its Predictors in Colorectal Cancer Patients, Southern Iran. *Middle East J Sci Res*. 2012;12(8):1072-7.
5. Mehrabani D, Tabei SZ, Heydari ST, Shamsina SJ, Shokrpour N, Amini M, et al. Cancer occurrence in Fars Province, Southern Iran. *Iran Red Crescent Med J*. 2008;10(4):314-22.
6. Mehrabani D, Almasi-Hashiani A. Evaluation of the 5-year survival rate and demographic factors in colorectal cancer patients. *Zanjan Univ Med Sci J*. 2012;20(82):12-9.
7. Chassaing B, Aitken JD, Malleshappa M, Vijay-Kumar M. Dextransulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. *Curr Protoc Immunol*. 2014;104.
8. Tanideh N, Afaridi E, Mehrabani D, Azarpira N, Hosseinzadeh M, Amini M, et al. The Healing Effect of *Berberis vulgaris* in Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis in Rat. *Middle East J Sci Res*. 2014;21(8):1288-94.
9. Mehrabani D, Bahrami F, Hosseini SV, Ashraf MJ, Tanideh N, Rezaianzadeh A, et al. The Healing Effect of *Teucrium polium* in Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis in the Dog as an Animal Model. *Middle East J Dig Dis*. 2012;4(1):40-7.
10. Mehrabani D, Ziae M, Hosseini SV, Ghahramani L, Bananzadeh AM, Ashraf MJ, et al. The effect of *calendula officinalis* in therapy of acetic Acid induced ulcerative colitis in dog as an animal model. *Iran Red Crescent Med J*. 2011;13(12):884-90.
11. Zargari Samadnejad A, Mehrvarz S, Mohammadi Samani S, Allizadeh-Naeini M, Tanideh N. Healing



- effect of Licorice extract in acetic acid-induced ulcerative colitis in rat. *Res Pharmaceut Sci.* 2012;7(5):S837.
12. Mehrabani D, Nasibi M, Izadpanah A, Tanideh N, Amini M, Hosseini SV. The Comparison of two methods of steroid therapy via appendicostomy and enema in experimental acetic acid induced ulcerative colitis in dog. *World Appl Sci J.* 2013;26(12):1538–45.
13. Tanideh N, Baseri FA, Jamshidzadeh A, Ashraf MJ, Kuh O, Mehrabani D. The Healing Effect of Strawberry Extract on Acetic Acid- Induced Ulcerative Colitis in Rat. *World Appl Sci J.* 2014;31(3):281–8.
14. Tanideh N, Masoumi S, Hosseinzadeh M, Safarpour AR, Erjaee H, Koohi-Hosseinabadi O, et al. Healing effect of pistacia atlantica fruit oil extract in acetic Acid-induced colitis in rats. *Iran J Med Sci.* 2014;39(6):522–8.
15. Raso GM, Pacilio M, Di Carlo G, Esposito E, Pinto L, Meli R. In-vivo and in-vitro anti-inflammatory effect of Echinacea purpurea and Hypericum perforatum. *J Pharm Pharmacol.* 2002;54(10):1379–83.
16. Tanideh N, Namazi F, Andisheh Tadbir A, Ebrahimi H, Koohi-Hosseinabadi O. Comparative assessment of the therapeutic effects of the topical and systemic forms of Hypericum perforatum extract on induced oral mucositis in golden hamsters. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2014;43(10):1286–92.
17. Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. St John's wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. *J Pharm Pharmacol.* 2001;53(5):583–600.
18. Bork PM, Bacher S, Schmitz ML, Kaspers U, Heinrich M. Hypericin as a non-antioxidant inhibitor of NF-kappa B. *Planta Med.* 1999;65(4):297–300.
19. Agostonis P, Vandebogaerde A, Donella-Deana A, Pinna LA, Lee KT, Goris J, et al. Photosensitized inhibition of growth factor-regulated protein kinases by hypericin. *Biochem Pharmacol.* 1995;49(11):1615–22.
20. Suntar IP, Akkol EK, Yilmazer D, Baykal T, Kirmizibekmez H, Alper M, et al. Investigations on the in vivo wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. *J Ethnopharmacol.* 2010;127(2):468–77.
21. Schulz V. Clinical trials with hypericum extracts in patients with depression—results, comparisons, conclusions for therapy with antidepressant drugs. *Phytomedicine.* 2002;9(5):468–474.
22. Mozaffari S1, Esmaily H, Rahimi R, Baeeri M, Sanei Y, Asadi-Shahmirzadi A, et al. Effects of *Hypericum perforatum* extract on rat irritable bowel syndrome. *2011;7(27): 213-23.*
23. Sepehrimanesh M, Azarpira N, Saeb M, Nazifi S, Kazemipour N, Koohi O. Pathological changes associated with experimental 900-MHz electromagnetic wave exposure in rats. *Comp Clin Path.* 2014;23(5):1629–31.
24. Khodakaram Tafti A, Nazifi S, Rajaiyan H, Sepehrimanesh M, Poorbaghi SL, Mohtarami S. Pathological changes associated with experimental salinomycin toxicosis in sheep. *Comp Clin Pathol.* 2008;17(4):255–8.
25. Tamadon A, Nikahval B, Sepehrimanesh M, Mansourian M, Naeini AT, Nazifi S. Epididymis ligation: a minimally invasive technique for preparation of teaser rams. *Vet Surg.* 2010;39(1):121–7.
26. Shamsa F, Ahmadiani A, Khosrokhavar R. Antihistaminic and anticholinergic activity of barberry fruit (*Berberis vulgaris*) in the guinea-pig ileum. *J Ethnopharmacol.* 1999;64(2):161–6.
27. Hajhashemi V, Ghannadi A, Hajiloo M. Analgesic and Anti-inflammatory Effects of *Rosa damascena* Hydroalcoholic Extract and its Essential Oil in Animal Models. *Iran J Pharm Res.* 2010;9(2):163–8.
28. Hammer KD, Hillwig ML, Solco AK, Dixon PM, Delate K, Murphy PA, et al. Inhibition of prostaglandin E(2) production by anti-inflammatory hypericum perforatum extracts and constituents in RAW264.7 Mouse Macrophage Cells. *J Agric Food Chem.* 2007;55(18):7323–31.
29. Kim SJ, Um JY, Lee JY. Anti-inflammatory activity of hyperoside through the suppression of nuclear factor-kappaB activation in mouse peritoneal macrophages. *Am J Chin Med.* 2011;39(1):171–81.
30. Conforti F, Statti GA, Tundis R, Menichini F, Houghton P. Antioxidant activity of methanolic extract of *Hypericum triquetrifolium* Turra aerial part. *Fitoterapia.* 2002;73(6):479–83.
31. Lavagna SM, Secci D, Chimenti P, Bonsignore L, Ottaviani A, Bizzarri B. Efficacy of *Hypericum* and *Calendula* oils in the epithelial reconstruction of surgical wounds in childbirth with caesarean section. *Farmaco.* 2001;56(5-7):451–3.
32. Dost T, Ozkayran H, Gokalp F, Yenisey C, Birincioglu M. The effect of *Hypericum perforatum* (St. John's Wort) on experimental colitis in rat. *Dig Dis Sci.* 2009;54(6):1214–21.
33. Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kurutas EB, Cirali H, Kantarceken B, Buyukbese MA. Beneficial effects of N-acetylcysteine on acetic acid-induced colitis in rats. *Tohoku J Exp Med.* 2005;206(2):131–9.
34. Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kantarceken B, Cirali H, Kurutas EB, Buyukbese MA, et al. Effects of L-carnitine on oxidant/ antioxidant status in acetic acid-induced colitis. *Dig Dis Sci.* 2006;51(3):488–94.
35. Necefli A, Tulumoglu B, Giris M, Barbaros U, Gunduz M, Olgac V, et al. The effect of melatonin on TNBS-induced colitis. *Dig Dis Sci.* 2006;51(9):1538–45.

**Original Article**

The Healing Effect of Hydroalcoholic Extract of *Hypericum Perforatum* on Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis in Male Rats

Tanideh N¹, Nematollahi SL^{2*}, Hosseini SV³, Hosseinzadeh M⁴, Mehrabani D¹, Safarpour A⁵, Sepehrimanesh M⁶, Koohi-Hosseinabadi O⁶, Najibi A⁷

1-Stem Cell and Transgenic Technology Research Center, Department of Pharmacology Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

2-Student Research Committee, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

3-Colorectal research, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

4-Department of pathology, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

5-Gastroenterohepatology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

6-Center of Experimental and Comparative Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

7-Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Received: 13 Apr 2016

Accepted: 15 Aug 2016

Abstract

Background & Objective: Anti-inflammatory effect of *Hypericum* have long been considered. Ulcerative Colitis (UC) is a form of Inflammatory Bowel Disease (IBD). In this study, the effects of *Hypericum perforatum* on histopathological changes and tissue malondialdehyde (MDA) level of colonic tissue in rats with induced UC were evaluated.

Materials & Methods: 70 rats were divided into seven equal groups. Colitis was induced by acetic acid.. Groups I and II received 1 mL of 600 and 300 mg/kg *H. perforatum* extract orally per day respectively; groups III and IV received 1 mL of 20% and 10% intra-colonic gel form of *H. perforatum* extract daily respectively; group V, as positive control, received 1 mL of intra-colonic Asacol; group VI received 1 mL of normal saline as negative control; group VII received just intra-colonic gel base. All the animals were evaluated for histological changes and tissue MDA level of colon seven days after the treatment.

Results: *H. perforatum* extract in the two forms of trans-rectal and oral administration could result in a more healing effect on acetic acid-induced damaged colonic tissue with a reduction in the MDA activity. In trans-rectal administration, the 20% gel had a better healing response than the 10% gel. In oral administration, the 600 mg/kg dosage had a better healing response than the 300 mg/kg.

Conclusions: Therefor, *H. perforatum* can be considered as a treatment of choice for UC especially in trans-rectal gel form.

Keywords: *hypericum perforatum*, inflammatory bowel disease, ulcerative colitis, Malondialdehyde

*Corresponding author: Seyedeh Leila Nematollahi, Student Research Committee, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.
Email: sl.nematollahi@gmail.com