

Original Article

Comparison of the Effect of Alfalfa Syrup and Placebo on Platelet Count in Patients with Idiopathic Thrombocytopenic Purpura

Hamideh Naghedi Baghdar¹, Mohammad Mahdi Koushyar², Shokouh Sadat Hamed³,
Zohre Feyzabadi^{4*}, HamidReza Ghorbanzade⁵, Majid Jafarinejad⁵

1. Ph.D. of Persian Medicine, School of Persian and Complementary Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
2. Associated professor of Hematology & Oncology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
3. Ph.D. of Persian Pharmacy, School of Persian and Complementary Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
4. Ph.D. of Persian Medicine, School of Persian and Complementary Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran. (Corresponding Author) Email: feyzabadi_8823@yahoo.com
5. Ph.D. Student of Persian Medicine, School of Persian and Complementary Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

Received: 11 Dec 2019 Accepted: 17 Feb 2020

Abstract

Background and Aim: Idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) is an autoimmune disorder characterized by decreasing platelet count with the normal bone marrow and the absence of specific causes of thrombocytopenia. Corticosteroids are the first line of treatment and costly and complicated methods, such as splenectomy or immunosuppressive agents, are used as the second line of treatment. Alfalfa with scientific name of *Medicago Sativa* has warm temperament that traditional physicians have used as haemopoietic food from thousands years ago and its use with anticoagulants reduces their effectiveness. The aim of this study was to determine the effectiveness of alfalfa syrup on platelet count in patients with ITP.

Materials and Methods: This is a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial that was done in Hematology Clinic Imam Reza Hospital, Mashhad, Iran. Forty patients were randomly divided into two groups of alfalfa syrup and placebo syrup. They received 5 cc of alfalfa or placebo syrup each 8 hours for 15 days. Blood samples were taken from patients before and at the end of treatment. Blood samples were taken for CBC, BT and platelet counts. The statistical method used was Paired-samples T test and independent-samples T test.

Findings: The results showed that there were no significant differences between the two groups in the laboratory tests at first, but after the intervention, the mean number of platelets and BT differences between the two groups was statistically significant ($p=0.013$ and $p=0.018$, respectively).

Conclusion: The use of a cheap and available vegetable as alfalfa can be effective in improving the platelet count in patients with ITP.

Keywords: Idiopathic Thrombocytopenic Purpura; Traditional Persian Medicine; Alfalfa; *Medicago Sativa*

Please cite this article as: Naghedi Baghdar H, Koushyar MM, Hamed SH-S, Feyzabadi Z, Ghorbanzade HR, Jafarinejad M. Comparison of the Effect of Alfalfa Syrup and Placebo on Platelet Count in Patients with Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *Med Hist J* 2020; 12(42): 55-62.

مقایسه اثر شربت یونجه با دارونما بر تعداد پلاکت بیماران مبتلا به پورپورای ترومبوسیتوپنی ایدیوپاتیک: کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور

حمیده ناقدی باغدار^۱، محمدمهدی کوشیار^۲، شکوه سادات حامدی^۳، زهره فیض آبادی^{۴*}، حمیدرضا قربانزاده^۵، مجید جعفری نژاد^۵

۱. دکترای تخصصی طب سنتی ایرانی، دانشکده طب ایرانی و مکمل، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

۲. دانشیار گروه هماتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

۳. دکترای تخصصی داروسازی سنتی، دانشکده طب ایرانی و مکمل، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

۴. دکترای تخصصی طب سنتی ایرانی، دانشکده طب ایرانی و مکمل، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. (نویسنده مسؤول)

Email: Feyzabadi_8823@yahoo.com

۵. دستیار تخصصی طب سنتی ایرانی، دانشکده طب ایرانی و مکمل، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

دریافت: ۱۳۹۸/۹/۲۰ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: پورپورای ترومبوسیتوپنی ایدیوپاتیک (ITP) یک اختلال اتوایمون است که با کاهش تعداد پلاکت‌ها، ولی نتایج طبیعی مغز استخوان و فقدان علل خاصی از ترومبوسیتوپنی مشخص می‌شود. کورتیکواستروئیدها خط اول درمان بوده و روش‌های پرهزینه و دارای عوارض مانند اسپلنکتومی یا عوامل سرکوب‌کننده ایمنی به عنوان خط دوم درمان استفاده می‌شود. یونجه گیاهی با طبیعت گرم است که حکمای طب ایرانی از هزاران سال پیش از آن به عنوان یک خوراکی خون‌ساز استفاده می‌کردند و مصرف توأم این گیاه با داروهای ضد انعقاد باعث کاهش اثربخشی آن‌ها می‌گردد. هدف از این مطالعه بررسی اثربخشی شربت یونجه بر تعداد پلاکت بیماران مبتلا به ITP بود.

مواد و روش‌ها: این کارآزمایی بالینی تصادفی، دوسوکور در کلینیک هماتولوژی بیمارستان امام رضا مشهد انجام شد. تعداد ۴۰ بیمار به صورت تصادفی و مساوی در دو گروه دارو و دارونما قرار گرفته و به مدت ۱۵ روز، شربت یونجه یا دارونما پنج سی‌سی هر هشت ساعت دریافت کردند. آزمایشات مورد سنجش شامل شمارش پلاکت سطح لام، CBC و BT بود. روش آماری مورد استفاده، آنالیز تی جفت شده و آنالیز تی مستقل بود.

یافته‌ها: نتایج نشان داد ابتدا دو گروه در بررسی‌های آزمایشگاهی اختلاف معناداری نداشتند، ولی پس از مداخله از نظر میانگین تعداد پلاکت و BT اختلاف دو گروه معنادار شد (به ترتیب $p=0.013$ و $p=0.018$).

نتیجه‌گیری: استفاده از گیاه ارزان و در دسترس یونجه می‌تواند در بهبود پلاکت بیماران مبتلا به ITP مؤثر باشد.

واژگان کلیدی: پورپورای ترومبوسیتوپنی ایدیوپاتیک؛ طب سنتی ایرانی؛ یونجه؛ مدیکاگو ساتیوا

مقدمه

ترومبوسیتوپنی به کاهش غیر طبیعی سطح پلاکت‌ها به کمتر از ۱۵۰۰۰۰ در میکرولیتر اطلاق می‌گردد، پلاکت‌ها سلول‌هایی بدون هسته بوده که از مگاکاریوسیت‌های مغز استخوان مشتق می‌شوند و در حالت طبیعی در جریان خون محیطی به مدت ۱۰ روز باقی می‌مانند و نقش بسیار مهمی در هموستاز اولیه و ثانویه دارند. افرادی با تعداد پلاکت کمتر از ۱۰۰۰۰ در هر میکرو لیتر خون در معرض خطر بالای خونریزی شدید قرار دارند (۱).

پورپورای ترومبوسیتوپنی ایدیوپاتیک^۱ یک اختلال اتوایمیون در کودکان و بزرگسالان است که با کاهش تعداد پلاکت‌ها، ولی نتایج طبیعی مغز استخوان (به استثنای احتمال افزایش مگاکاریوسیت‌ها) و فقدان علل خاصی از ترومبوسیتوپنی، مانند لوسمی، کم‌خونی آپلاستیک، انعقاد داخل عروقی منتشر^۲ مشخص می‌شود (۵-۲). ITP در دوران کودکی معمولاً به شکل حاد ظاهر می‌شود، ولی در ۷۰٪ موارد به صورت خود به خود در مدت یکسال بهبودی حاصل می‌شود، در حالی که ITP در بزرگسالی معمولاً به صورت مداوم باقی می‌ماند (۴). خونریزی جدی زمانی رخ می‌دهد که تعداد پلاکت‌ها به زیر ۲۰ هزار در هر میکرولیتر برسد و حتی می‌تواند با خونریزی‌های تهدیدکننده حیات به شکل خونریزی داخل جمجمه منجر به مرگ بیمار شود (۴). همچنین خونریزی‌های مکرر می‌تواند منجر به ایجاد کم‌خونی حاد یا مزمن در بیماران ITP شود. برای اولین بار در سال ۱۹۸۱ تأثیر ایمونوگلوبین داخل وریدی^۳ در افزایش سریع تعداد پلاکت و کاهش علائم و نشانه‌های خونریزی در بیماران ITP مشخص شد (۶). با تجویز روزانه یک گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از IVIG به مدت دو روز نتایج خوبی برای افزایش سریع تعداد پلاکت‌ها به دست می‌آید (۴). امروزه خط اول درمان استفاده از کورتیکواستروئیدها می‌باشد و در صورت کنتراندیکاسیون مصرف کورتیکواستروئیدها، IVIG یا آنتی D گلوبولین تجویز

می‌شود. عوارض مصرف طولانی‌مدت کورتیکواستروئیدها مانند کاتاراکت، فشار خون، گاستریت، استئونکروز، میوپاتی، افسردگی، دیابت و افزایش خطر عفونت و عوارض IVIG مانند تهوع، استفراغ، کرامپ‌های شکمی، تب، لرز، درد مفاصل و عضلات، افزایش ضربان قلب، افت ناگهانی فشارخون، جوش و قرمزی پوست، سردرد و سرگیجه مصرف آن‌ها را محدود می‌سازد (۷). از سوی دیگر در صورت عدم پاسخ به درمان‌های فوق از اسپلنکتومی و یا داروهایی مانند ریتوکسیماب^۴ و عوامل ساپرس‌کننده ایمنی مانند سیکلوفسفامید و آزانوپرین و آگونست ترومبوپویتین مانند Romiplostim و Eltrombopag به عنوان خط دوم درمان استفاده می‌شود. درمان‌های دارویی خط دوم علاوه بر هزینه بالا دارای عوارض نیز می‌باشند (۹-۸). بسیاری از بیماران به علت تهاجمی بودن و غیر قابل پیش‌بینی بودن میزان پاسخ به درمان تمایلی به انجام اسپلنکتومی ندارند و تا حد امکان آن را به تأخیر می‌اندازند (۱۰). با توجه به تمایل مردم به طب مکمل و درمان‌های گیاهی و اثرات مفید بعضی از گیاهان در افزایش تعداد پلاکت‌ها در این مطالعه به بررسی اثر شربت گیاهی مدیکا بر پایه عصاره یونجه در بیماران ITP پرداخته شد (۱۱). یونجه با نام علمی *Medicago Sativa* از خانواده Leguminosae یا Fabaceae می‌باشد (۱۱) که در متون طب ایرانی با نام «رطبه» به عنوان یک مفرده تولیدکننده خون صالح از آن یاد شده است. این گیاه طبیعت گرم دارد و حکمای طب ایرانی از هزاران سال پیش از آن به عنوان یک خوراکی خون‌ساز استفاده می‌کردند (۱۳-۱۲). از طرفی دیگر، بر اساس پژوهش‌های جدید، مصرف توأم این گیاه با داروهای ضد انعقاد باعث کاهش اثربخشی آن‌ها می‌گردد (۱۱). از نظر ترکیبات شیمیایی، این گیاه حاوی ویتامین E، A و K می‌باشد. یونجه تازه منبع غنی از ویتامین C نیز می‌باشد. آنزیم‌های موجود در یونجه آمیلاز^۵، امولسین^۶، انورتاز^۷ و

4. Rituximab

5. Amylase

6. Emulsin

7. Invertase

1. ITP: Idiopathic Thrombocytopenic Purpura

2. DIC: Disseminated Intravascular Coagulation

3. IVIG: Intravenous Immunoglobulin

پکتیناز^۱ گزارش شده است. در برگ‌های یونجه در حدود ۲۰٪ پروتئین وجود دارد که دارای اسیدهای آمینه لیزین^۲، آرژینین^۳، هیستیدین^۴، آدنین، فنیل‌آلانین^۵، آسپاراژین و سیستین^۶ است (۱۴).

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که یونجه می‌تواند منجر به افزایش غلظت پلاسما گردد. افزایش سطح فیبرینوژن ممکن است به علت ترکیبات فیتواستروژن یونجه باشد. از طرف دیگر افزایش غلظت فیبرینوژن پلاسما باعث بهبود فرایند اختلال تشکیل لخته در طول ترومبوسیتوپنی و جلوگیری از طولانی شدن فرایند خونریزی می‌شود. کنسانتره پروتئین یونجه در خون منجر به تحریک مسیر سلول‌های خونی از جمله گلبول‌های قرمز (و به دنبال آن هموگلوبین و هماتوکریت) و پلاکت‌ها می‌شود (۱۵).

با توجه به گران‌بودن و پرعارضه‌بودن داروهای موجود و تمایل مردم به مصرف گیاهان دارویی کم‌عارضه و نیز ارزان، بومی و در دسترس بودن گیاه یونجه در ایران، در این مطالعه اثر یونجه در درمان ترومبوسیتوپنی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه یک کارآزمایی بالینی تصادفی شده، دوسوکور با گروه دارونما می‌باشد که در تاریخ ۱۳۹۵/۱۰/۱۸ در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مشهد کد اخلاق با شماره IR.MUMS.REC.1395.470 را دریافت کرده است و در تاریخ ۱۳۹۵/۱۱/۱۶ در سایت مرکز ثبت کارآزمایی‌های بالینی ایران با شماره IRCTID: IRCT2017010924993N2 به ثبت رسیده است. حجم نمونه بر اساس مطالعات مشابه ۴۰ نفر (۲۰ نفر در گروه دارو و ۲۰ نفر در گروه دارونما) محاسبه شد (۱۶)، مقایسه میانگین‌ها مربوط به قبل و بعد از مداخله برای هر گروه دارو و دارونما با استفاده از آنالیز تی جفت شده، و مقایسه میانگین‌های دو گروه دارو و دارونما برای هر یک از

زمان‌های قبل و بعد از مداخله با استفاده از آنالیز تی مستقل انجام شد. نمونه‌گیری به روش آسان و در دسترس بود. جمعیت مورد مطالعه تمام بیماران مبتلا به پورپورای ترومبوسیتوپنی ایدیوپاتیک مراجعه‌کننده به کلینیک هماتولوژی بیمارستان امام رضا مشهد که تشخیص بیماری توسط فوق تخصص هماتولوژی برای آن‌ها تأیید شده بود. این بیماران در صورت تمایل به شرکت در مطالعه و داشتن شرایط ورود، پس از آگاهی کامل از روش اجرای طرح و تکمیل فرم رضایت آگاهانه وارد مطالعه شدند. متغیرهای مورد اندازه‌گیری پیامد طرح شامل شمارش پلاکت سطح لام، اندازه‌گیری CBC و BT قبل و بعد از مداخله بود.

معیارهای ورود شامل تشخیص قطعی ITP وابسته به کورتیکواستروئید یا مقاوم به کورتیکواستروئید توسط متخصص محترم هماتولوژی، پلاکت بین ۵۰۰۰ تا ۱۵۰۰۰، سن بین ۱۵ تا ۵۰ سال، نداشتن خونریزی خود به خود، عدم ابتلا به سایر بیماری‌های خونی، عدم ابتلا به بیماری‌های سیستمیک مانند لوپوس اریتماتوز، عدم حاملگی، تمایل به شرکت در طرح و معیارهای خروج شامل ایجاد خونریزی‌های فعال و خود به خودی، نیاز به بستری در بیمارستان، کاهش پلاکت به زیر ۵۰۰۰، ابتلا به بیماری‌های عفونی و حاملگی بود.

بیماران به صورت تصادفی ساده در دو گروه دارو و دارونما قرار گرفتند. در هر دو گروه بیماران باید پرسشنامه اطلاعات شخصی و سوابق پزشکی را تکمیل نموده و پنج سی‌سی نمونه خون از آن‌ها جهت انجام آزمایشات شمارش پلاکت سطح لام، CBC و BT توسط پژوهشگر گرفته می‌شد. بیماران در هر دو گروه شربت دارو یا دارونما را دریافت می‌کردند. مقدار مصرف شربت در هر دو گروه پنج سی‌سی هر هشت ساعت به مدت ۱۵ روز بود. به بیماران توصیه شد از مصرف داروهای گیاهی دیگر به دلیل احتمال تداخل دارویی در مدت مصرف دارو اجتناب کنند. پس از ۱۵ روز از مصرف دارو دوباره از بیماران آزمایشات شمارش پلاکت سطح لام، CBC و BT درخواست شد. تمام آزمایشات در یک آزمایشگاه واحد به وسیله یک اپراتور با یک کیت انجام شد.

1. Pectinase
2. Lysine
3. Arginine
4. Hystidine
5. Pyenylalanine
6. Cystine

۱- ساخت دارو

گیاه یونجه از مزارع حوالی چناران تهیه و برای شناسایی به هرباریوم پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی ارسال گردید و نام علمی *Medicago Sativa L.* با کد هرباریوم ۳۸۰۷۵ برای آن دریافت شد. پس از شناسایی، اندام هوایی گیاه در سایه خشک و خرد گردید. نهایتاً گیاه خردشده به روش ماسراسیون یا خیساندن عصاره‌گیری شد.

دوز دارو روزانه ۶۵۰ میلی‌گرم از عصاره هیدروالکلی در هر ۵ سی‌سی شربت سه بار در روز محاسبه گردید. ساخت شربت شامل مراحل عصاره‌گیری (عصاره هیدروالکلی) از اندام هوایی، افزودن مواد شیرین‌کننده، افزودن مواد محافظ میکروبی و افزودن بافر به آن است. عصاره یونجه به روش ماسراسیون به دست آمد. شربت بی پی (w/w %۸۵) به عصاره اضافه گردید تا شربت تهیه شد. شربت بر اساس محتوای فنل تام با روش فولین سیکالتو استاندارد گردید. شربت از نظر تعیین PH، تعیین ضریب شکست، خواص ظاهری، شفافیت، طعم، رنگ و بو، احتمال شکرکزدن و احتمال تشکیل رسوب در دمای پایین مورد ارزیابی قرار گرفت.

ساخت پلاسبو نیز مانند شربت دارویی، ولی فاقد عصاره بود و برای یکسان کردن ظاهر آن از رنگ خوراکی قهوه‌ای (با شماره ب ۲) تهیه‌شده از شرکت ماگنولیا استفاده شد.

یافته‌ها

از ۴۰ نفر بیمار ITP که در فاصله زمانی بهمن‌ماه ۱۳۹۵ تا مردادماه ۱۳۹۷ وارد مطالعه شدند، تعداد ۳۷ نفر دو هفته دوره درمان را تکمیل نمودند و اطلاعات این افراد مورد آنالیز قرار گرفت. دو نفر در گروه دارو به دلیل طعم تلخ دارو از ادامه درمان منصرف شدند و یک نفر در گروه دارونما به علت عدم مراجعه جهت انجام آزمایش از مطالعه خارج شدند. از نظر مشخصات دموگرافیک در ابتدای مطالعه دو گروه اختلاف معناداری با هم نداشتند (جدول ۱). از نظر بررسی‌های آزمایشگاهی نیز در ابتدای مطالعه دو گروه اختلاف معناداری با هم نداشتند ($p>0.05$)، ولی پس از مداخله فقط از نظر میانگین تعداد پلاکت (در گروه دارو $11552/89 \pm 8605/00$)

و در گروه دارونما ($9324/82 \pm 72571/42$) و BT (در گروه دارو $2/28 \pm 0/53$ و در گروه دارونما $2/81 \pm 0/73$) اختلاف دو گروه معنادار شد که به ترتیب $p=0.013$ و $p=0.018$ محاسبه شد (جدول ۲). در مقایسه درون‌گروهی نیز به صورت جداگانه آنالیز خون قبل و بعد از مداخله در هر گروه مقایسه شد که فقط در میانگین تعداد پلاکت در گروه دارو (قبل از مداخله $11992/59 \pm 8040/00$ و بعد از مداخله $11552/89 \pm 8605/00$) این اختلاف معنادار ($p=0.005$) شد و در بقیه موارد هیچ اختلاف معناداری مشاهده نشد (جدول ۳).

بحث

مطالعه حاضر اثر شربت یونجه بر چند پارامتر مرتبط با ترومبوسیتوپنی در بیماران مبتلا به پورپورای ترومبوسیتوپنی ایدیوپاتیک را سنجیده است. یافته‌های اصلی این مطالعه افزایش معنادار میانگین تعداد پلاکت و BT را در گروه مداخله در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. در مقایسه درون‌گروهی نیز به صورت جداگانه آنالیز خون قبل و بعد از مداخله، اختلاف معنادار فقط در میانگین تعداد پلاکت در گروه مداخله دیده شد و در بقیه موارد هیچ اختلاف معناداری مشاهده نشد. در جستجوی انجام‌شده در پایگاه‌های علمی جهت مقایسه نتایج، مطالعه مشابه با انجام کارآزمایی بالینی بر بیماران مبتلا به ITP پیدا نشد. در یک مطالعه حیوانی که ثروت یاری و همکارانش در سال ۲۰۱۶ انجام دادند، اثر عصاره هیدروالکلی گیاه یونجه بر عملکرد کبدی، عوامل بیوشیمیایی خون و سیستم انعقادی در موش‌های صحرایی نر را بررسی کردند. در این مطالعه عصاره هیدروالکلی برگ گیاه یونجه، افزایش غلظت کل پروتئین‌های پلاسما و فیبرینوژن، کاهش قابل توجه سطح سرمی ALP، ALT و غلظت گلوکز خون را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد، اما این یافته‌ها بر روی میزان پلاکت خون تأثیر معنا داری نداشت (۱۵). در مطالعه دیگری که Pietrzak و همکارانش در سال ۲۰۱۵ انجام دادند، اثر کنسانتره پروتئین یونجه بر پارامترهای خونی خوک بررسی شده است که نتایج این مطالعه تحریک مسیرهای سلول‌های

نتیجه‌گیری

با توجه به مکانیسم‌های ذکر شده می‌توان به این نتیجه رسید که عصاره یونجه از طرفی با کاهش تجمع پلاکتی و از طرفی با افزایش خون‌سازی مغز استخوان موجب افزایش پلاکت در بیماران شود. افزایش پلاکت نیز با فعال‌سازی سیستم انعقاد خون موجب افزایش BT شده است (۲۳).

از نکات ضعف این مطالعه تعداد کم نمونه‌ها، مدت کوتاه انجام مطالعه، عدم پیگیری بیماران پس از اتمام مدت مداخله و طعم نسبتاً تلخ دارو بود. از نقاط قوت مطالعه استفاده از یک گیاه ارزان‌قیمت و بومی ایران که به راحتی می‌تواند حتی به شکل سبزی تازه در سبد غذایی بیماران قرار گیرد و حتی به عنوان یک مکمل غذایی به شکل صنعتی در حجم انبوه ساخته شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه نتیجه یک کارآزمایی بالینی است که در قالب یک طرح تحقیقاتی با کد پژوهان ۹۴۱۶۵۵ در دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شده است. بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد قدردانی می‌شود.

خونی از جمله گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و همتوکریت را نشان داده است (۱۷). همان‌گونه که دیده می‌شود، در مطالعه اول میزان پلاکت خون تغییر معنادار نداشته است که نویسندگان آن را به روش کار در مقایسه با مطالعه حیوانی دیگر در خوک‌ها نسبت داده‌اند.

همچنین در یک مطالعه آزمایشگاهی، اثر عصاره آبی گیاه یونجه بر روی تجمع پلاکتی ناشی از کلاژن بررسی شده است که پژوهشگران این مطالعه، اثرات بازدارنده یونجه در تجمع پلاکت‌ها را به کاهش سنتز ترومبوکسان A2 (TxA2) و افزایش سطح عملکرد cGMP نسبت داده و برای اثبات آن سطح ترومبوکسان B2 (TxB2)، محصول پایدار تجزیه‌کننده TxA2 در پلاسما، سطح cGMP در پلاکت‌ها و پلاسما را اندازه‌گیری کردند. در این مطالعه عصاره یونجه، تجمع پلاکتی ناشی از کلاژن را به شیوه‌ای وابسته به دوز مهار می‌کند (۱۹-۱۸).

از طرفی دیگر، عصاره گیاه یونجه حاوی مقادیر زیاد ترکیبات آنتی‌اکسیدان پلی فنول است و بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را از طریق تخلیه رادیکال‌های آزاد که در پاتوفیزیولوژی بیماری‌های مختلف نقش دارند را نشان می‌دهد. اکسید نیتریک (NO) یک واسطه قوی پلوتروپیک فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند آرام‌سازی عضلات صاف، سیگنال‌سازی عصبی و مهار تجمع پلاکت‌ها است. گیاه یونجه اکسید نیتریک را نیز با روش وابسته به دوز مهار می‌کند، در حالی که مکانیسم عمل پلی‌فنول‌ها در مهار عملکرد پلاکت‌ها به طور کامل شناخته نشده، فرض بر این است که این موضوع به دلیل توانایی آن‌ها در از بین بردن H2O2 است که در طول آبشار متابولیسم اسید آراکیدونیک تولید می‌شود که منجر به تجمع پلاکت‌ها می‌شود (۲۱-۲۰).

مطالعات اخیر سطح بالای آهن در کنسانتره پروتئین یونجه با جذب آسان را نشان داده‌اند که این امر موجب افزایش خون‌سازی مغز استخوان می‌شود (۱۷، ۲۲).

جدول ۱: مشخصات دموگرافیک بیماران

مشخصات دموگرافیک	گروه دارو (درصد)	گروه دارونما (درصد)	p value
سن (سال)	۳۸/۳۳±۱۰/۶۳	۴۱±۱۱/۸۹	۰/۴۷۸
جنسیت	مرد	۸ (۴۴/۴۴)	۰/۸۹۰
	زن	۱۱ (۵۷/۸۹)	
تعداد کل	۱۸ (۱۰۰)	۱۹ (۱۰۰)	

جدول ۲: مقایسه آزمایش خون بین دو گروه دارو و دارونما قبل و بعد از مداخله

فاکتورهای خونی	زمان انجام آزمایش	گروه	میانگین	P value
پلاکت	قبل از مداخله	دارونما	۷۶۷۱۴/۲۸±۱۰۹۵۰/۱۰	۰/۲۱۴
		دارو	۸۰۴۰۰/۰۰±۱۱۹۹۲/۵۹	
	بعد از مداخله	دارونما	۷۲۵۷۱/۴۲±۹۳۲۴/۸۲	۰/۰۱۳
		دارو	۸۶۰۵۰/۰۰±۱۱۵۵۲/۸۹	
BT	قبل از مداخله	دارونما	۲/۷۳±۰/۶۹	۰/۰۵۸
		دارو	۲/۳۱±۰/۶۰	
	بعد از مداخله	دارونما	۲/۸۱±۰/۷۳	۰/۰۱۸
		دارو	۲/۲۸±۰/۵۳	
WBC	قبل از مداخله	دارونما	۶۲۷۲/۰۰±۱۳۶۴/۶۷	۰/۸۱۳
		دارو	۶۳۹۱/۶۶±۱۴۹۴/۱۳	
	بعد از مداخله	دارونما	۵۹۵۴/۶۶±۱۲۱۵/۱۵	۰/۸۰۲
		دارو	۶۳۸۳/۳۳±۱۳۰۹/۱۳	
Hct	قبل از مداخله	دارونما	۴۰/۸۸±۲/۰۶	۰/۵۴۵
		دارو	۴۰/۲۴±۳/۹۵	
	بعد از مداخله	دارونما	۴۰/۶۸±۳/۸۲	۰/۷۷۰
		دارو	۴۰/۳۸±۲/۱۰	

جدول ۳: مقایسه درون گروهی آزمایش خون قبل و بعد از درمان

گروه	آزمایش	قبل از مداخله	بعد از مداخله	P value
دارو	پلاکت	۸۰۴۰۰/۰۰±۱۱۹۹۲/۵۹	۸۶۰۵۰/۰۰±۱۱۵۵۲/۸۹	۰/۰۰۵
	BT	۲/۳۱±۰/۶۰	۲/۲۸±۰/۵۳	۰/۶۵۷
	WBC	۶۳۹۱/۶۶±۱۴۹۴/۱۳	۶۳۸۳/۳۳±۱۳۰۹/۱۳	۰/۹۲۲
	Hct	۴۰/۲۴±۳/۹۵	۴۰/۳۸±۲/۱۰	۰/۰۹۲
دارونما	پلاکت	۷۶۷۱۴/۲۸±۱۰۹۵۰/۱۰	۷۲۵۷۱/۴۲±۹۳۲۴/۸۲	۰/۰۵۶
	BT	۲/۷۳±۰/۶۹	۲/۸۱±۰/۷۳	۰/۳۷۲
	WBC	۶۲۷۲/۰۰±۱۳۶۴/۶۷	۵۹۵۴/۶۶±۱۲۱۵/۱۵	۰/۰۹۱
	Hct	۴۰/۸۸±۲/۰۶	۴۰/۶۸±۳/۸۲	۰/۲۶۴

References

1. Keihanian S, Zakerihamidi M, Sadeghi F, Khalatbari J. Frequency of thrombocytopenia in pregnancy between pregnant who comes to health centers of Tonekabon in 2009. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences* 2010; 10(4): 362-369.
2. Adult ITP. Guidelines for the investigation and management of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults, children and in pregnancy. *British Journal of Haematology* 2003; 120(1): 574-596.
3. George JN, Woolf SH, Raskob GE, Wasser J, Aledort L, Ballem P, et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura: A practice guideline developed by explicit methods for the American Society of Hematology. *Blood* 1996; 88(1): 3-40.
4. Dash CH, Gillanders KR, Bobbitt MES, Gascoigne EW, Leach SJ. Safety and efficacy of Gammaplex® in idiopathic thrombocytopenic purpura (ClinicalTrials.gov-NCT00504075). *PloS One* 2014; 9(6): e96600.
5. Cines DB, Blanchette VS. Immune thrombocytopenic purpura. *New England Journal of Medicine* 2002; 346(13): 995-1008.
6. Imbach P, d'Apuzzo V, Hirt A, Rossi E, Vest M, Barandun S, et al. High-dose intravenous gammaglobulin for idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood. *The Lancet* 1981; 317(8232): 1228-1231.
7. Anoshirvani A, Moshfeghi K, Rafiee M, Bakhshi S. The comparison of efficacy between two and three-week prednisolone therapy in patients with Immune Thrombocytopenic purpura at khansari hospital and private office. *Journal of Arak University Medical Sciences* 1391; 15(8): 9-15.
8. Provan D, Stasi R, Newland AC, Blanchette VS, Bolton-Maggs P, Bussel JB, et al. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood* 2010; 115(2): 168-186.
9. Neunert C, Lim W, Crowther M, Cohen A, Solberg L, Crowther MA. The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood* 2011; 117(16): 4190-4207.
10. Yang J, Lee BJ, Lee JH. Case Reports of Idiopathic Thrombocytopenia Unresponsive to First-Line Therapies Treated with Traditional Herbal Medicines Based on Syndrome Differentiation. *Explore* 2017; 13(1): 68-74.
11. Emami A, Fasihi SH, Mehregan E. Reference book of medicinal herbs. Tehran: Institute History of Medicine, Islamic Medicine and Complementary Sciences of Iran University of Medical Sciences, 2013. Vol.2.
12. Aghili M. Makhzan al-Advieh. Tehran: Tehran University of Medical Sciences Press; 2008.
13. Avicenna. The Canon of medicine. Beirut: Dar Maktab Al-Helal; 2009.
14. Mirheydar H. Plant Sciences. 7th ed. Tehran: Islamic Culture Publications Office; 2006. Vol.5 p.232.
15. Servatyari K, Ahmadi A, Kashefi H, Manbari MN, Rostami A, Moulodi MR. The effect of hydroalcoholic extract of *Medicago sativa* on liver function tests, blood biochemical factors and coagulation system in male rats. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences* 2017; 21(6): 16-26.
16. Jafari H, Ahmadalinejad M, Salahshour T. Interactive effect of four weeks of resistance training and alfalfa extract supplementation therapy on some hematological factors in girls with weight loss. Babolsar: National Conference on Technological Achievements of Iranian Physical Education and Sport Sciences; 1394. p.1.
17. 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(3): 393-399.
18. Refaai MA, Frenkel E, Sarode R. Platelet aggregation responses vary over a period of time in healthy controls. *Platelets* 2010; 21(6): 460-463.
19. Pierre S, Crosbie L, Duttaroy AK. Inhibitory effect of aqueous extracts of some herbs on human platelet aggregation in vitro. *Platelets* 2005; 16(8): 469-473.
20. Singh I, Mok M, Christensen AM, Turner AH, Hawley JA. The effects of polyphenols in olive leaves on platelet function. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2008; 18(2): 127-132.
21. Rana M, Katbamna R, Padhya A, Dudhrejiya A, Jivani N, Sheth N. In vitro antioxidant and free radical scavenging studies of alcoholic extract of *Medicago sativa* L. *Romanian Journal of Biology-Plant Biology* 2010; 55(1): 15-22.
22. Gawel E, Grzelak M. The Effect of a protein-xanthophyll concentrate from alfalfa (phytobiotic) on animal production-a current review. *Annals of Animal Science* 2012; 12(3): 281-289.
23. Kaushansky K, Al Lichtman M. Hematology of the Fetus and Newborn, Williams Hematology. 9th ed. New York: McGraw-Hill Education/ Medical; 2016.