

بررسی اثر حفاظتی عصاره گیاه غازایاقی (*Falcaria vulgaris*) بر زخم معده ناشی از اتانول در موش صحرایی

✉ مظفر خزاعی Ph.D.*، حسین صالحی M.Sc.**، رستم قربانی Ph.D.*

* گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

** گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی اراک

تاریخ وصول: اسفند ماه ۸۱، تاریخ پذیرش: اردیبهشت ماه ۸۲

چکیده

هدف: بررسی اثر حفاظتی عصاره گیاه غازایاقی (*Falcaria vulgaris*) بر زخم معده ناشی از اتانول در موش صحرایی

مواد و روشها: سی و پنج راس رت نر جوان از نژاد NMRI با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم در پنج گروه (۷ سر رت در هر گروه) استفاده شدند. گروه کنترل منفی، آب مقطر با دوز ۱۰ ml/kg، گروه کنترل مثبت، رانیتیدین با دوز ۵۰ mg/kg و سه گروه آزمایش دوزهای ۵۰ mg/kg، ۱۰۰ و ۱۵۰ از عصاره گیاه را به روش گاواژ دریافت کردند.

تمام گروهها اتانول ۵۰ درصد (۱۰ ml/kg) گرفته و یک ساعت پس از آن کشته شدند. معده رتها جدا، از انحنای بزرگ باز و ضریب زخم ulcer index تعیین شد. سپس تمامی معدهها تثبیت و پس از آماده سازی بافتی، برشهای ۵-۶ میکرونی برای رنگ آمیزی H&E و بررسی بافت شناسی و تعیین ضریب زخم میکروسکوپی به کار رفت.

یافته ها: عصاره آبی - الکلی گیاه غازایاقی با غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، به طور معنی دار ($p < 0.05$) ضریب زخم ماکروسکوپی معده را کاهش می دهد و ضریب بهبودی گروههای فوق به ترتیب ۶۶/۹ درصد، ۷۶/۰۹ درصد و ۸۰/۲۵ درصد است. ضریب زخم میکروسکوپی با سه دوز مذکور به طور معنی دار ($p < 0.05$) کاهش یافته و ضریب بهبودی آنها به ترتیب ۵۳/۵۲ درصد، ۶۹/۴۸ درصد و ۸۳/۸۲ درصد است.

نتیجه گیری: عصاره این گیاه اثر حفاظتی مؤثری در مقابل ضایعات معدی ناشی از اتانول اعمال می کند.

کلید واژه ها: گیاه غازایاقی، زخم معده، اثر حفاظتی، ضریب زخم

مقدمه

زخم معده شامل ضایعات مخاطی و زیر مخاطی خوش خیم در دیواره معده است که شیوع ۵ تا ۱۰ درصدی داشته [۱] و برای درمان آن چند نوع داروی شیمیایی شناسایی و معرفی شده است که عبارتند از:

(I) آنتی بیوتیک ها: آموکسی سیلین، تتراسایکلین، کلاریترومایسین، مترونیدازول و بیسموت

(II) بلوک کننده های H₂ هیستامین: سایمتیدین، فاموتیدین و رانیتیدین

✉ آدرس مکاتبه: کرمانشاه، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح
Email: mkhazaei1345@Yahoo.com

(III) مهارکننده های پمپ پروتون: امپرازول و لانسپرازول [۲]

این داروها هزینه مصرف بالا و عوارض جانبی متعددی نظیر آریتمی، عقیمی، بزرگی سینه و تغییرات خونی به همراه داشته [۳] و احتمال عود ضایعات پس از قطع درمان با آنها وجود دارد. به همین دلیل در بین مردم، درمان زخم معده با طب سنتی و عصاره های گیاهی از اهمیت ویژه ای برخوردار است و ترکیبات گیاهی نتایج اطمینان بخشی برای درمان آن فراهم ساخته اند [۴ و ۳]. در بین گیاهان مختلف، تیره چتریان از جایگاه مهمی برخوردار است [۵].

گیاه *Bupleurum falcatum* از تیره چتریان دارای اثر آنتی اولسری ثابت شده در شرایط آزمایشی (*in vitro*) و در بدن (*in vivo*) است. اثر حفاظتی آن در مقابل زخم معده ناشی از

نگهداری شدند، آنها با غذای معمولی تغذیه شده و دسترسی آزاد به آب داشتند. برای تخلیه معده، تمامی حیوانات به مدت ۴۸ ساعت قبل از آزمایش گرسنه نگه داشته شده [۱۳] و طی دوره گرسنگی و به منظور اجتناب از تحلیل آب بدن با محلول سوکروز ۸ درصد در نمک طعام ۰/۲ درصد [۱۴] تغذیه شدند. گروه کنترل منفی، آب مقطر (۱۰ ml/kg) دریافت کرده و گروه کنترل مثبت رانیتیدین با دوز ۵۰ mg/kg و سه گروه درمانی، عصاره گیاه را با دوزهای ۱۵۰ mg/kg، ۱۰۰ و ۵۰ از طریق دهانی و با یک سوزن گاوآژ استیل دریافت کردند. دو دوز در روز اول در ساعتهای ۸ و ۱۶ و دوز سوم در روز بعد، ۱/۵ ساعت قبل از ایجاد زخم از طریق، اتانول داده شد.

سپس گروههای کنترل و همچنین گروههای درمانی، اتانول (Merk) (۵۰ v/v) درصد در آب مقطر) با دوز ۱۰ ml/kg گرفتند و یک ساعت پس از آن، همه رتها به وسیله کلروفورم کشته شده و معده آنها سریعاً خارج و از طول انحنای بزرگ برش داده شد. پس از پهن و ثابت کردن معده روی یک ورقه پارافین جامد، با استریومیکروسکوپ (Lica Zoom ۲۰۰۰) مشاهده شد.

ضایعات بلند توسط دو نفر، به طور جداگانه شمارش و سپس با کمک گریتا کولیس (Heerbrugg switzerland wild, Graticule) از طول بلند اندازه گیری (برحسب میلی متر) و میانگین آنها تعیین شد. ضایعات لکه ای (پتشی) با ابعاد ۱ mm نیز شمارش و هر پنج ضایعه لکه ای به عنوان زخم یک میلیمتری در نظر گرفته شد [۱۵ و ۱۶].

برای محاسبه ضریب زخم (ulcer index) حاصل جمع طول کلی زخمها و ضایعات لکه ای در هر گروه از رتها به تعداد آنها تقسیم و ضریب بهبودی از فرمول زیر [۳] محاسبه شد:

$$\text{ضریب بهبودی} = 100 \times \frac{\text{ضریب زخم آزمایش} - \text{ضریب زخم کنترل}}{\text{ضریب زخم کنترل}}$$

بلافاصله پس از ارزیابی ماکروسکوپی، معده ها در فرمالین خنثی بافر شده، تثبیت و بعد قسمت غددی آنها به چهار قطعه برش داده شد. پس از آماده سازی، برشهای ۶ - ۵ میکرونی تهیه و با رنگ آمیزی H&E با میکروسکوپ (Olympus) بررسی شدند. ضریب زخم میکروسکوپی با روش زیر و توسط دو نفر

اتانول و اسید کلریدریک به ساپونین های موجود در عصاره گیاه ارتباط داده می شود [۶].

گیاه *Gotu kola* (از تیره چتریان) اثر آنتی اولسری خصوصاً در برابر زخمهای معدی ناشی از سرما و مهارسازی استرسی داشته و مواد مؤثره این گیاه نیز ساپونین ها و فلاونوئیدهاست [۷]. Goel و همکاران (۱۹۹۰) اثر ضد زخم و ضد التهابی *Shilajit* را مطالعه نموده و کاهش ضریب زخم (ulcer index) را در معده اعلام کردند [۸]. Vanisree و همکاران (۱۹۹۶) یک فرمول گیاهی به نام "UL-۴۰۹" با ترکیبی از چند گیاه را بر زخم معده ناشی از مخلوط اسید - الکل در رت به کار برده و کاهش تعداد ضایعات مخاطی را مشاهده کردند [۹].

Alkofahi و همکاران (۱۹۹۹) اثر ضد زخم زایی تعدادی از گیاهان کشور اردن را در رت بررسی و با کاربرد عصاره اتانولی آنها با دوز (۴۰۰ mg/kg) در مقابل آسیب معدی ناشی از اتانول ۵۰ درصد (۱۰ ml/kg)، کاهش شدت ضایعات معدی را اثبات نمودند [۳]. shetty و همکاران (۲۰۰۰)، نیز اثر حفاظتی عصاره گیاه جینگوبیلوبا (۳۰۰ mg/kg) را یک ساعت قبل از دریافت اتانول بررسی و کاهش معنی دار شدت ضایعات و خونریزی و اندازه زخم را گزارش نمودند [۱۰].

گیاه غازیاقی (*Falcaria vulgaris*) از خانواده چتریان (*umbelliferae*) در حاشیه مزارع روئیده و در مناطق زیادی از ایران به عنوان سبزیجات مصرف می شود [۱۱]. در طب سنتی غرب ایران، این گیاه به عنوان پادزهر، برای درمان زخمهای پوستی، زخم معده، بیماریهای کبدی و سنگ کلیه و کیسه صفرا [۱۲] به کار می رود، با توجه به جستجوی گسترده و فقدان مطالعات علمی در مورد این گیاه، به منظور بررسی اثر حفاظتی آن در مقابل ضایعات معدی ناشی از اتانول، مطالعه حاضر طراحی و اجرا شد.

مواد و روشها

در این مطالعه موشهای صحرایی نر از نژاد NMRI با وزن ۲۵۰ - ۲۰۰ گرم استفاده شد، حیوانات در قفسهای دارای کف توری بلند به منظور ممانعت از مدفوع خواری، و در دمای 22 ± 7 درجه سانتیگراد و دوره روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته

مستقیم نشان می‌داد، همچنین ارزیابی مورفومتریکی برای سنجش گسترش زخم انجام شد. ضریب زخم به‌طور معنی‌دار در حیوانات پیش درمان شده با عصاره در مقایسه با گروه‌های کنترل آب مقطر و رانی تیدین کاهش نشان می‌دهد (جدول ۱).

جدول ۱. اثر عصاره (دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ mg/kg بر زخم ناشی از اتانول و مقایسه آن با گروه کنترل منفی (آب مقطر) و گروه کنترل مثبت (رانیتیدین) از نظر ضریب زخم ماکروسکوپی، میکروسکوپی و

نسبت بهبودی

گروه	میانگین ضریب زخم ماکروسکوپی	میانگین ضریب زخم میکروسکوپی	نسبت بهبودی برحسب درصد
آب مقطر ۱۰ ml/kg	۱۲/۵۱ ± ۲/۱۴	۱۳/۶ ± ۱/۲۲	—
رانی تیدین ۵۰ mg/kg	۵/۱۹ ± ۱/۰۲	۷/۷۲ ± ۰/۸۷	۵۸/۵۱
عصاره ۱ ۱۵۰ mg/kg	*۲/۴۷ ± ۰/۵۹	۲/۱۵ ± ۰/۴۲	۸۰/۲۵
عصاره ۲ ۱۰۰ mg/kg	*۲/۹۹ ± ۰/۴۶	۴/۱۵ ± ۰/۷۸	۷۶/۰۹
عصاره ۳ ۵۰ mg/kg	*۴/۱۴ ± ۰/۶۲	۶/۳۲ ± ۰/۷۵	۶۶/۹

(نسبت به گروه کنترل منفی) * : $P < 0.01$

در بررسی میکروسکوپی، دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ mg/kg به‌طور معنی (p < 0.04) ضریب زخم را کاهش داد و ضریب بهبودی آنها به ترتیب: ۵۳/۵۲، ۶۹/۴۸ و ۸۳/۸۲ درصد است. رت‌های اتانول گرفته زخم مخاطی نسبی، خونریزی، نکروز مخاطی (شکل ۲A)، ادم زیرمخاطی و ارتشاح لکوسیتی به آستر مخاط و اتساع ونولها را نشان دادند (شکل ۲B) در حالی که فقط تحلیل نقطه‌ای پوشش مخاطی در گروه درمان شده با عصاره گیاه مشاهده شد.

بحث

با توجه به بررسی انجام شده توسط محققین حاضر، این مطالعه اولین گزارش علمی و مستند در مورد اثر عصاره این گیاه بر زخم معده است. هر سه دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ mg/kg عصاره

بافت‌شناسی و یک پاتولوژیست به‌طور جداگانه محاسبه و میانگین گرفته شد [۱۷]:

بافت نرمال = ۰

آسیب موضعی به سلولهای کریپت‌های معده = ۱

آسیب موضعی به غدد معده = ۲

آسیب عمقی به غدد معده = ۳

ضریب زخم میکروسکوپی =

$3 \times (\text{تعداد ضایعات نوع ۳}) + 2 \times (\text{تعداد ضایعات نوع ۲}) + (\text{تعداد ضایعات نوع ۱})$

گیاه غازیاقی (*Falcaria vulgaris*) از بازار خریداری و پس از تأیید توسط گیاه‌شناس گروه زیست‌شناسی دانشگاه رازی، تمیز و برگ‌ها و ساقه آنها به مدت ۵ روز در سایه خشک و سپس به شکل پودر در آورده شد [۱۸]. حدود ۱۰۰ گرم از پودر گیاه با اتانول ۷۰ درصد به روش پرکولاسیون عصاره‌گیری شد.

عصاره اتانولی با کمک دستگاه تقطیر در خلأ عاری از الکل و پس از پهن کردن بر شیشه کاملاً خشک و سپس تراشیده و تست شد. به منظور تعیین سمیت، ۵ دوز متفاوت عصاره به ۵ گروه موش (۶ موش در هر گروه) به‌طور داخل صفاقی تزریق شد و طی ۲۴ ساعت مرگ و میر موش‌ها ثبت شد (LD₅₀). پس از تجزیه و تحلیل آماری، داده‌ها به‌صورت میانگین و انحراف معیار بیان و معنی‌دار بودن آنها با روش ANOVA یک طرفه و تست t-Dunnett سنجیده شد و (p < 0.05)، معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

دریافت اتانول ۵۰ درصد (۱۰ ml/kg) منجر به ضایعات مخاطی آشکار معده شد. در بررسی ماکروسکوپی این ضایعات با نوارهای طولی خونریزی دهنده متعدد با اندازه‌های مختلف در طول محور طولی بخش غددی معده رویت شدند (شکل ۱A). درمان با عصاره گیاه، ضایعات کمتر (متوسط) با خونریزی بینابینی (شکل ۱B) مشاهده شد و گاهی هیچ ضایعه‌ای رویت نشد.

دوزهای گیاه به‌طور معنی‌دار نسبت بهبودی را در مقایسه با کنترل (جدول ۱) افزایش داد که با غلظت عصاره مصرفی رابطه

رادیكالهای آزاد همراه است که منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و در نتیجه باعث آسیب سلول و غشای آن می‌شود [۱۰ و ۹].

اتانول ۵۰ درصد هم باعث زخم و هم باعث ضایعات لکه‌ای (پتشی) در یک زمان نسبتاً کوتاه می‌شود که این روش را برای مطالعات اثر داروهای ضد زخم معده، مناسب می‌سازد. این روش در مقایسه با سایر تکنیک‌ها که میزان متغیری از زخمهای معده را ایجاد می‌کند [۳]، مناسب تر است. به نظر می‌رسد که عصاره این گیاه در تقویت دفاع مخاطی معده و کاهش مستقیم ضایعات ناشی از اتانول دخالت دارد. شناسایی ترکیبات موثر گیاه به منظور تعیین مکانیسمهای احتمالی آن و بررسی اثر حفاظتی و درمانی عصاره این گیاه در مقابل ضایعات معده ناشی از داروهای NAIDs برای مطالعات تکمیلی مدنظر است.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مراتب سپاس خود را از دکتر بابک ایزدی، استادیار ارجمند گروه پاتولوژی و دکتر غلامرضا بهرامی، استادیار محترم گروه فارماکولوژی به خاطر همکاری و مشاوره طی این تحقیق و دکتر علی پورمتعبد، مشاور محترم آمار اعلام می‌دارد.

گیاه غاز ایاقی به‌طور معنی‌دار ضایعات معده ناشی از اتانول را کاهش دهند. این دوزها محافظت بیشتری از رانی تیدین 50 mg/kg در مقابل آسیب اتانول، به وجود می‌آورند. نسبت بهبودی آنها با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و 150 mg/kg به ترتیب $66/9$ ، $76/09$ و $80/25$ بود که در مقایسه با دوزهای بالاتر از گیاهان مشابه به کار رفته در محافظت و درمان زخم معده در سایر مطالعات [۳ و ۱۰] موثرتر به نظر می‌رسد. به دلیل فقدان مطالعات مشابه در این زمینه امکان مقایسه با آنها وجود ندارد. اتیولوژی زخم معده، در اغلب موارد ناشناخته است اما به‌طور کلی عدم تعادل بین فاکتورهای مخرب و مکانیسمهای دفاع مخاطی [۳ و ۱۰] پذیرفته شده است. به منظور تقویت این تعادل، عوامل درمانی متفاوتی شامل عصاره گیاهان برای مهار ترشح اسید معده یا تقویت مکانیسم دفاع مخاطی در سلولهای اپی تلیال سطحی یا تداخل با تولید پروستاگلاندین‌ها، استفاده می‌شوند.

عواملی شبیه اتانول، وقتی به‌طور داخل معده مصرف می‌شوند، باعث ایجاد خونریزی شدید می‌شوند. رادیكالهای آزاد اکسیژنی در پاتوژنز ضایعات مخاطی معده ناشی از اتانول، جدای از سایر مکانیسمها نظیر رها سازی لکوترین‌ها و انقباض وریدچه‌های زیر مخاطی، دخالت دارند. ضایعه معده ناشی از اتانول، با تولید مقادیر قابل توجه

References

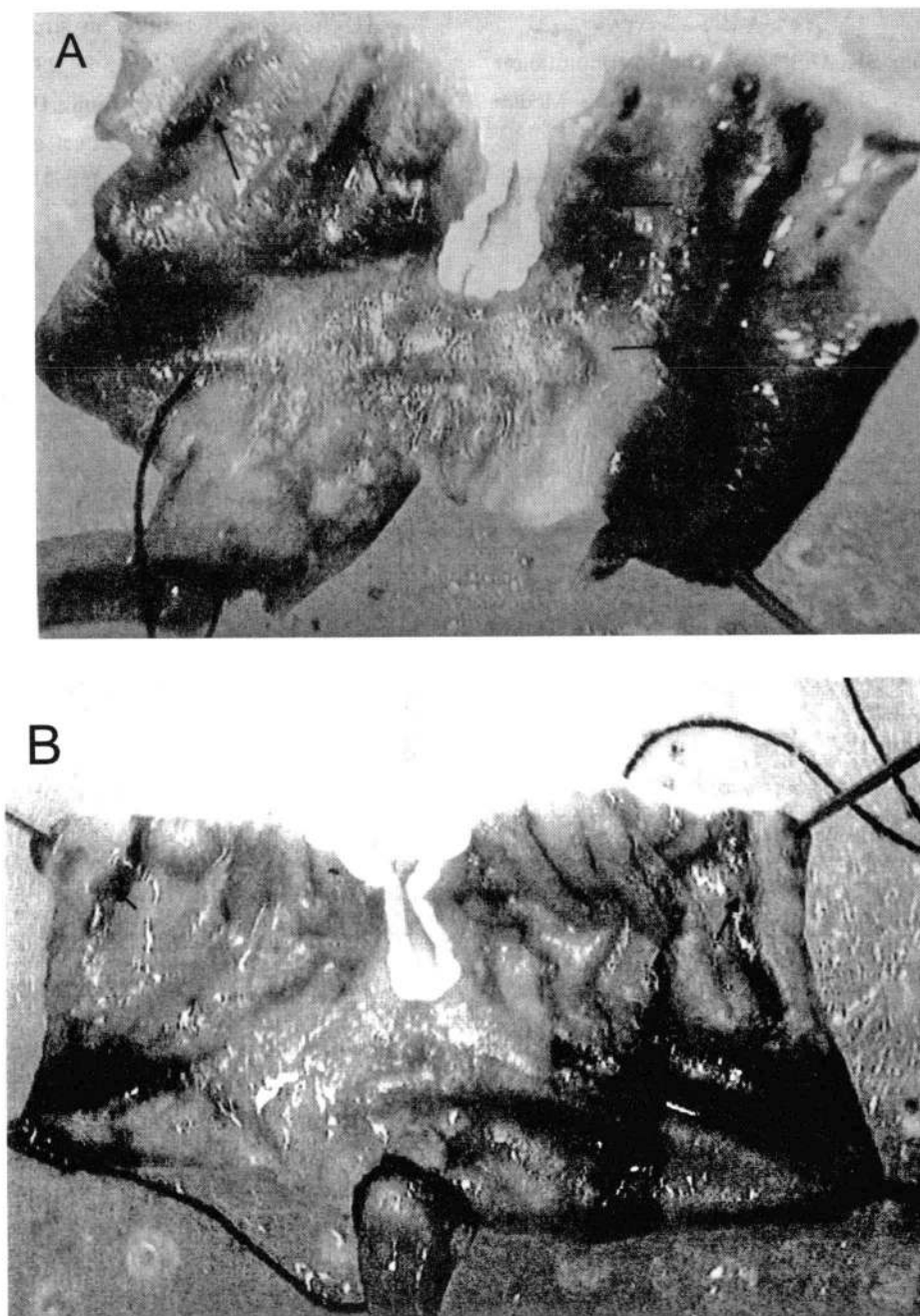
1. Andreoli TE, Carpenter CCJ, Griggs R, Loscalzo J. Cecil essential of medicine, 5th ed, Philadelphia, Sanders, 2001, pp 335-6.
2. <http://www.hollandandbaret.com/concern/peptic-ulcer.htm>
3. Alkofahi A, Atta HA. Pharmacological screening of anti-ulcerogenic effects of some Jordanian medicinal plants in rats. *Ethnopharmacology* 1999; 67: 341-5.
4. مجاب فرزاد، جینکو بیلوبا. ماهنامه دارویی رازی. ۱۳۸۳؛ سال ۱۵، (شماره ۸): ۴-۳۱.
5. زرگری علی. گیاهان دارویی، دانشگاه تهران، چاپ ششم، ۱۳۷۵، شماره ۹: صفحات ۶۲۶-۴۷۴.
6. Mutsuma and William. Effect of the antiulcer polysaccharide fraction from *Bupleurum falcatum* on the healing of the gasteric ulcer induced by acetic acid in rat. *Phytother-Res* 2002; 16(1): 91-8.
7. Chatterjee TK, Chakraborty A, Pathak M. Effect of plant extract *Centella asiatica* on cold restraint stress ulcer in rats. *Ind J of Exp Biol* 1992; 35: 889-91.
8. Goel RK, Banerjee R.S, Acharya S.B, Antiulcerogenic and anti-inflammatory studies with shilajit. *Ethnopharmacology* 1990; 29: 95-103.
9. Vanisree AJ, Mitra K, Shyamala devi CS. Antiulcerogenic effects of UL-409 against experimentally induced gastric ulcer in rat. *Ind J Pharmacol* 1996; 28: 265-8.
10. ShRetty R, Vijay Kumar K, Naidu MUR, Ratnagar KS. Effects of Ginkgo biloba extract on ethanol-induced mucosal lesions in rats. *Ind J of Pharmacol* 2000; 32: 313-17.
۱۱. مظفریان ولی‌الله. فرهنگ نامهای گیاهان ایرانی. انتشارات فرهنگ معاصر. تهران. ۱۳۷۵، صفحات ۲۲۷.

۱۲. اژدری اسماعیل. درمان بیماریها به روش سنتی. انتشارات یاس، مشهد. ۱۳۸۰، صفحات ۹-۲۲۶.

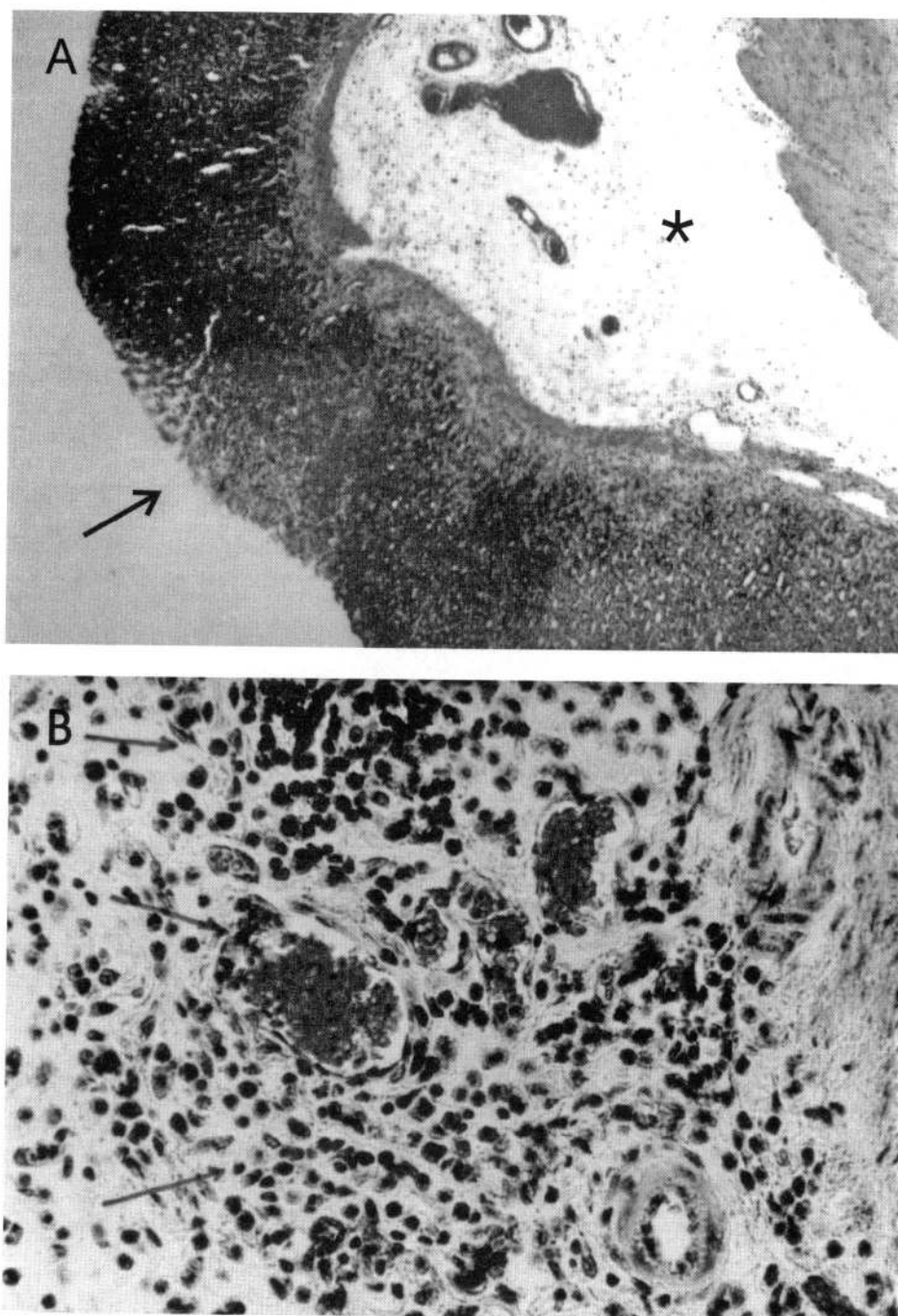
13. Garg GP, Nigam SK, Ogle CW. The gastric antiulcer effects of leaves of the Neem tree. *Planta Medica* 1993; 59: 215-7.
14. Glavin GB, Mikhail AA. Stress and ulcer ethiology in rat. *Physiol Behav* 1976; 16: 135-9.
15. Ogle CW, Cho CH, Wong SH. The effect of nicotine on ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Experientia* 1985; 41: 1140-1.
16. Cho CH, Ogle CW. Cholinergic-mediated gastric mast

cell degranulation with subsequent histamin H1 and H2- receptors activation in stress ulceration in rats. *Europ J Pharmacol* 1986; 55: 23-33.

17. Pandit S, Sur TK, Jana U, Bhattacharyya D, Debnath PK. Anti-ulcer effect of Shankha bhasma in rats: a preliminary study *Ind J Pharmacol* 2000; 32: 378-80.
18. Anupam B, Malay C. Protective effects of Mikania cordata root extrats against physical and chemical factors-induced gastric erosions in experimental animals. *Planta Med* 1994; 60: 110-13.



شکل ۱. نمای ماکروسکوپی زخمهای طولی ناشی از اتانول در بخش غددی معده موش صحرایی (A) و در معدههای پیش درمان شده با عصاره خالص غازیاقی 150 mg/kg (B).



شکل ۲. نمای میکروسکوپی ضایعات مخاطی حاصل از اتانول و ادم در زیر مخاط (A)، رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی: $\times 40$
ارتشاح لکوسینی به آستر مخاط معده و اتساع ونولها (B) رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی: $\times 400$

