● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره نهم، شمارهٔ ۳، مرداد – شهریور ۱۳۸٦، صفحه ۷-۱۲
دریافت: ۸۵/۱۰/۱۳، ارسال جهت اصلاح: ۸۵/۱۲/۳، پذیرش: ۸٦/۵/۳

اثر عصاره آبی گیاه کلپوره (Teucrium Polium L.) بر میزان ترشح اسید معده در شرایط پایه، واگوتومی و تحریک عصب واگ

سعید نیازمند [*۱]، موسی الرضا حاج زاده [۲]، زکیه کشاورزی پورتفتی [۳]

۱- استادیار گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد ۲- دانشیار گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۳- دانشجوی دکترای فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان

سابقه و هدف: کلپوره یا مریم نخودی، از تیره نعناع، گیاهی علفی است که در سالهای اخیر اثرات ضد دیابت، ضد اسپاسم و ضد میکروبی آن گزارش شده است، ولی در مورد اثرات آن بر ترشح اسید معده تحقیقی صورت نگرفته است. هدف این تحقیق بررسی اثر غلظت های مختلف عصاره آبی این گیاه بر میزان ترشح اسید معده در شرایط پایه، واگوتومی و تحریک عصب واگ می باشد.

مواد و روشها: ۲٤ سر رت نژاد ویستار با وزن (۲۵۰-۲۰۰g)، به طور تصادفی به دو گروه دوازده تایی کنترل و آزمون تقسیم شد. پس از بیهوشی حیوانات با تیوپنتال سدیم (۵۰mg/kg, ip)، تراکئوستومی، لاپاراتومی و گاسترودئودنوستومی انجام گردید. عصاره آبی کلپوره در غلظت های mg/ml ۲۰ و ۱۰، ۵ (در حجم ۱ ml) تهیه و برای سنجش ترشح اسید معده از روش wash out استفاده گردید و غلظت اسید آن به روش تیتریمتری اندازه گیری گردید.

یافته ها: مقایسه میانگین نمونه اول و دوم هر غلظت در گروه آزمون تنها، در شرایط واگوتومی معنی دار شد. مقایسه هر یک از سه شرایط مذکور نشان داد که در گروه آزمون، بین حالت پایه با واگوتومی و واگوتومی با تحریک عصب واگ، تفاوت معنی داری در ترشح اسید معده وجود داشت ($p<۰/۰۵$). مقایسه بین گروه کنترل وآزمون نشان داد که عصاره آبی کلپوره اثری بر ترشح اسید معده ندارد.

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان داد که غلظتهای مختلف عصاره آبی کلپوره در هر سه شرایط، تفاوت معنی داری در میزان تر شح اسید معده ایجاد نمی کند.

واژه های کلیدی: *کلپوره، اسید معده، واگوتومی، عصب واگ.*

مقدمه

اختلالات گوارشی هم اکنون یکی از مسائلی است که در بین جامعه انسانی شیوع بسیار بالایی دارد و اغلب این بیماری ها به صورت زخم معده و اثنی عشر، ورم معده، سوء هضم و غیره بوده، از طرفی بسیاری ازاین اختلالات به درجاتی ناشی از اختلال در ترشح اسید معده می باشند (۱). در چند سال اخیر گرایش به مصرف داروهای گیاهی و استفاده از این داروها در درمان و پیشگیری از بیماری ها در سطح جهان و بخصوص ایران به طور چشم گیری افزایش یافته است. یکی از گیاهانی که کم و بیش در طب سنتی برای بهبود وضعیت گوارشی افراد توصیه شده گیاه کلپوره است. کلپوره یا مریم نخودی (Teucrium Polium) از تیره نعناع

▣ هزینه انجام این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۸۵۲۷٦ از اعتبارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد تامین شده است.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.3.1.6]

(Labiatae) گیاهی است علفی، پایا به ارتفاع cm ۳۰-۱۰، دارای ظاهر سفید پنبه ای که معمولا در نواحی سنگلاخی و ماسه زارهای نواحی مختلف اروپا، منطقه مدیترانه، شمال آفریقا و جنوب غرب آسیا از جمله ایران در نواحی مختلف شمال، غرب، جنوب و مرکز ایران و کوهستانهای نیمه خشک پراکندگی دارد (۲). مصرف دارویی آن به زمان بقراط و جالینوس بر می گردد و بخش دارویی آن که سر شاخه های گلدار آن می باشد، اثر مقوی و ضد تشنج داشته و مصرف آن را برای رفع بیماریهای دستگاه تناسلی – ادراری و تاخیر یا عدم قاعدگی مفید می دانند (۲). از این گیاه در طب سنتی جهت اثرات ضد دیابتی، ضد التهابی، ضد زخم اثنی عشر و آنتی اسپاسمودیک استفاده می شود. تحقیقات علمی نشان داده اند که این گیاه دارای اثرات ضد دیابت، پایین آورنده کلسترول و تری گلیسرید سرم، ضد اشتها، ضد التهاب، آنتی اکسیدان، ضدتب و ضد میکروب و ضد درد می باشد (۳-۸).

در بررسیهای انجام شده بر روی گیاه کلپوره مشخص شده است که این گیاه حاوی مقادیری تانن، ترپنوئید، ساپونین، استرول، فلاونوئید و لوکوآنتوسیانین است. هم چنین دارای اثر آنتی باکتریال بوده ولی اثر ضد قارچی بارزی ندارد (۹). اثرات ضدانقباضی این گیاه بر رحم موش صحرایی باکره نیز بررسی شده است (۱۰). در مورد اثر این گیاه بر ترشح اسید معده گزارشی در دست نیست. لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر عصاره آبی کلپوره بر ترشح اسید معده در شرایط پایه، واگوتومی و تحریک عصب واگ می باشد.

مواد و روشها

مطالعه به صورت تجربی بر روی ۲۴ سر رت نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم که به دو گروه آزمون و کنترل تقسیم شده بودند، انجام شد. در سراسر دوره آزمایش رتها تحت شرایط استاندارد و درجه حرارت مطلوب حدود 25 ± 2 C^o و سیکل روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته بصورت جمعی در اتاق حیوانات بیمارستان قائم مشهد نگهداری می شدند. در گروه آزمون بررسی اثر سه غلظت عصاره آبی گیاه کلپوره بر روی ترشح اسید در شرایط پایه، واگوتومی و تحریک با عصب واگ انجام شد و در گروه کنترل از نرمال سالین به جای کلپوره بر ترشح اسید در شرایط پایه، واگوتومی و تحریک باعصب واگ استفاده شد. برای بررسی اثر عصاره آبی گیاه کلپوره بر غلظت اسید معده، با ایجاد یک فیستول در دئودنوم و با استفاده از کانول غلظتهای مختلف گیاه را وارد معده کرده و ترشحات معدی جمع آوری می شد آنگاه میزان اسیدیته آن بروش تیتراسیون اندازه گیری می شد. ۳۰۰ گرم از گیاه کلپوره تهیه شده که توسط هرباریوم دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی گردیده بود را وزن کرده و با مقدار مشخصی آب مخلوط کردیم. حدود ۲۴ ساعت گیاه مورد نظر را در مقدار مشخصی آب خیسانده و سپس محلول بدست آمده را از کاغذ صافی عبور دادیم. جهت تهیه عصاره خشک، محلول بدست آمده را در Ban marry به مدت ۳۶ ساعت قرار دادیم. وزن عصاره خشک بعد از تبخیر آب حدود ۲۷ گرم بود. سپس از عصاره بدست آمده غلظتهای ۵، ۱۰ و۲۰ mg/ml را تهیه کردیم.

حیوانات بطور تصادفی به دو گروه ۱۲ تایی کنترل و تجربی تقسیم شدند. ۲۴ ساعت قبل از آزمایش حیوان از خوردن غذا محروم می شد ولی دسترسی آزاد به آب وجود داشت. جهت حذف اثر ریتم های شبانه روزی هر روز آزمایش راس ساعت ۸ صبح شروع می شد. در این مطالعه از تیوپنتال سدیم (۵۰ mg/kg, ip) جهت بیهوشی استفاده گردید. پس از بیهوش نمودن حیوان جهت جلوگیری از ورود ترشحات دهان به درون نای، حیوان تراکئوستومی و همزمان مری نیز مسدود می گردید. سپس حیوان لاپاراتومی شده و با ایجاد سوراخی در دئودنوم، کانولی وارد دئودنوم گشته و تا معده پیش رانده می شد. برای اندازه گیری غلظت اسید معده از روش Washout بمدت ۱۵ دقیقه استفاده شد. به ترتیب دو نمونه برای تعیین غلظت اسید پایه و دو نمونه برای تعیین غلظت اسید در حضور هر یک از غلظتهای مختلف گیاه کلپوره بمدت ۱۵ دقیقه تهیه می گردید سپس معده را با نرمال سالین شستشو داده و عصب واگ بصورت دو طرفه قطع می شد و ۱۵ دقیقه بعد از واگوتومی، دو نمونه برای غلظت اسید در حالت واگوتومی و دو نمونه در حضور هر یک از غلظتهای مختلف گیاه کلپوره گرفته می شد. سپس عصب واگ با استفاده از استیمولاتور (Harvard) تحریک شده (15 V, 4 Hz, width 0.05 ms, 15 min) و دو نمونه برای غلظت اسید با تحریک عصب واگ و دو نمونه در حضور هریک از غلظتهای مختلف گیاه کلپوره با تحریک عصب واگ جمع آوری می شد.

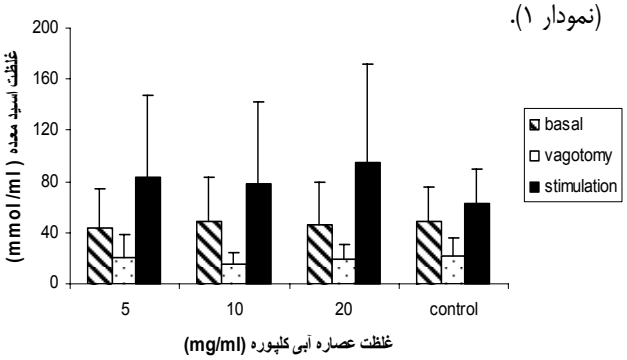
[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.3.1.6]

همانطور که بیان شد در روش washout برای هر غلظت دونمونه با فاصله ۱۵ دقیقه گرفته می شد که تا حد ممکن از خطاهای آزمایش کاسته شود. تیتراسیون در آزمایشگاه و بلافاصله پس از نمونه گیری صورت می گرفت و حدود ۰/۵ ml از ترشح معدی بدست آمده با سود ۰/۰۱ نرمال تیتر می گردید و با استفاده از فرمول $N_1V_1=N_2V_2$، نرمالیته ترشحات معده را بدست آورده، که بیانگر غلظت اسید معده بود. جهت اطمینان از کارایی عصب واگ در حین تحریک عصب واگ ضربان قلب حیوان با استفاده از دستگاه ECG کنترل می شد. برای اندازه گیری مقدار کل اسید قابل تیتر از دستگاه تیتراتور دستی با دقت ۰/۲ml استفاده می شد.

نتایج ارائه شده در نمودارها و اشکال بصورت Mean±SD و جهت مقایسه نتایج بین گروهها از آزمونهای t، ANOVA و Paired t-test استفاده شد و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

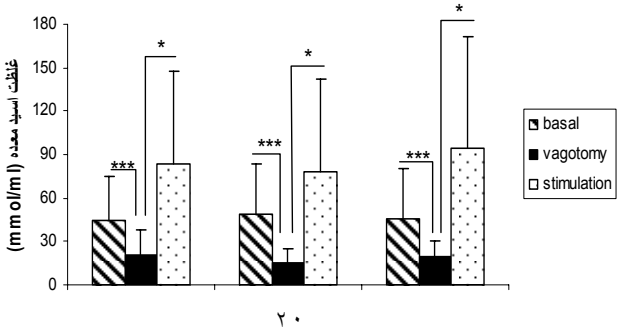
یافته ها

میزان ترشح اسید معده در حضور غلظت های مختلف عصاره آبی کلپوره در گروه آزمون در مقایسه با گروه کنترل درهر سه حالت پایه، واگوتومی و تحریک عصب واگ تفاوت معنی داری نداشت (نمودار ۱).



نمودار ۱. مقایسه میانگین متوسط دو نمونه اول ودوم غلظت اسید معده (mmol/ml) به تفکیک غلظت استفاده شده عصاره آبی کلپوره در سه حالت پایه، واگوتومی و تحریک عصب واگ دردوگروه کنترل و تجربی. با توجه به آزمون تی استیودنت مشخص گردید که غلظت اسید معده در هر سه حالت در دوگروه تجربی و کنترل تفاوت معناداری نداشت (n = 12 در هر گروه).

بین هر غلظت در شرایط پایه با واگوتومی تفاوت معنی داری در ترشح اسید معده وجود داشت، ولی بین هر غلظت در شرایط پایه باتحریک عصب واگ تفاوت معنادار درترشح اسید معده مشاهده شد. همچنین بین هر غلظت در شرایط واگوتومی در مقایسه با تحریک عصب واگ تفاوت در ترشح اسید معده معنی دار بود(نمودار ۲).

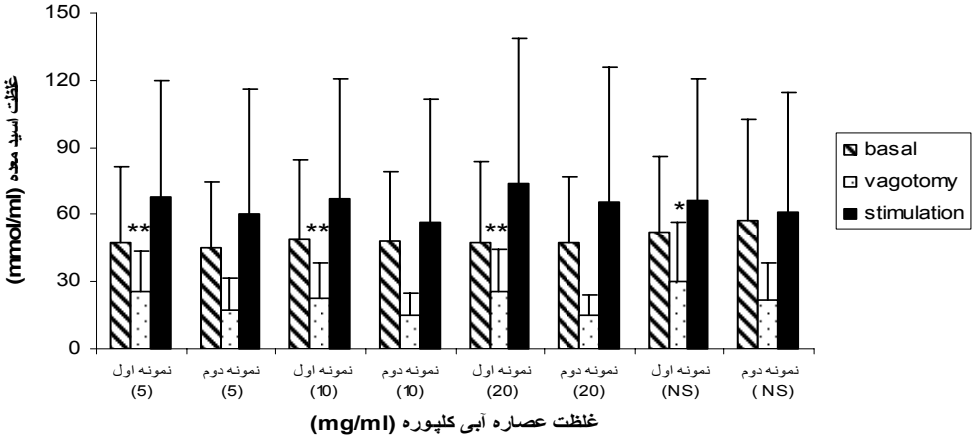


نمودار۲. مقایسه اثر هر غلظت بر میزان ترشح اسید در سه حالت پایه،واگوتومی و تحریک عصب واگ در گروه تجربی (n =۱۲). * نشان دهنده $p<0/05$ در مقایسه با همان غلظت در شرایط تحریک عصب واگ است.* نشان دهنده $p<0/001$ در مقایسه با همان غلظت در شرایط واگوتومی است. بر اساس آزمون تی زوجی مشخص گردید که بین هرغلظت در شرایط پایه نسبت به واگوتومی و همچنین در شرایط واگوتومی نسبت به تحریک عصب واگ تفاوت معناداری در غلظت اسید معده وجود دارد.**

تفاوت معنی داری در غلظت اسید معده بین مقادیر نمونه اول و دوم در هر یک از غلظت ها در شرایط پایه و تحریک عصب واگ وجود نداشت. ولی در شرایط واگوتومی تفاوت در کاهش تر شح اسید معده معنی دار شد. هم چنین تفاوت معنی داری در غلظت اسید معده بین مقادیر غلظتهای مختلف عصاره آبی کلپوره درحالت تحریک عصب واگ با نرمال سالین در همان گروه وجود نداشت (نمودار ۳). نتایج نشان دادکه تفاوت معنی داری بین مقادیر غلظت ۱۰ و ۲۰ با نرمال سالین در حالت پایه وجود نداشت. لیکن بین غلظت ۵ و نرمال سالین درحالت پایه این تفاوت معنی دار بود.

همچنین مشخص گردید که تفاوت معنی داری بین مقادیر غلظت ۲۰ عصاره آبی کلپوره با نرمال سالین در همان حالت واگوتومی وجود نداشت. ولی بین غلظت۵ و ۱۰ عصاره آبی کلپوره با نرمال سالین درحالت واگوتومی تفاوت معنی داری در غلظت اسید معده وجود داشت (نمودار ۴).

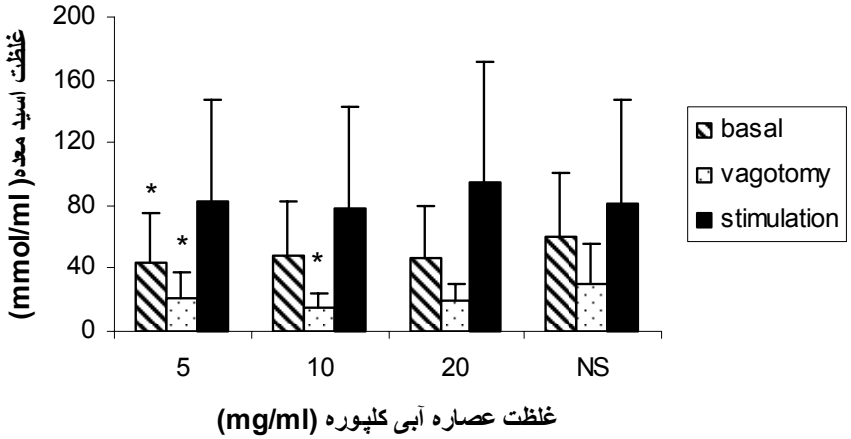
[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.3.1.6]



نمودار۳: مقایسه میانگین غلظت اسید معده (mmol/ml) بین مقادیر نمونه اول و دوم به تفکیک غلظت استفاده شده عصاره آبی کلپوره در سه حالت پایه، واگوتومی و تحریک عصب واگ در گروه تجربی (n = 12).

***نشان دهنده p<۰/۰۵ در مقایسه با نمونه دوم است.**

****نشاندهنده p<۰/۰۱ و p<۰/۰۰۱ درمقایسه بانمونه دوم است.**



نمودار۴ . میانگین متوسط غلظت های مختلف عصاره آبی کلپوره برمیزان غلظت اسید معده در سه حالت پایه، واگوتومی و تحریک عصب واگ در مقایسه با نرمال سالین در همان گروه، NS: نرمال سالین

*** نشان دهنده p<۰/۰۵ در مقایسه با نرمال سالین در همان گروه است.**

بحث و نتیجه گیری

مقایسه غلظت های مختلف عصاره آبی کلپوره با گروه کنترل نشان داد که عصاره آبی کلپوره در غلظت های ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در میلی لیتر، تفاوت معنی داری در ترشح اسید معده ایجاد نمی کند. اگرچه در مطالعه ای که توسط Twaij و همکاران انجام گردید اثرات آنتی اولسری این گیاه ذکر گردید (۱۱) ولی نتایج پژوهش حاضر نشان می دهدکه عصاره آبی کلپوره در غلظت های به کار رفته اثری بر ترشح اسید معده ندارد. در شرایط پایه و تحریک عصب واگ، ترشح اسید معده در ۱۵ دقیقه اول نسبت به ۱۵ دقیقه دوم تفاوت معنی داری را نشان نمی دهد به عبارت دیگر اثر عصاره آبی کلپوره وابسته به زمان نیست. ولی در شرایط واگوتومی مشاهده می شود که میانگین ترشح اسید در ۱۵ دقیقه اول نسبت به ۱۵ دقیقه دوم برای نرمال سالین و غلظت های مختلف عصاره آبی کلپوره تفاوت معنی داری را نشان می دهد. این تفاوت را می توان این گونه بیان کرد که بعد از قطع دوطرفه عصب واگ، در واقع تون پایه مرکزی پاراسمپاتیک بر معده حذف می گردد و استیل کولین

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.3.1.6]

باقیمانده در انتهاهای عصب واگ به تدریج تخلیه می گردد که احتمالا این عامل مسئول بالاتر بودن غلظت اسید در ۱۵ دقیقه اول نسبت به ۱۵ دقیقه دوم است. کاهش میزان ترشح اسید نمونه اول در مقایسه با نمونه دوم برای نرمال سالین را نیز می توان به این امر نسبت داد. با توجه به اینکه اختلاف بین نمونه اول ودوم برای نرمال سالین معنی دار می باشد، معنی دار شدن غلظت های مختلف عصاره کلپوره را نمی توان به اثر مهاری عصاره نسبت داد بلکه این اثر مهاری می تواند مربوط به اختلاف در رهایش استیل کولین بین ۱۵ دقیقه اول و دوم باشد. مقایسه ستون اول و دوم نمودار۳ نشان می دهد که واگوتومی به خوبی موثر بوده و ترشح اسید معده رابه طور بارزی کاهش داده است که نمودار۲، نیز تایید کننده این موضوع می باشد. همچنین مقایسه ستون سوم با ستون اول و دوم نمودار۳ نشان می دهد که تحریک عصب واگ نیز بر ترشح اسید معده موثر و موجب افزایش اسید معده گردیده که نمودار۲، نیز تایید کننده این موضوع می باشد.

بر طبق نمودار۴، غلظت های مختلف عصاره آبی کلپوره با نرمال سالین در همان گروه مورد مقایسه قرار گرفت. آنالیز آماری نشان می دهد که در شرایط پایه ، غلظت ۵ میلی گرم در میلی لیتر، بطور معنی داری ترشح اسید معده را نسبت به نرمال سالین در همین گروه کاهش داده است ولیکن کاهش ترشح اسید در غلظت ۱۰ و ۲۰ mg/ml معنی دار نبوده است. همچنین مشاهده می شود که در شرایط واگوتومی غلظت های ۵ و ۱۰ mg/ml منجربه کاهش معنی داری در ترشح اسید معده شده است ولی در غلظت ۲۰ mg/ml، کاهش در ترشح اسید معده معنی دار نبوده است. ولیکن در حالت تحریک عصب واگ، در حضور غلظت های عصار ه آبی کلپوره تفاوت معنی دار در ترشح اسید معده نسبت به نرمال سالین در همان گروه وجود ندارد.

در آنالیز دیگری که جهت مقایسه اثر هر غلظت در سه شرایط پایه، واگوتومی و تحریک عصب واگ صورت گرفت (نمودار۲)، مشخص گردید که بین هر غلظت در شرایط پایه با واگوتومی تفاوت معنی داری در کاهش ترشح اسید وجود دارد که بیانگر این امر است که واگوتومی به نحو موثری ترشح اسید معده را کاهش داده است. از طرفی بین هر غلظت در شرایط واگوتومی باحالت تحریک عصب واگ تفاوت معنی داری وجود دارد که نشان دهنده این امر است که تحریک عصب واگ به نحو موثری موجب افزایش ترشح اسید معده شده است.

از مجموع یافته های فوق می توان نتیجه گرفت که عصاره آبی کلپوره در غلظت های به کاررفته اثری بر ترشح اسید معده ندارد. لذا هدف از کاربرد این گیاه در اختلالات گوارشی ناشی از افزایش ترشح اسید معده باید مورد تجدید نظر قرار گیرد.

تقدیر وتشکر

بدین وسیله از همکاری اساتید و پرسنل بخش فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد تشکر و قدر دانی می شود.

****

References

1. Nabavizadeh F, Zahedi S. Effect of thyroid hormones on distention-induced gastric acid and pepsin secretions in rats. Ann Saudi Med 2003; 22(5-6): 308-11.

۲. زرگری ع .گیاهان دارویی، جلد چهارم، چاپ پنجم، تهران، انتشارات دانشگاه تهران ۱۳۷۲؛ ص:. ۱۳۰-۱.

3. Gharaibeh MN, Elayan HH, Salhab AS. Hypoglycemic effects of Teucrium polium. J Ethnopharmacol 1988; 24(1): 93-9.

4. Rasekh HR, Khoshnood Mansourkhani MJ, Kamalinejad M. Hypolipidemic effects of Teucrium polium in rats. Fitoterapia 2001; 72(8): 937-9.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.3.1.6]

5. Tariq M, Ageel AM, Al Yahya MA. Anti-inflammatory activity of Teucrium polium. Int J Tissue React 1989; 11(4): 185-8.

6. Couladis M, Tzakou O, Verykokidou E, Harvala C. Screening of some Greek aromatic plants for antioxidant activity. Phytother Res 2003; 17(2): 194-5.

7. Autore G, Capasso F, De Fusco R, Fasulo MP, Lembo M, Mascolo N, Menghini A. Antipyretic and antibacterial actions of Teucrium polium. Pharmacol Res Commun 1984; 16(1): 21-9.

8. Abdollahi M, Karimpour H, Monsef Esfehani HR. Antinociceptive effects of Teucrium polium L. total extract and essential oil in mouse writhing test. Pharmacol Res 2003; 48(1): 31-5.

۹. مصدق م و همکاران. بررسی فیتوشیمیایی دوگیاه کاسنی و کلپوره و سنجش اثرات ضد میکروبی و ضدقارچی آنها. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان ۱۳۸۱؛ ۷(۲۵): ۱۸-۲۳.

۱۰. غریب ناصری م ک، امیدی بیرگانی ف، وکیل زاده گ. اثر ضدانقباضی گیاه کلپوره بر رحم موش صحرایی باکره. مجله علوم پایه پزشکی ایران ۱۳۸٤؛ ۸(۱): ۳۱-۷.

11. Twaij HA, Al-Badr AA, Abule Khail A. Anti-ulcer activity of Teucrium polium. Int Crude Drug Res 1987; 25; 125-8.

* آدرس نویسنده مسئول: مشهد، دانشگاه علوم پزشکی، گروه فیزیولوژی، تلفن: ۰۵۱۱-۸٤٤۰۳۵۰.

saeed_niazmand@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.3.1.6]