

اثرات تعدیلی عصاره آبی گیاه قان تپ بر میزان اسید معدی و سایتوکاین های روده ای در مدل کولیت اولسراتیو

* زکیه کشاورزی (MD)، مسعود نظری (PhD)، زهره رزمی (MSc)، مرتضی پهنانم فر

- ۱- گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

۲- گروه رادیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

۳- گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۴- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

دریافت: ۹۶/۸/۴، اصلاح: ۹۶/۱۱/۳، پذیرش: ۹۶/۱۲/۴

خلاصه

سابقه و هدف: بیماری التهابی روده یک بیماری مزمن دستگاه گوارش با انتیلوژی نامشخص است که شامل بیماری کرون و کولیت اولسراتیو (UC) می‌باشد. از آنجاییکه تاکنون، درمان، موثری، یافته نشد لذا این مطالعه به منظور بررسی، اثرات عصاره آم، گاه قار، تیر بر تعیبات التهاب، کولون، د، موش، هاء، صحاراء، نر، انتحام گردید.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۰۰-۲۵۰ گرم در چهار گروه ۸ تایی سالم دست نخورده (Intact)، گروه کولیت اسراتیو، عصاره آبی قان تپر (بصورت خوارکی)، گروه درمان با سولفاسالازین استفاده شد. در هر گروه مقادیر اسیدی معده و تغییرات سایتوکاین های TNF- α و IL-10.

یافته ها: غلظت اسید معده در گروه القای کولیت $2/4533 \pm 0/95$ mEq/15 min بود که در گروه درمان با عصاره قان تپر میزان اسید معدی $1/17 \pm 0/44$ بود. کاهش یافت نیز در گروه کولیت و عصاره به ترتیب $16/0 \pm 3/5$ و $27/9 \pm 6/8$ بود که این تفاوت نیز معنی دار بود ($p=0/000$). همچنین تغییرات TNF- α نیز در گروه کولیت و عصاره به ترتیب $18/1 \pm 3/1$ و $18/8 \pm 3/8$ بود که این تفاوت نیز معنی دار بود ($p=0/000$).

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که عصاره آبی قان تپر در دوز ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم بر التهاب کلولون تاثیر گذار است و باعث بهبودی آن می شود.

مقدمة

دارد، لیکن تاکنون در مان موثری برای این شرایط یافت نشده است. از جمله درمانها شامل آمینو سالیسیلات ها، آنتی بیوتیک ها، کورتیکو استروپیید ها و ایمونو ساپریسیو ها هستند که مصرف آنها همراه با عوارض جانبی گسترده می باشد (۸-۱۶). بنابراین نیاز به درمان های جدیدتر، ارزانتر و موثرتر می باشد. از طرفی در مطالعات مشخص گردیده افرادی که بیماری التهابی روده دارند دارای زخم معده نشده اند که این مکانیسم از طریق اسید معده صورت گرفته است (۹). یک سایتوکاین Proinflammatory قوی است و به نظر می رسد که در پاتوژنز بیماری التهاب روده نقش کلیدی دارد. اهمیت TNF- α در پاتوژنز کولیت اولسراتیو توسط نتایج قابل توجهی از آزمایشات بالینی با هدف TNF- α مشخص شده است. از طرفی، سطح TNF- α با شدت بیماری همبستگی دارد (۱۰-۱۲). اثرات مفید کلینیکی متعاقب ایمونوتراپی که منجر به کاهش و یا مهار تولید TNF- α می شود در بیماری التهاب روده ای گزارش شده است (۱۳). در سال های اخیر استفاده از: گاماها، داروهای توجه خاص، داروهای خود مطمئن کرد هاست. یک از گاماها، که که

بیماری التهابی روده یک بیماری مزمن دستگاه گوارش است و شامل بیماری کرون و کولیت زخمی (Ulcerative colitis) می باشد که در ایران رایج تر است (۱۰)، کولیت زخمی با التهاب محدود به لایه مخاطی روده بزرگ مشخص می شود که تقریبا همیشه شامل رکtom می شود و ممکن است بخش های دیگری از روده بزرگ را نیز شامل شود. کولیت زخمی در بزرگسالان جوان بیشتر است؛ بنابراین بیماران برای مدت طولانی بیماری خود را اداره می کنند. مهم ترین علائم و نشانه ها عبارت از اسهال، خونریزی، در موارد شدید نیز علائمی مانند بی اشتیاهی، کاهش وزن، تب و تاکی کاردي می باشد (۴-۵). تشخیص بر اساس یافته های آندوسکوپی و تایید پاتولوژیک است(۵). اولسر معدی به علت عدم هماهنگی بین فاکتورهای دفاعی و تهاجمی معدی ایجاد می شود که از فاکتورهای تهاجمی معدی می توان اسید و پیپسین و از فاکتورهای دفاعی می توان به موكوس و بي كريبات اشاره کرد. شناخت الگوی عود بیماری نقش مهمی در تصمیم گیری در مورد درمان و سگی، بیماران دارد. ه جند داما: هاء، متعدد، باء، بيماء، التهاب، روده محمد

□ این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی، به شماره ۱۰۴۸ بیانگاه علوم خراسان شمالی، می باشد.

* مسئول مقاله: مرتضی بهنام فر

آدرس: بخش دانشگاه علوم بنیادی، خراسان شمالی، کمته تحقیقات دانشجویی، تلفن: ۰۴۳۶۲۲۴۴۰-۰۵۸

روش القای کولیت اولسراتیو حاد: ۲۴ ساعت قبل از آزمایش حیوان از خوردن غذا محروم شد ولی دسترسی آزاد به آب وجود داشت. هر حیوان را اتر بیهودش کرده، سپس در وضعیت خوابیده به پشت قرار داده، یک لوله پلی اتیلن با قطر خارجی ۲ میلیمتر را از طریق رکنوم تا ۸ سانتی متر وارد کرده ۲ میلیتر استیک اسید (۳) در صدحجمی / حجمی در سالین ۰/۹ درصد (ص) به داخل کولون وارد شد. استیک اسید به مدت ۳۰ ثانیه در کولون نگه داشته و سپس اجازه خروج داده شد. در انتهای آزمایش (روز هشتم بعد از القای کولیت اولسراتیو) حیوانات را کشته، سپس جهت مطالعات لازم، بیوسی های کولونی از ۱۰ سانتی متری قسمت انتهایی آن انجام شد.

روشن اندازه گیری سطح سایتوکاین: نمونه بافت روده بلافارسله پس از کشتن حیوان جمع آوری و تا زمان آنالیزهای بعدی به مدت یک هفته در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. پس از تهیه هموژن بافتی، سطح ایترنلوکین ۱۰ و فاکتور نکروز دهنده تومور توسعه کیت الایزا طبق دستورالعمل شرکت سازنده تعیین گردید. نتایج بر طبق منحنی استاندارد محاسبه شد.

روشن اندازه گیری سطح اسید معده: ۲۴ ساعت قبل از آزمایش حیوان از خوردن غذا محروم شد ولی دسترسی آزاد به آب وجود داشت. جهت حذف اثر ریتمهای شباهه روزی هر روز آزمایش راس ساعت ۸ صبح شروع شد. در این مطالعه از تیوبپنتال سدیم (۵۰ ip , mg/kg) جهت بیهودشی استفاده گردید. پس از بیهودش نمودن حیوان، جهت جلوگیری از ورود ترشحات دهان به درون نای، حیوان تراکٹوستومی و همزمان مری نیز مسدود گردید. سپس حیوان لاپاراتومی شده و با ایجاد گیری در دئونون، کانولی وارد دئونون گشته و تا معده پیش رانده شد. برای اندازه گیری غلظت اسید معده از روش Washout بمدت ۱۵ دقیقه استفاده شد. در روش Washout برای هر غلظت دو نمونه با فاصله ۱۵ دقیقه گرفته شد که تا حد ممکن از خطاهای آزمایش کاسته شود. تیتراسیون در آزمایشگاه و بلافارسله پس از نمونه گیری صورت گرفت و حدود ۰/۵ ml از ترشح معدی نمونه گیری صورت گرفت و حدود ۰/۱ نرمال تیتر گردید و با استفاده از فرمول N1V1=N2V2 نرمالیته ترشحات معده را بدست آورد، که بیانگر غلظت اسید معده بود. برای اندازه گیری مقدار کل اسید قابل تیتر از دستگاه تیتراتور نسبتی با دقت ۰/۲ ml استفاده شد.

نحوه تهیه و تجویز عصاره: مقدار مشخصی گیاه قان تپر خشک شده را در آسیاب برقی ریخته تا پودر شود. پودر خشک شده را به مدت حداقل ۴۸ ساعت خیسانده و در آب حل کرده و در طی این مدت چندین بار ظرف تکان داده شده تا آب به راحتی تبخیر شود. بعد آن را صاف کرده و عصاره آبی بدست آمده را در لوله آزمایش ریخته و در دستگاه سانتریفیو با سرعت ۴۵۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۸ دقیقه قرار داده تا ذرات معلق در آن جدا شود. بعد از سانتریفیو مایع بدست آمده را در آون و در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده تا شیره غلیظی باقی بماند. رسوبات خشک شده را وزن نموده تا وزن مقدار ماده حل نشده بدست آید و با کم نمودن از مقدار اولیه وزن ماده حل شده محاسبه گردید. سپس عصاره به صورت خوارکی به حیوان داده شد.

ملاحظات اخلاقی: به منظور رعایت ملاحظات اخلاقی و جلوگیری از جر حیوان، تمامی آنها قبل از انجام اعمال جراحی بیهودش شدند و سعی گردید در حین کار با حیوانات همه اصول مطرح شده راجع به اخلاق پژوهش های حیوانی رعایت شود. در انتهای کار جهت حفظ اصول اخلاقی کار، حیوان با تزریق داخل قلبی KCl کشته شد.

دارای اثرات بهیود دهنده گسترده ای است گیاه قان تپر می باشد. خانواده Geraniaceae در ایران پنج جنس دارد و یکی از آنها Biebersteinia است. Biebersteinia Biebersteinia بیانگر چهار گونه در جهان است. B. multifida DC. تنها گونه ای است که در ایران رشد می کند. این گیاه در بسیاری از استان های ایران یافت می شود و همچنین در قفقاز، آسیای مرکزی، افغانستان، عراق و لبنان یافت می شود (۱۴). B. multifida دارای گل های زرد و ریشه ضخیم و ارتفاع ۲۰-۷۰ سانتی متر است (۱۶). در طب سنتی، ریشه های B. multifida برای از بین بدن در عضلانی استفاده می شود که ممکن است به خواص ضد التهابی و ضد درد این گیاه نسبت داده شود (۱۷). همچنین برای درمان شب ادراری کودکان، B. multifida ترس و اضطراب استفاده می شود (۱۸). نشان داده شده است که در بازسازی شکستگی های استخوانی و کاهش شدت کاتاتونی پس از درمان با داروهای ضد اضطراب موثر است (۱۹). داده های قبلی نشان از حضور پلی ساکارید ها، پپتید، آکالاوئیدها مانند واسکینون و فلاونوئیدها از جمله ۷-گلوکوزید های آپی ژنین، لووتولین و تریستین و همچنین ۷-ریتینوزید آپی ژنین و لووتولین در این گیاه می باشد (۲۰ و ۲۱). گزارشات مربوط به فعالیت آپوپتوزی B. multifida وجود ندارد. لذا باتوجه به اینکه بیماری کولیت اولسراتیو در واقع یک اختلال پیچیده ای است که می تواند بسیاری از بافت ها از جمله معده را درگیر کند، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات عصاره آبی گیاه قان تپر بر میزان ترشح اسید معدی و تغییرات التهابی کولون به دنبال کولیت اولسراتیو القا شده با اسیداستیک در موش های صحرایی نر می باشد.

مواد و روش ها

حیوانات: در این مطالعه تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بجنورد با کد IR.NKUMSREC.1396.62 ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط دامی ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی گراد و دوره روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته در حیوانخانه دانشکده پژوهشی نگهداری می شدند و آب و غذا آزادانه در اختیار آنها قرار داشت. حیوانات به طور تصادفی به چهار گروه ۸ تایی، تقصیم شدند و در هر گروه مقادیر اسیدی معدی و تغییرات سایتوکاین بافت روده ای آنها در ۸ روز بعد از القای کولیت اولسراتیو مورد بررسی قرار گرفت. گروه های تحت مطالعه شامل موارد زیر بود.

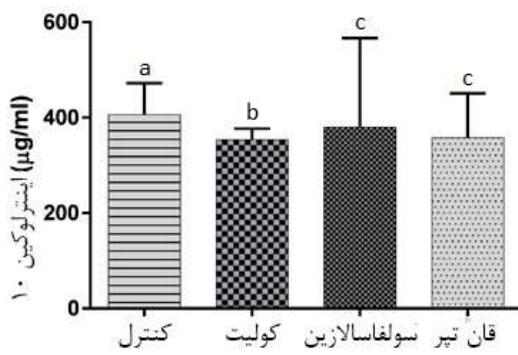
۱- سالم دست نخورده (Intact): موش های صحرایی نر سالم که شاخص های فوق در آنها بررسی گردید.

۲- گروه کولیت اولسراتیو در حیوانات با استفاده از استیک اسید القای گردید و سپس در هشت روز بعد از القای کولیت، شاخص ها در آنها ارزیابی گردید.

۳- گروه درمان با قان تپر، عصاره آبی قان تپر در دوز (۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) به مدت ۸ روز بعد از القای اولسر از طریق خوارکی به حیوان داده و شاخص ها در روز هشتم بعد از القای اولسر ارزیابی گردید.

۴- گروه درمان با سولفاسالازین به عنوان درمان استاندارد، سولفاسالازین را در دوز (۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) به حیوان داده به طوری که درمان را به صورت خوارکی دو روز قبل از القای کولیت شروع کرده و به مدت ۵ روز بعد از القای اولسر ادامه داده و شاخص ها بعد از درمان ارزیابی گردید.

تغییرات IL-10: غلظت IL-10 در گروه سالم $406 \pm 256 \mu\text{g}/\text{ml}$ میکروگرم بر میلی لیتر بود که بعد از القای کولیت این مقدار به $24533 \pm 95 \mu\text{g}/\text{ml}$ کاهش یافت ($P=0.071$) و این مقدار در گروه سولفاسالازین به $378 \pm 93 \mu\text{g}/\text{ml}$ ($P=0.001$) و در عصاره قان تپر به $353 \pm 66 \mu\text{g}/\text{ml}$ ($P=0.015$). افزایش یافت که البته این افزایش در هر دو گروه معنی دار بود.



نمودار ۳: مقایسه میانگین IL-10 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) در گروه های ۱- کنترل، ۲- گروه کولیت اولسراتیو القا شده با اسید استیک، ۳- گروه درمان با سولفاسالازین، ۴- گروه درمان با قان تپر به مدت ۸ روز.

ارزیابی مکروسکوپی کولیت: تجویز داخل رکتومی اسید استیک باعث ایجاد علائم مکروسکوپی کولیت شد که نمره مکروسکوپیک در گروه کنترل 1 ± 0.1 در گروه کولیت 3 ± 0.3 و در گروه سولفاسالازین و قان تپر به ترتیب 2 ± 0.2 و 2.25 ± 0.3 شد. مقادیر مکروسکوپی گروه قان تپر (25 میلی گرم بر کیلوگرم) و گروههای تحت درمان با سولفاسالازین، نسبت به گروه کولیت به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$).

بحث و نتیجه گیری

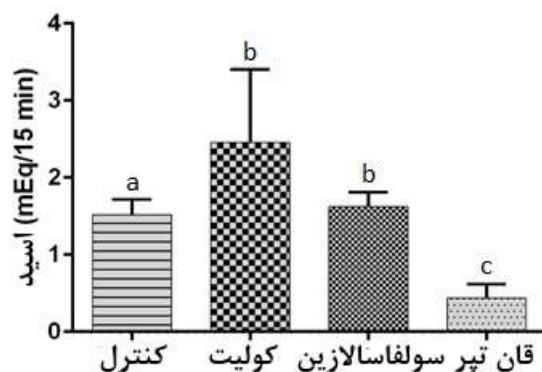
در این مطالعه نشان داده شد که تجویز خوراکی قان تپر باعث کاهش آسیب ایجاد شده به دنبال تزریق داخل کولونی اسید استیک گردید، و همچنین کاهش ترشح اسید را نیز دربرداشت. نتایج نشان داد عصاره آبی قان تپر در دوز (200 میلی گرم در کیلوگرم) بر التهاب کولون تاثیر گذارد است و باعث بهبودی آن می شود. در خصوص سایتوکائینها نیز این مطالعه مشخص کرد که عصاره قان تپر سایتوکائین IL-10 را که در القای کولیت کاهش یافته بود به طور غیرمعنی داری افزایش داد و همچنین سایتوکائین TNF- α را که در مراحل القای کولیت افزایش یافته بود را به صورت معنی داری کاهش داد. سیتوکین IL-10 یک سیتوکین مهار کننده ایمنی است که توسط انواع لکوپیت ها و سلول های غیر خونی ایجاد می شود و نقش مهمی در تنظیم هوموستازی مخاطی روده و پیشگیری از بیماری التهاب روده ای دارد. با این حال، طبق مقالات منتشر شده، میزان IL-10 در بافت روده متدهب افزایش می یابد (۲۲-۲۴).

TNF- α یک سایتوکائین Proinflammatory رسمی است و به نظر می رسد که در پاتوژن بیماری التهاب روده نقش کلیدی دارد. اهمیت TNF- α در پاتوژن کولیت اولسراتیو توسط نتایج قابل توجهی از آزمایشات بالینی با هدف

تجزیه و تحلیل داده ها: نتایج مربوط به مقادیر سایتوکائین ها به صورت میانگین \pm خطای معیار (Mean \pm SEM) معیار بیان شد و جهت مقایسه متغیر های کمی بین گروه مختلف از آزمون ANOVA(Tukey) استفاده شد و $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

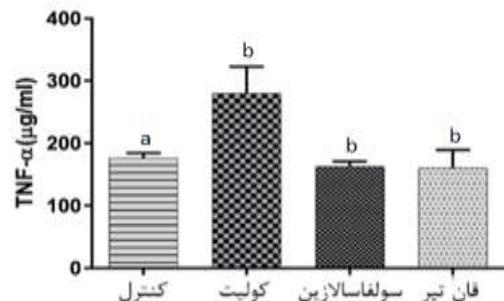
یافته ها

تغییرات غلظت اسید معده: غلظت اسید معده در گروه سالم $1/52 \pm 0.19$ بود که بعد از القای کولیت این مقدار به $2/4533 \pm 0.95$ افزایش یافت ($p=0.006$). درمان با عصاره قان تپر میزان اسید معدی را به 0.44 ± 0.17 کاهش داد ($p=0.000$). و همچنین این مقدار در سولفاسالازین به 0.262 ± 0.18 رسید که این نیز معنی دار بود ($p=0.013$).



نمودار ۱: مقایسه میانگین غلظت اسید معدی ($\text{mEq}/15 \text{ min}$) در گروه های ۱- کنترل، ۲- گروه کولیت اولسراتیو القا شده با اسید استیک، ۳- گروه درمان با سولفاسالازین، ۴- گروه درمان با قان تپر به مدت ۸ روز.

تغییرات TNF- α : مقدار TNF- α در گروه سالم $176 \pm 8 \mu\text{g}/\text{ml}$ میکروگرم بر میلی لیتر بود که بعد از القای کولیت این مقدار به $279 \pm 42 \mu\text{g}/\text{ml}$ افزایش یافت ($p=0.000$) و همچنین در گروه های سولفاسالازین و عصاره قان تپر نیز به ترتیب به مقدار های $162 \pm 90 \mu\text{g}/\text{ml}$ و $160 \pm 28 \mu\text{g}/\text{ml}$ کاهش یافت ($p=0.000$). که در تمامی این گروه ها این کاهش معنی دار بود که البته در گروه قان تپر بیشتر کاهش یافت.



نمودار ۲: مقایسه میانگین TNF- α ($\mu\text{g}/\text{ml}$) در گروه های ۱- کنترل، ۲- گروه کولیت اولسراتیو القا شده با اسید استیک، ۳- گروه درمان با سولفاسالازین، ۴- گروه درمان با قان تپر به مدت ۸ روز.

Roth و همکاران در مطالعه ای با عنوان اثرات زغال اخته در بیان سایتوکاین ها در روده بیماران مبتلا به کولیت اولسراطیو نشان دادند که بیماران مبتلا به درمان زغال اخته موفق به افزایش سطح سلول های اختصاصی سلول Th17-اختصاصی سیتوکین IL-22 و سلول های اینمنی تنظیم کننده سیتوکین IL-10 و همچنین کاهش سطح سرمی MCP-1 و TNF- α شدند. داده ها نشان داد درمان زغال اخته در بیماران مبتلا به *Ulcerative colitis* باعث اثرات ضد التهابی و متعادل ساختن سیتوکین های سلول T و مهار انتقال- γ IFN- γ شد(۲۶). Park و همکاران Pogostemon گزارش کردند که عصاره آبی از قطعات هوایی بتام کابین (PCW) التهاب کولون را متوقف کند. درمان با PCW موجب مهار مؤثر عامل غشایی تومور - α (TNF) شده، علاوه بر این، PCW باعث کاهش بیان IL-8 و MCP-1 و IL-6 ناشی از TNBS در کولون موش شد. در مجموع، نتایج این مطالعه نشان داد که PCW موجب سرکوب التهاب کولون شده است. که این نتایج از نظر مکانیسمی با مطالعه ما همخوانی دارد(۲۷). در خصوص اسید معده Niazmand و همکاران در مطالعه ای با عنوان اثر عصاره آبی گیاه کلپوره (Teucrium Polium L.) بر میزان ترشح اسید معده در شرایط پایه، واگوتومی و تحریک عصب واگ انجام داد که نتایج نشان داد غلظتهاهی مختلف عصاره آبی کلپوره در هر سه شرایط، تفاوت معنی داری در میزان ترشح اسید معده ایجاد نمی کند(۸) که برخلاف آن در مطالعه ما گیاه قان تبر بر روی ترشح اسید معده اثر معنی داری داشت. با توجه به اثرات متعدد این گیاه و همچنین اثر رفع مشکلات التهابی کولون و معده و کاهش اسید معده و همچنین اثرات آن بر روی سایتوکاین ها می توان از این گیاه در اختلالات گوارشی و کولیت اولسراطیو استفاده نمود. همچنین پیشنهاد می گردد خواص دیگر این گیاه مورد ارزیابی قرار گیرد تا بتوان در آینده از این گیاه به عنوان یک دارو جایگزین داروهای شیمیایی گردد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت دانشگاه علوم پزشکی بجهود به دلیل حمایت مالی از این تحقیق و از کلیه پرسنل بخش فیزیولوژی تقدیر و تشکر می گردد.

TNF- α مشخص شده است. از طرفی، سطح TNF- α با شدت بیماری همبستگی دارد(۱۰-۱۲). اثرات مفید کلینیکی متعاقب ایمونوتراپی که منجر به کاهش و یا مهار تولید TNF- α می شود در بیماری التهاب روده ای گزارش شده است(۱۳) که در بررسی حاضر قان تبر باعث کاهش قابل ملاحظه و معنی دار سطح بافی α در کولیت اولسراطیو ناشی از اسید استیک شده است.

مطالعه همسو به دنبال مصرف قان تبر در مدل کولیت مشاهده نشد. از طرفی در مطالعاتی در خصوص گیاه قان تبر Golshan و همکاران نشان دادند که قان تبر تأثیر سیتوکسیک بر سلول های بدخیم و سلول های HEK293 طبیعی را به صورت واپسخه به دوز داشته و به طور قابل توجهی باعث کاهش میزان زنده ماندن سلولی IC50 در بین ۹/۲ تا ۱۹۹/۲ میکروگرم در میلی لیتر شد(۱۵). Nabavi و همکاران نشان دادند که ریشه دارای محتوای فنول بالا ($1\pm 80\%$) میلی گرم در میلی لیتر(-) بود و بیشترین فعالیت را در فعالیت رادیکال DPPH (-/+ ۹/۹۵ ۲/۳ میکروگرم در میلی لیتر -) نشان داد. همچنین کاهش قدرت را بهتر از سایر قطعات نشان داد. در نتیجه این مطالعه نشان داد عصاره های قان تبر سطوح مختلف فعالیت های آنتی اکسیدانی و ضد قارچی را در تمام مدل های آزمایش شده نشان می دهد(۲۵).

Farsam و همکاران فعالیت مشابهی بین عصاره ریشه قان تبر (10 mg/kg) و اندوموتاسین(4 i.p. mg/kg) مشاهده شد. نتایج آزمایش فرمالین نشان داد که فعالیت ضد درد عصاره ریشه ($50\text{ میلی گرم بر کیلوگرم در روز}$) با مورفین(10 mg/kg) در مرحله اول آزمون فرمالین قابل مقایسه است(۱۷). Monsef-Esfahani و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که عصاره ریشه دارای اثرات ضد دیازپام، با طول مدت بیشتر بود. این اثرات پایدار عصاره خام برای مدت ۹۰ دقیقه پایدار بوده و بعد از تزریق $45\text{ میلی گرم بر کیلوگرم}$ حتی بیشتر شد و اثر دیازپام 90 دقیقه کاهش یافت. در نتیجه برای اولین بار، تقسیم بندی بیولوژیک عصاره ریشه ای *B. multifida* نشان دهنده اثرات پایدار ضد اضطراب است که منجر به جداسازی مشتقات سه کومارین با اثرات مهاری و ضد اضطراب قوی شناخته شده می شود. این داده ها به استفاده سنتی مبتنی بر شواهد از ریشه *B. multifida* برای اختلالات اضطراب کمک می کنند(۱۸). همچنین

The Modulatory Effects of Aqueous Extract of the Plant Biebersteinia Multifida on the Gastric Acid Level and Intestinal Cytokines in Ulcerative Colitis Model

Z. Keshavarzi (MD)¹, M. Nazari (PhD)², Z. Razmi (MSc)³, M. Behnamfar *⁴

1-Department of Physiology and Pharmacology, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, I.R.Iran

2-Department of Radiology, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, I.R.Iran

3-Department of Physiology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R.Iran

4-Student Research Committee, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 20(9); Sep 2018; PP: 7-13

Received: Oct 26, 2017; Revised: Jan 23, 2018; Accepted: Feb 23, 2018.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Inflammatory bowel disease is a chronic disease of the gastrointestinal tract with unknown etiology, which includes crohn's disease and ulcerative colitis (UC). Because an effective treatment has not been found so far, the present study was designed to investigate the effects of aqueous extracts of Biebersteinia multifida plant on inflammatory changes of the colon following acetic acid- induced ulcerative colitis in male rats.

METHODS: In this experimental study, 32 male wistar rats weighing 200-250 g were used in vivo. Animals were randomly assigned into four groups (each group consisting of 8 rats): 1- Intact; 2- Acetic acid-induced ulcerative colitis; 3- Biebersteinia multifida aqueous extract (200 mg /Kg); 4- Sulfasalazine treatment group (500 Mg /kg). In each group, the amount of gastric acid and intestinal TNF- α and IL-10 cytokines were measured at 8 days after of ulcerative colitis induction.

FINDINGS: The concentration of gastric acid in the induction group of colitis was $2/4533 \pm 0.95$ mEq / 15 min, which in the treatment group with Biebersteinia multifida extract decreased the level of gastric acid to 0.4400 ± 0.17 ($p = 0.000$). Also, TNF- α changes in the colitis and extract group were 279.68 ± 42.71 and 160.35 ± 28.79 , respectively, which was significant ($p=0.000$). The concentration of IL-10 in the colitis group was 349.75 ± 31.89 , which increased to 353.75 ± 66.46 after injection of the extract ($p=0.015$).

CONCLUSION: The results showed that aqueous extract of Biebersteinia multifida in a dose of 200 mg / kg has an effect on colon inflammation and it can be improved.

KEY WORDS: *Biebersteinia Multifida, Ulcerative Colitis, Cytokine, Rat.*

Please cite this article as follows:

Keshavarzi Z, Nazari M, Razmi Z, Behnamfar M. The Modulatory Effects of Aqueous Extract of the Plant Biebersteinia Multifida on the Gastric Acid Level and Intestinal Cytokines in Ulcerative Colitis Model. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(9):7-13.

*Corresponding Author: M. Behnamfar

Address: Student Research Committee, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, I.R.Iran

Tel: +98 58 32263604

E-mail: morteza.behnamfar@yahoo.com

References

- 1.Aghazadeh R, Zali MR, Bahari A, Amin K, Ghahghaei F, Firouzi F. Inflammatory bowel disease in Iran: a review of 457 cases. *J Gastroenterol Hepatol.* 2005;20(11):1691-5.
- 2.Mir-Madjlesi SH, Forouzandeh B, Ghadimi R. Ulcerative colitis in Iran: a review of 112 cases. *Am J Gastroenterol.* 1985;80(11):862-6.
- 3.Langholz E, Munkholm P, Davidsen M, Binder V. Course of ulcerative colitis: analysis of changes in disease activity over years. *Gastroenterology.* 1994;107(1):3-11.
- 4.Andres PG, Friedman LS. Epidemiology and the natural course of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 1999;28(2):255-81.
- 5.Hanauer SB. Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. *Inflamm Bowel Dis.* 2006; 12 (Suppl 1):S3-9.
- 6.Keshavarzi Z, Khaksari Hadad M, Zahedi MJ, Bahrami A. The effects of female sex steroids on gastric secretory responses of rat following traumatic brain injury. *Iran J Basic Med Sci.* 2011;14(3):231-9.
- 7.Konturek PC, Duda A, Brzozowski T, Konturek S, Kwiecien S, Drozdowicz D, et al. Activation of Genes for Superoxide Dismutase, Interleukin-1 β , Tumor Necrosis Factor-a, and Intercellular Adhesion Molecule-1 during Healing of Ischemia-Reperfusion-Induced Gastric Injury. *Scand J Gastroenterol.* 2000;35(5):452-63.
- 8.Sa'id N, Al-Reza Hazam, Zakia Kap. The effect of Teucrium Polium L aqueous extract on gastric acid secretion in baseline conditions, vagotomy and vagal nerve stimulation.
- 9.Greenstein AJ, Janowitz HD, Sachar DB. The extra-intestinal complications of Crohn's disease and ulcerative colitis: a study of 700 patients. *Medicine(Baltimore).* 1976;55(5):401-12.
- 10.Bamias G, Martin C, Marini M, Hoang S, Mishina M, Ross WG ,et al. Expression, localization, and functional activity of TL1A, a novel Th1-polarizing cytokine in inflammatory bowel disease. *J Immunol.* 2003;171(9):4868-74.
- 11.Reimund J-M, Wittersheim C, Dumont S, Muller C, Baumann R, Poindron P, et al. Mucosal inflammatory cytokine production by intestinal biopsies in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *J Clin Immunol.* 1996;16(3):144-50.
- 12.Sánchez-Muñoz F, Domínguez-López A, Yamamoto-Furusho JK. Role of cytokines in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2008;14(27):4280.
- 13.MacDonald TT, Biancheri P, Sarra M, Monteleone G. What's the next best cytokine target in IBD? I *Inflamm Bowel Dis.* 2012;18(11):2180-9.
- 14.Muellner A ,Vassiliades D, Renner S. Placing Biebersteiniaceae, a herbaceous clade of Sapindales, in a temporal and geographic context. *Plant System Evol.* 2007;266(3):233-52.
- 15.Golshan A, Hassanzadeh S, Mojdekanloo M, Tayarani-Najaran Z. Effects of Biebersteinia multifida hydro-ethanol extract on proliferation and apoptosis of human prostate cancer and human embryonic kidney cells. *Avicenna J Phytomed.* 2016;6(6):671.
- 16.Kubitzki K. Flowering Plants. Eudicots: Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae. Springer; 2010.
- 17.Farsam H, Amanlou M, Dehpour AR, Jahaniani F. Anti-inflammatory and analgesic activity of Biebersteinia multifida DC. root extract. *J Ethnopharmacol.* 2000;71(3):443-7.
- 18.Monsef-Esfahani HR, Amini M, Goodarzi N, Saiedmohammadi F, Hajiaghaei R, Faramarzi MA, et al. Coumarin compounds of Biebersteinia multifida roots show potential anxiolytic effects in mice. *DARU.* 2013;21(1):51.
- 19.Khakpour S, Akhlaghdoust M, Naimi S, Mirlohi S, Seyed-Forootan NS, Foroughi F. Effect of Biebersteinia multifida DC. root extract on cholesterol in mice. *Zahedan J Res Med Sci.* 2013;15(11):49-51.
- 20.Greenham J, Vassiliades DD, Harborne JB, Williams CA, Eagles J, Grayer RJ, et al. A distinctive flavonoid chemistry for the anomalous genus Biebersteinia. *Phytochemistry.* 2001;56(1):87-91.

- 21.Omurkamzinova V, Maurel' N, Bikbulatova T. Flavonoids of *Biebersteinia multifida*. *Chem Nat Compd.* 1991;27(5):636-7.
- 22.Shouval DS, Biswas A, Goettel JA, McCann K, Conaway E, Redhu NS, et al. Interleukin-10 receptor signaling in innate immune cells regulates mucosal immune tolerance and anti-inflammatory macrophage function. *Immunity.* 2014;40(5):706-19.
- 23.Marlow GJ, van Gent D, Ferguson LR. Why interleukin-10 supplementation does not work in Crohn's disease patients. *World J Gastroenterol.* 2013;19(25):3931-41.
- 24.Lindsay J, Hodgson H. The immunoregulatory cytokine interleukin-10—a therapy for Crohn's disease? *Aliment Pharmacol Ther.* 2001;15(11):1709-16.
- 25.Nabavi S, Ebrahimzadeh M, Nabavi S, Eslami B, Dehpour A. Antihemolytic and antioxidant activities of *Biebersteinia multifida*. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2010;14(10):823-30.
- 26.Roth S, Spalinger MR, Gottier C, Biedermann L, Zeitz J, Lang S, et al. Bilberry-derived anthocyanins modulate cytokine expression in the intestine of patients with ulcerative colitis. *PLoS One.* 2016; 11(5):e0154817.
- 27.Park SY, Neupane GP, Lee SO, Lee JS, Kim MY, Kim SY, et al. Protective effects of *Pogostemon cablin* Bentham water extract on inflammatory cytokine expression in TNBS-induced colitis in rats. *Arch Pharm Res.* 2014; 37(2): 253-62.