

بررسی اثر عصاره متانولی گیاه گلپر بر روی میزان ترشح اسید و پپسین معده در شرایط پایه و تحریک شده توسط پنتاگاسترین در موش صحرایی

مهرداد شهرانی*، دکتر فاطمه نبوی زاده**، دکتر هدایت الله شیرزاده***، دکتر حسین یوسفی†، محمد تقی مرادی††، جعفر مقدسی†††

*کارشناس ارشد فیزیولوژی- کارشناس پژوهشی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد (مؤلف مسئول)،

دانشیار گروه فیزیولوژی- دانشگاه علوم پزشکی کرمان، *استادیار گروه ایمنولوژی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، †دانشیار

گروه انگل شناسی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ††کارشناس ارشد حشره شناسی پزشکی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد،

†††عضو هیئت علمی گروه پرستاری- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد.

تاریخ دریافت: ۸۴/۴/۶ - تاریخ تأییدیه: ۸۴/۷/۵

چکیده:

زمینه و هدف: (*Heracleum persicum*)

روش بررسی:

() mg/kg

/ mg/kg

«

»

Wash out

Anson

یافته ها:

(p< /)

(p< /)

«

»

(p< /)

(p< /)

نتیجه گیری:

مقدمه:

در این گیاه ترانس-آنتول (۸/۸۲٪) می باشد (۴،۳). ریشه این گیاه حاوی فورانو کومارین فراوان می باشد. فورانو کومارین ماده ای است که در درمان آفتاب سوختگی بسیار مفید می باشد (۵). همچنین Sayyah و همکاران بیان می کنند که دانه گیاه گلپر دارای اثر ضد تشنجی می باشد (۶). هورمون گاسترین از غدد اکسینتیک معده ترشح شده و میزان ترشح اسید و پپسین را می افزاید. فرم صناعی هورمون گاسترین ماده پنتاگاسترین می باشد (۱) که جهت کمک به فهم مکانیسم سلولی عصاره گلپر در این مطالعه از این ماده به عنوان محرک ترشح اسید و پپسین استفاده شد. این مطالعه به نحوی طراحی شد تا در خصوص اثرات و مکانیسم عمل عصاره متانولی این گیاه بر روی ترشح اسید و پپسین معده تحقیق مستقلی را ارائه و بر پایه مشاهدات آزمایشگاهی تأثیر این گیاه بر روی میزان ترشح اسید و پپسین معده مشخص گردد.

روش بررسی:

این مطالعه، مطالعه ای تجربی است که بر روی ۲۴ سر موش صحرایی از نژاد ویستار از هر دو جنس نر و ماده به نسبت های مساوی و با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام شد. موشها در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی در محل اتاق حیوانات دانشکده پزشکی نگهداری می شدند. حیوانات به دو گروه ۱۲ تایی به نسبت مساوی از هر دو جنس تقسیم شدند. هریک از حیوانات تا دو روز قبل از انجام آزمایش بطور آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. ۲۴ ساعت قبل از آزمایش حیوان در قفس مخصوصی از خوردن غذا محروم می شد ولی دسترسی آزاد به آب وجود داشت (۷). قفس طوری طراحی شده بود که از مدفوع خواری حیوان در حین گرسنگی جلوگیری شود. جهت حذف اثر ریتم های شبانه روزی هر روز آزمایش رأس ساعت ۸ صبح شروع می شد. بدنبال

ناراحتی های گوارشی هم اکنون یکی از مسائلی است که در بین جامعه انسانی نمود چشمگیری داشته و اغلب این ناراحتی ها به صورت زخم معده و اثنی عشر، ورم معده، سوء هضم و غیره بوده و از طرفی تمامی این ناراحتی ها به درجاتی ناشی از اختلال در ترشح اسید و یا پپسین معده می باشد (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 و به عنوان مقوی معده مورد استفاده قرار می گیرد گیاه گلپر است که امروزه به صورت گسترده ای در تهیه ترشیجات به عنوان یک گیاه معطر مورد استفاده قرار می گیرد (۱). گلپر گیاهی کوهستانی دوساله، سه ساله و یا پایا است که ارتفاع آن به ۵۰ تا ۱۲۰ سانتی متر می رسد. این گیاه دارای ساقه ای ضخیم، منشعب و دارای شاخه هایی منتهی به گل آذین های چتری وسیع و گسترده است. برگها برنگ سبز تیره، سطح زیرین فاقد کرک ولی در سطح زیرین پوشیده از کرک می باشد. گل ها به رنگ سفید، میوه در سطح پشتی فشرده، مسطح و دارای پره هایی پهن و نازک است. محل رویش این گیاه ارتفاعات البرز در دره کرج، گچسر، ارتفاعات شمیران، اوشان، طالقان، دماوند پایین ارتفاعات دنا، آذربایجان، همدان و خوانسار بوده و قسمت مورد استفاده که همان برگ و دانه های گلپر می باشد، در تابستان موقعی که گیاه رسیده است برداشت می شود. در کتب مربوط به داروهای گیاهی تنها به ذکر اثر مقوی معده این گیاه اشاره ای بیش نشده است (۲). بیشترین ماده موجود

بیهوش نمودن حیوان با تیوپنتال سدیم با دوز 50 mg/kg به صورت داخل صفاقی (۸)، جهت جلوگیری از ورود ترشحات دهان بدون نای، حیوان تراکتوستومی می گردید (۹) در حین انجام تراکتوستومی همزمان مری و تراشه بر روی لوله تراکتوستومی وارد شده به درون تراشه، که از جنس پلی اتیلین با قطر حدود $2/5$ میلی متر بود بسته می شد که مری در این ناحیه مسدود می گردید، سپس حیوان لاپاراتومی شده و در ناحیه دئودنوم کانولایی وارد دئودنوم شده و تا معده پیش رانده می شد. عصاره خشک شده گیاه گلپر با استفاده از حلال سرم فیزیولوژی $0/9$ درصد به صورت محلول درآمده و با دوز $12/5$ میلی گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن از طریق لوله گاسترو دئودنوستوم وارد معده حیوان شده و به روش Wash out شیره معده استخراج می گردید (۹). جهت حذف اثر استرس ناشی از عمل جراحی، حیوان به مدت نیم ساعت پس از پایان عمل جراحی به حال خود گذاشته شده و کلیه ترشحات معدی در طول این نیم ساعت به بیرون ریخته شده و برای انجام آزمایش استفاده نمی شد (۱). اولین نمونه ای که جهت آزمایش استفاده می شد 15 دقیقه بعد از مرحله رفع استرس لاولژ (بیرون کشیدن ترشحات معده) شده و پایه اول نام دارد. پایه دوم 30 دقیقه، تحریک با پنتاگاسترین 45 دقیقه و برگشت به پایه 60 دقیقه بعد از پایان مرحله رفع استرس استخراج و مورد آزمایش قرار می گرفت (۱۰). برای تحریک ترشح شیره معده از پنتاگاسترین با دوز $25 \text{ } \mu\text{g/kg}$ به صورت داخل صفاقی استفاده شد و چون حیوان در ابتدای آزمایش لاپاراتومی می گردید و شکم باز می شد جهت تحریک با پنتاگاسترین این ماده مستقیماً به درون شکم حیوان یعنی درون پریتون ریخته می شد (۱۱).

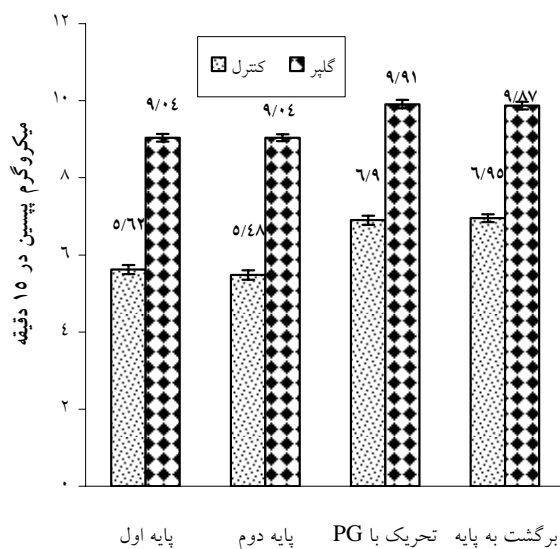
برای عصاره گیری، گیاه گلپر موجود در بازار (مخلوط دانه و برگ) تهیه گردید و چون در این مطالعه عصاره تام گیاه مد نظر بود از متانول 80 درصد به عنوان حلال و با استفاده از روش پرکولاسیون عصاره

استخراج شد (۲). عصاره بدست آمده قبل از آزمایش کاملاً خشک شد و هیچ الکی در آن باقی نمی ماند. جهت اندازه گیری میزان ترشح اسید معده دستگاه اسید تیترا تور مورد استفاده قرار گرفت. جهت محاسبه میزان ترشح اسید معده از فرمول $N_1.V_1=N_2.V_2$ استفاده شد (۱). N_1 نرمالیت اسید معده و مجهول در فرمول، V_1 حجم ترشحات معده، N_2 نرمالیت سود (NaOH) مصرف شده، V_2 حجم سود مصرف شد. با توجه به معلوم بودن V_1 و V_2 و N_2 میزان N_1 محاسبه شده و بر حسب میکرو مول اسید در 15 دقیقه گزارش شد.

از روش Anson جهت اندازه گیری میزان پپسین ترشح شده استفاده شد (۷). در این خصوص از محلول $0/3$ نرمال تری کلرو استیک اسید (TCA) و هموگلوبین 25 گرم در لیتر، پپسین استاندارد 30 میلی گرم در لیتر و اسید کلریدریک $0/01$ نرمال و $0/3$ نرمال استفاده شد در ابتدا منحنی پپسین استاندارد رسم گردید و میزان ترشح پپسین معده بر حسب میکروگرم پپسین در 15 دقیقه بر اساس این منحنی گزارش شد.

برای اندازه گیری پپسین در نمونه ها، $0/1$ میلی لیتر از شیر معده بدست آمده را با $9/9$ میلی لیتر سرم فیزیولوژی $0/9$ درصد رقیق نموده و از 10 میلی لیتر محلول بدست آمده در هر بار $0/5$ میلی لیتر به جای پپسین استاندارد در رسم منحنی استاندارد پپسین، به لوله آزمایش مورد افزوده می شد. یعنی ابتدا 2 میلی لیتر هموگلوبین $1000 \text{ g}/25$ سپس $0/5$ میلی لیتر اسید کلریدریک $0/3$ نرمال و بدنال آن $0/5$ میلی لیتر از شیر معده رقیق شده به طریق فوق و در نهایت پس از گذشت 10 دقیقه 5 میلی لیتر محلول TCA $0/3$ نرمال جهت ختم واکنش به لوله آزمایش افزوده می شد پس از صاف کردن محتویات آن، میزان جذب اشعه UV با طول موج 280 نانومتر که شاخص محصولات واکنش پپسین و هموگلوبین می باشد توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر

بطور معنی داری ($p < 0/001$) افزایش داد (نمودارهای شماره ۱ و ۲). ولی این افزایش ارتباط خاصی با جنس موش های مورد آزمایش نداشت و تفاوتی بین موش های نر و ماده مشاهده نشد (نمودارهای شماره ۳ و ۴). پنتاگاسترین در گروه کنترل سبب افزایش قابل ملاحظه و معنی داری در میزان ترشح اسید و پپسین معده گردید ($p < 0/001$) (نمودارهای شماره ۱ و ۲). در حالی که در گروه گلپر تنها توانست میزان ترشح پپسین را افزایش دهد ($p < 0/001$). ولی میزان اسید را افزایش نداد. در این گروه میزان اسید در تمامی مراحل بعد از پایه اول شامل پایه دوم، تحریک با پنتاگاسترین و برگشت به پایه از



نمودار شماره ۲: مقایسه مقدار ترشح پپسین در شرایط پایه و تحریک شده توسط پنتاگاسترین در موش های گروه کنترل و گلپر

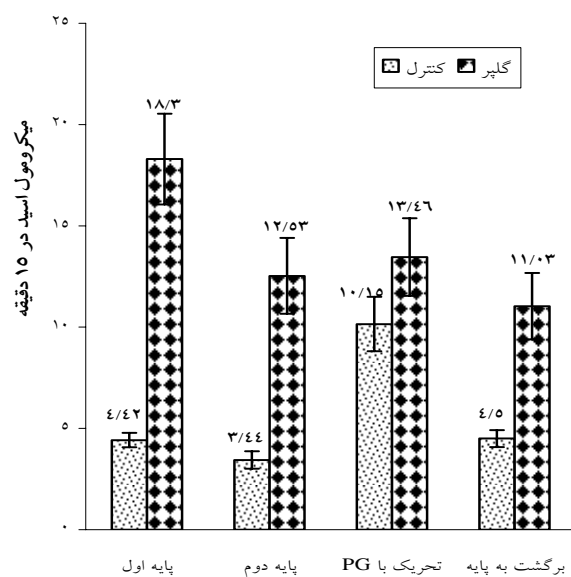
پایه اول: ۱۵ دقیقه بعد از رفع استرس، پایه دوم: ۳۰ دقیقه بعد از رفع استرس، PG: پنتاگاسترین (۴۵ دقیقه بعد از رفع استرس)، برگشت به پایه: ۳۰ دقیقه پس از تحریک با پنتاگاسترین. میزان ترشح پپسین معده در کلیه مراحل در گروه گلپر نسبت به گروه کنترل از افزایش معنی داری برخوردار است ($p < 0/001$). پنتاگاسترین در دو گروه کنترل و گلپر سبب افزایش معنی داری در میزان ترشح پپسین این گروهها گردید ($p < 0/001$).

UV (biochrom ۴۰۵۰ Ultra spect ۲ i kb) اندازه گیری شد و بر اساس منحنی استاندارد رسم شده میزان پپسین در هر پایه مشخص گردید (۷).

نتایج حاصله با استفاده از آزمون های آماری t مستقل و وابسته تجزیه و تحلیل شده و میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

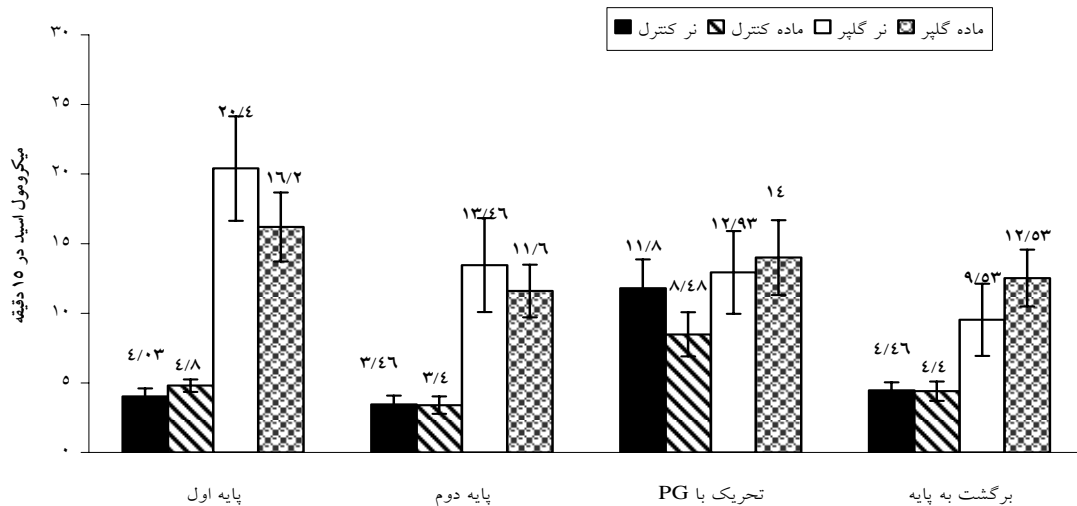
یافته ها:

در این پژوهش نشان داده شد که عصاره گیاه گلپر میزان ترشح اسید و پپسین معده را در همه موارد «پایه اول، پایه دوم، تحریک با پنتاگاسترین و برگشت به پایه» در این گروه نسبت به گروه کنترل



نمودار شماره ۱: مقایسه مقدار ترشح اسید معده در شرایط پایه و تحریک شده توسط پنتاگاسترین در موشهای گروه کنترل و گلپر.

پایه اول: ۱۵ دقیقه بعد از رفع استرس، پایه دوم: ۳۰ دقیقه بعد از رفع استرس، تحریک با PG: پنتاگاسترین (۴۵ دقیقه بعد از استرس)، برگشت به پایه: ۳۰ دقیقه بعد از تحریک با پنتاگاسترین. پنتاگاسترین در گروه کنترل سبب افزایش میزان ترشح اسید معده گردید ($p < 0/001$). ولی در گروه گلپر این افزایش معنی دار نبود.



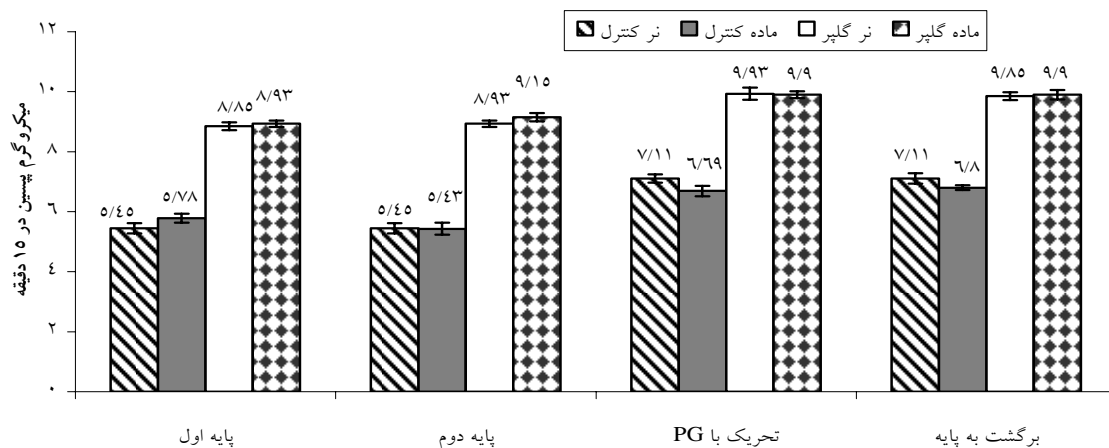
نمودار شماره ۳: مقایسه مقدار ترشح اسید معده در شرایط پایه و تحریک توسط پنتاگاسترین در موشهای نر و ماده گروههای کنترل و گلپر

پایه اول: ۱۵ دقیقه بعد از رفع استرس، پایه دوم: ۳۰ دقیقه بعد از رفع استرس، PG پنتاگاسترین (۴۵ دقیقه بعد از رفع استرس) برگشت به پایه، ۳۰ دقیقه پس از تحریک با پنتاگاسترین). تفاوت معنی داری در ترشح اسید معده در دو جنس نر و ماده در گروههای کنترل و گلپر وجود ندارد.

بحث:

مطالعات انجام شده بر روی گیاه گلپر نشان می دهد که بیشترین ماده موجود در این گیاه ترانس آنول

کاهش معنی داری ($p < 0/05$) نسبت به پایه اول برخوردار شد (نمودار شماره ۱ و ۲).



نمودار شماره ۴: مقایسه مقدار ترشح پپسین معده در شرایط پایه و تحریک شده توسط پنتاگاسترین در موشهای نر و ماده گروههای کنترل و گلپر

پایه اول: ۱۵ دقیقه بعد از رفع استرس، پایه دوم: ۳۰ دقیقه بعد از رفع استرس، تحریک با PG، برگشت به پایه، تفاوت معنی داری در ترشح پپسین معده در دو جنس نر و ماده در گروههای کنترل و گلپر وجود ندارد.

صورت گرفت در حالی که میزان ترشح پپسین در این گروه مجدداً بدنبال تحریک توسط پنتاگاسترین بطور معنی داری افزایش یافت. با توجه به نتایج حاصل، از آنجا که در گروه گلپر بر خلاف انتظار پنتاگاسترین نتوانست سبب افزایش میزان ترشح اسید معده گردد، بنظر می رسد که عصاره متانولی گیاه گلپر از طریق گیرنده های گاسترینی عمل نموده و بجای پنتاگاسترین نشسته و توانسته میزان ترشح اسید معده را بیفزاید.

پنتاگاسترین در گروه گلپر توانست میزان ترشح پپسین معده را بطور معنی داری افزایش دهد با توجه به این مطلب شاید بتوان چنین عنوان نمود که عصاره گیاه گلپر از طریق بجز اثر بر گیرنده های گاسترینی معده عمل نموده و در زمان دادن پنتاگاسترین این گیرنده ها آزاد بوده و پنتاگاسترین بر روی این دسته از گیرنده های درون معده نشسته و اعمال اثر نموده است. پیشنهاد این است که شاید این عصاره از طریق افزایش میزان رهایش هیستامین و استیل کولین و یا طرق دیگری بجز تحریک گیرنده های گاسترینی عمل می نماید و این موضوع نیز با استفاده همزمان از آنتاگونیست های گیرنده های هیستامینی و نیز آنتاگونیست های کلینژیک به همراه این عصاره قابل اثبات است که در برنامه طرح های آینده محقق مد نظر می باشد.

نتیجه گیری:

استفاده از گیاه گلپر در ترشیجات سبب افزایش ترشح اسید و پپسین معده در مصرف کنندگان این دسته از مواد غذایی می گردد. همچنین مواد موجود در عصاره متانولی این گیاه میزان ترشح اسید معده را از طریق اشغال گیرنده های گاسترینی افزایش می دهند ولی افزایش پپسین معده از طرق دیگری غیر از اشغال این گیرنده ها اتفاق می افتد.

می باشد (۴،۳). از آنجایی که عصاره این گیاه توانست سبب تغییراتی در میزان ترشح اسید و پپسین معده گردد، شاید بتوان اثرات این گیاه در این تحقیق را به بیشترین ماده تشکیل دهنده عصاره آن یعنی ترانس آنتول نسبت داد که البته لازم است جهت اثبات دقیق این موضوع تحقیقی به همین روش ولی با استفاده از ترانس آنتول خالص انجام داد و نتایج بدست آمده را مقایسه نمود.

با توجه به نمودار های شماره ۳ و ۴ ملاحظه می شود که اختلاف معنی داری در میزان ترشح اسید و پپسین معده در موش های صحرائی نر و ماده وجود ندارد. علت تشابه مقدار ترشح اسید و پپسین پایه و تحریک شده در دو جنس در مطالعه حاضر را می توان به افزایش سلول های انتروکرومافین و افزایش هیستامین در جنس ماده و در مقابل کاهش توده سلول های پاریتال در جنس ماده نسبت به جنس نر نسبت داد. مطالعات قبلی نیز مؤید این مطلب می باشند (۱۱). گرچه افزایش سلول های انتروکرومافین و افزایش هیستامین در جنس ماده می تواند ترشح اسید و پپسین را زیاد کند از طرفی کاهش سلول های پاریتال در جنس ماده نسبت به جنس نر نیز می تواند ترشح اسید و پپسین را کمتر کند و احتمالاً این دو عامل باعث تشابه مقادیر ترشح اسید و پپسین در دو جنس شده است. این نتیجه با نتایج مطالعات انجام شده در این زمینه همخوانی دارد (۱).

در این پژوهش مشاهده شد که در گروه موش هایی که به آنها عصاره متانولی گیاه گلپر داده شده بود میزان ترشح اسید و پپسین معده نسبت به گروه کنترل افزایش بارزی را نشان داد ولی در این گروه بدنبال تحریک ترشح اسید و پپسین توسط پنتاگاسترین، میزان ترشح اسید نه تنها افزایش پیدا نکرد بلکه کاهش قابل ملاحظه ای در میزان ترشح آن نسبت به پایه اول

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از تمامی کسانی که با ما همکاری داشتند صمیمانه قدردانی می‌گردد.

منابع:

۱. Nabavizadeh F, Zahedi S. Effect of thyroid hormones on distention-induced gastric acid and pepsin secretions in rats. *Annals Saudi Medicine*. ۲۰۰۳; ۲۲: ۵-۶.
۲. زرگری علی. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۵، ۲۰-۶۱۹.
۳. Sefidkon F, Dabiri M, Mohammad N. Analysis of the oil of *Heracleum persicum L.* (leaves and flowers). *J Essential Oil Research*. ۲۰۰۲; ۱۴(۴): ۲۹۵-۲.
۴. Tkachenko KG. Constituents of essential oils from fruit of some *Heracleum L Species*. *J Essential Oil Research*. ۱۹۹۳; ۵(۶): ۶۸۷-۹.
۵. Mojab F, Nickavar B. Composition of the essential oil of the root of *Heracleum persicum* from Iran. *Iranian J Pharm Res*. ۲۰۰۳; ۲(۴): ۲۴۵-۷.
۶. Sayyah M, Moaied S, Kamalinejad M. Anticonvulsant activity of *Heracleum persicum* seed. *J Ethnopharmacol*. ۲۰۰۵ Apr; ۸-۹۸(۱-۲): ۲۰۹-۱۱.
۷. Berstad A. A modified hemoglobin substrate method for the estimation of pepsin in gastric juice. *Scand J Gastroenterol*. ۱۹۷۰; ۵(۵): ۳۴۳-۸.
۸. Debas HT, Carvajal SH. Vagal regulation of acid secretion and gastrin release. *Yale J Biol Med*. ۱۹۹۴ May-Aug; ۶۷(۳-۴): ۱۴۵-۵۱.
۹. Holm L, Jagare A. Role of prostaglandins in regulation of gastric mucosal blood flow and acid secretion. *Am J Physiol*. ۱۹۹۲ Oct; ۲۶۳(۴ Pt ۱): ۴۴۶-۵۱.
۱۰. Lynn RB, Kreider MS, Miselis RR. Thyrotropin-releasing hormone immunoreactive projections to the dorsal motor nucleus and nucleus of the solitary tract of the rat. *J Comp Neurol*. ۱۹۹۱; ۳۱۱: ۲۷۷-۸۸.
۱۱. Kato S, Abe Y, Konishi M, Kuroda N, Takeuchi K. Mechanism of gastric hyperemic response during acid secretion in rats: relation to nitric oxide, prostaglandins and sensory neurons. *J Clin Gastroenterol*. ۱۹۹۷; ۲۵(۱): S۴۸-۵۵.