

اثرات درمانی عصاره آبی دانه گیاه زنیان (*Carum copticum*) بر زخم معده ناشی از ایبوپروفن در موش صحرایی

غلامرضا کمیلی^۱، میثم سرگز،^۲ سیاوش سلوکی،^۱ شهاب الدین مالکی^۲

۱. دانشیار فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان

۲. دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان

چکیده

زمینه و هدف: داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی امروزه مصرف بالایی دارند و یکی از عوارض مصرف آن‌ها ایجاد زخم معده می‌باشد. در این مطالعه سعی شده است تا اثر عصاره آبی گیاه زنیان در درمان زخم معده ناشی از ایبوپروفن در مدل حیوانی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش کار: این مطالعه تجربی بر روی ۳۰ سر موش صحرایی بالغ انجام شده است. زخم معده با ایبوپروفن ایجاد شد. حیوانات به صورت تصادفی به پنج گروه تقسیم شدند. سپس حیوانات تحت درمان با امپرازول یا عصاره گیاه زنیان با دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ mg/kg، دو نوبت در روز به مدت دو هفته قرار گرفتند. در پایان، تعداد و وسعت زخم معده حیوانات مورد بررسی قرار گرفت. جهت بررسی عوارض عصاره بر کبد، مقدار آنزیم‌های کبدی (Aspartate transferase (AST) و Alanine transferase (ALT) در سرم حیوانات اندازه گیری شد.

یافته‌ها: عصاره آبی گیاه زنیان به صورت معنی داری نسبت به گروه کنترل موجب بهبودی زخم معده گردید ($p < 0/05$). این اثر عصاره وابسته به دوز بود. میانگین تعداد و مساحت زخم‌های معده در گروه‌های دریافت کننده عصاره بطور معنی داری کمتر از گروه کنترل منفی بود ($p < 0/01$). مقدار آنزیم‌های کبدی نیز در گروه‌های دریافت کننده عصاره با دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ mg/kg به صورت معنی داری ($p < 0/05$) افزایش یافته بود.

نتیجه گیری: عصاره دانه گیاه زنیان در درمان زخم معده موثر است و اثر آن با امپرازول قابل مقایسه است. لذا، شناخت وسعت و مکانیسم این اثر نیازمند کارهای بعدی می‌باشد. [م ت ع پ ز، () -]

کلیدواژه‌ها: عصاره دانه زنیان، زخم معده، موش صحرایی، ایبوپروفن

مقدمه

زخم‌های دستگاه گوارش و خصوصا معده می‌تواند ناشی از افزایش ترشح اسید به دلایل مختلف مانند مصرف داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی، مصرف الکل، گرسنگی‌های طولانی، عادات بد غذایی و استرس‌های شدید و مداوم باشد.^۱ به گزارش انستیتو جهانی بهداشت از هر ۱۰ نفر آمریکایی یک نفر در طول زندگی خود مبتلا به بیماری زخم معده خواهد شد و سالانه ۱۵۰۰۰ مورد فوت به واسطه پیامدهای این بیماری روی می‌دهد. اثرات اقتصادی این بیماری بسیار قابل توجه بوده و در ایالات متحده سالانه بیش از ۱۰ میلیارد دلار است.^{۲،۳}

داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی از پر مصرف‌ترین داروها در تمام دنیا بوده و مطالعات بسیاری نشان می‌دهد که بین مصرف آن‌ها و بروز زخم معده در جوامع غربی ارتباط وجود دارد.^۴ خونریزی و ضایعات مخاطی معده شایع‌ترین عارضه در طول مصرف این داروها بوده و یکی از مشکلات اصلی علم پزشکی است، به نحوی که داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی بعد از هلیکوباکتریلوری به عنوان دومین علت زخم پپتیک شناخته شده‌اند.^۵ درمان زخم معده با داروهای شیمیایی نظیر امپرازول، مترونیدازول و رانیتیدین پر هزینه و همراه با عوارض جانبی و بروز مشکلاتی نظیر پدیده خود ایمنی است و احتمال بازگشت ضایعات پس از قطع درمان با آن‌ها وجود دارد به همین دلیل تلاش گسترده‌ای برای یافتن ترکیبات موثر طبیعی و گیاهی در درمان زخم معده وجود دارد.^۶

روش کار

این مطالعه به صورت تجربی و بر روی موش‌های صحرایی انجام شد. ابتدا ۳۰ سر موش صحرایی ماده بالغ با وزن 150 ± 30 گرم از نژاد ویستار انتخاب و آن‌ها را به مدت ۵ روز در قفس‌های انفرادی قرار داده تا با شرایط جدید

سطح سینی تشریح به صورت ثابت قرار داده شد و به کمک ذره بین از نظر ماکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفت. سپس توسط دوربین با پایه ثابت از معده عکس گرفته شده و عکس‌ها به کامپیوتر منتقل و از نظر تعداد و مساحت زخم‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. زخم‌های با ابعاد یک میلی‌متر و بزرگ‌تر در هر معده شناسایی و شمارش گردیده و سطحی از معده که زخم داشت، محاسبه شد.^{۱۱} اندازه‌گیری تعداد و مساحت زخم‌ها به صورت کور (Blind) انجام شده است. برای هر گروه از حیوانات با استفاده از فرمول زیر شاخص درمانی (Therapeutic index) محاسبه شد.

تعداد زخم گروه شاهد/تعداد زخم گروه مداخله - تعداد زخم گروه شاهد = TI
 داده‌ها پس از ورود به کامپیوتر با نرم افزار SPSS-17 با استفاده از آزمون‌های آماری متغیرهای کمی (آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و سپس تست توکی) آنالیز و ارزیابی شد و $p < 0.05$ به عنوان اختلاف آماری معنی‌داری در نظر گرفته شد. این مطالعه در سال ۱۳۸۸ و در آزمایشگاه گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی زاهدان انجام شده و به تایید کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان رسیده است.

یافته‌ها

مقدار ED₅₀ برای عصاره آبی دانه زینان در درمان زخم معده ناشی از ایوپروفن در موش صحرایی برابر ۴۸/۲ mg/kg به دست آمد. در پایان دوره درمان، تعداد و درصد حیواناتی که در هر گروه دارای زخم بودند، تعیین گردید. در گروه‌های کنترل منفی و مثبت و دریافت کننده عصاره با دوز ۱۲۵mg/kg تمامی حیوانات زخم داشتند، در حالی که در گروه‌های دریافت کننده عصاره با دوز ۲۵۰ mg/kg و ۵۰۰ به ترتیب ۵۰ و ۳۳ درصد حیوانات دارای زخم معده بودند.

میانگین تعداد و مساحت زخم‌ها نیز در گروه‌های مختلف تعیین و نتایج آن در جدول ۱ آمده است. هم‌چنین شاخص درمانی گروه‌های مختلف مداخله‌ای در مقایسه با گروه کنترل منفی محاسبه و در جدول ۱ نشان داده شده است. شاخص درمانی با افزایش دوز دارو افزایش یافته و حتی در کمترین دوز مورد استفاده نیز اثر درمانی با امپرازول قابل مقایسه است و در تمامی دوزها عصاره به‌طور معنی‌داری ($p < 0.01$) تعداد و وسعت زخم‌ها را نسبت به گروه کنترل منفی کاهش داده است.

جدول ۱: تعیین میانگین تعداد و وسعت زخم‌های معده (بر حسب میلی متر مربع) و شاخص درمانی در گروه‌های مورد مطالعه

TI	وسعت زخم‌ها (Mean±SD)	تعداد زخم‌ها (Mean±SD)	گروه
۰	۳۷/۲±۱۱/۸	۹/۲±۲/۱	کنترل منفی
۰/۶۲	۱۳/۵±۴/۴	۳/۵±۱/۱	کنترل مثبت
۰/۷۶/۵	**۵/۲±۲/۶	**۲±۰/۸۹	عصاره با دوز ۱۲۵
۰/۹۲/۷	**۱/۵±۱/۷	**۰/۶۷±۰/۸	عصاره با دوز ۲۵۰
۰/۹۶/۷	**۱±۱/۵	**۰/۳۴±۰/۵	عصاره با دوز ۵۰۰

$p < 0.01$ ** در مقایسه با گروه کنترل منفی

مقادیر آنزیم‌های کبدی در گروه‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل منفی نشان داد که مصرف عصاره با دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ mg/kg افزایش

سازگار شوند. در طول مدت آزمایشات دمای اتاق حیوانات در محدوده $22 \pm 3^{\circ}C$ و سیکل تاریکی/روشنایی ۱۲ ساعته تنظیم شده بود. سپس حیوانات به‌طور تصادفی در پنج زیر گروه کنترل منفی، کنترل مثبت و سه گروه دریافت کننده عصاره با دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ mg/kg تقسیم شدند.

برای ایجاد زخم، حیوانات ابتدا به مدت ۴۸ ساعت در قفس‌های مخصوص با کف توری گرسنه نگهداری شدند. در این مدت به علت جلوگیری از تحلیل آب بدن، حیوانات با آب حاوی ۰/۲ درصد کلرور سدیم و ۲ درصد سوکروز تغذیه شدند. پس از این مدت حیوانات ایوپروفن (انستیتو پاستور ایران) را با دوز ۴۰۰ mg/kg به صورت گاوآژ دریافت نمودند. در گروه کنترل منفی، پس از ایجاد زخم، مداخله‌ای انجام نشده و در پایان دو هفته همانند سایر گروه‌ها از نظر تعداد و مساحت زخم‌های معده مورد بررسی قرار گرفتند. اندازه‌گیری آب و غذای مصرفی در تمامی گروه‌ها انجام شده و هم‌چنین وزن اولیه و پایانی حیوانات نیز در همه گروه‌ها ثبت شد. این حیوانات هر روز حدود نیم میلی لیتر نرمال سالین را به صورت دهانی دریافت می‌کردند. در پایان مدت دو هفته، معده حیوانات خارج شده و از نظر داشتن زخم مورد بررسی ماکروسکوپی قرار گرفتند.

در زیر گروه کنترل مثبت، پس از ایجاد زخم، حیوانات روزانه در دو نوبت امپرازول (انستیتو پاستور ایران) را با دوز ۲۰۰ mg/kg و به طریق گاوآژ دریافت می‌کردند. معده این حیوانات نیز در پایان دوره دو هفته‌ای، خارج شده و از نظر داشتن زخم مورد بررسی ماکروسکوپی قرار گرفت. در گروه‌های مورد آزمایش، پس از ایجاد زخم، حیوانات روزانه در دو نوبت عصاره آبی دانه گیاه زینان را با دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ mg/kg به مدت دو هفته به صورت گاوآژ دریافت کردند. در پایان دو هفته، معده خارج شده و از نظر زخم مورد بررسی ماکروسکوپی قرار گرفت. برای محاسبه ED₅₀ (Effective dose 50%) عصاره از نرم افزار کامپیوتری استفاده شد. مقدار آنزیم‌های کبدی در سرم حیوانات و به روش‌های روتین آزمایشگاهی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

روش تهیه عصاره: دانه گیاه خریداری شده از عطاری، ابتدا توسط کارشناس هرباریوم گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه سیستان و بلوچستان مورد شناسایی قرار گرفت. سپس دانه گیاه در سایه خشک شده و پس از آسیاب نمودن، هر بار ۲۰ گرم از پودر حاصله را در حجم ۱۰۰ میلی لیتر از آب مقطر حل نموده و سپس به مدت هشت ساعت در دستگاه سوکسله قرار دادیم. عصاره جمع‌آوری شده سپس با عبور از کاغذ صافی واتمن شماره ۱، صاف شده و درون ظروف شیشه‌ای و در حرارت ۳۷ درجه حلال بخار می‌شد. باقیمانده عصاره خشک شده درون ظرف شیشه‌ای ریخته شده و توزین گردید. در زمان لازم، پودر عصاره حاصله به میزان مورد نیاز با توجه به دوز مورد استفاده وزن شده و در محلول نرمال سالین حل گردید و سپس به صورت گاوآژ به حیوانات خوراندند.

روش بررسی زخم معده: معده را پس از خارج نمودن از بدن حیوان، از خمیدگی کوچک آن برش داده و پس از شستشو توسط نرمال سالین، بر

همانند این دارو پمپ ترشح اسید را در معده تحت تاثیر قرار داده باشد. با این وجود، برای تایید این نظریه باید در مطالعات بعدی میزان ترشح اسید معده را به دنبال مصرف عصاره گیاه زنیان اندازه گیری نمود تا بتوان در مورد این مکانیسم اظهار نظر قطعی نمود. هم چنین با توجه به دخالت مکانیسم استرس اکسیداتیو در پاتوژنز زخم ایجاد شده توسط داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی^۴، ممکن است که عصاره زنیان از طریق اثر آنتی اکسیدانی خود^۵ نقش موثر در بهبودی زخم معده را اعمال نموده باشد. به منظور بررسی اثرات جانبی و ناخواسته احتمالی عصاره، مقدار آنزیم های کبدی مورد اندازه گیری قرار گرفت. مصرف عصاره با دوز ۱۲۵ mg/kg اثر قابل توجهی بر مقدار آنزیم های کبدی مذکور نداشت ولی در دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ mg/kg مقدار آنزیم ALT و AST به صورت معنی داری بالا رفته بود که افزایش مقدار آنزیم ها احتمالا ناشی از اثر سوء دوز بالای عصاره بر بافت کبد می باشد. در خصوص اثرات عصاره دانه زنیان بر آنزیم های کبدی گزارشات زیادی نشده و این امر مقایسه نتایج مطالعه حاضر با تحقیقات گذشته را مشکل می نماید و تنها در یکی از این مطالعات، نشان دادند که عصاره دانه زنیان سمومیت کبدی ناشی از تراکلور کربن را در موش صحرایی کاهش می دهد و این اثر را با کاهش مقدار آنزیم های AST و ALT موجب می شود که با نتایج مطالعه حاضر در دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ mg/kg هم خوانی ندارد و این امر ممکن است مربوط به تفاوت در دوز مصرفی عصاره باشد.^{۱۱}

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، اثر مفید عصاره آبی دانه گیاه زنیان در درمان زخم معده ناشی از ایبوپروفن مورد تایید قرار می گیرد و برای بررسی مکانیسم اثر آن به مطالعات بیشتری نیاز می باشد. از آنجایی که اثر درمانی عصاره در دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ تفاوت چشمگیری نسبت به دوز ۱۲۵ mg/kg آن ها نداشته و از طرفی دیگر اثر درمانی دوز ۱۲۵ mg/kg نیز در مقایسه با امپرازول قابل قبول می باشد، مصرف دوزهای بیش از ۱۲۵ mg/kg به خاطر اثرات نامطلوب کبدی توصیه نمی شود.

سپاسگزاری

این پروژه بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان (کد ۸۳۰) می باشد که بدین وسیله نویسندگان مقاله از حمایت های مالی آن معاونت محترم تشکر و قدردانی می نمایند. هم چنین از پرسنل آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده پزشکی زاهدان به دلیل فراهم نمودن زمینه انجام کار تشکر می گردد.

معنی داری ($p < 0.05$) در مقدار آنزیم های AST و ALT ایجاد کرده است ولی دوز ۱۲۵ mg/kg تغییر قابل توجهی در مقادیر آنزیم های کبدی ایجاد نکرد (جدول ۲).

جدول ۲: میانگین مقدار آنزیم های AST و ALT کبدی در گروه های مورد مطالعه

گروه	آنزیم	AST(IU/L) Mean ±SD	ALT(IU/L) Mean ±SD
کنترل منفی (بدون دریافت دارو)		۱۵۰/۵±۳۹/۹	۶۹/۸±۱۵/۸
امپرازول (۲۰۰ mg/kg)		۱۳۵/۷±۲۸/۲	۶۶/۷±۲۰/۳
دوز ۱۲۵ mg/kg عصاره		۱۳۱/۸±۱۵/۶	۷۶/۷±۹/۸
دوز ۲۵۰ mg/kg عصاره		*۱۸۰/۶±۲۱/۵	*۹۱/۲±۱۰/۶
دوز ۵۰۰ mg/kg عصاره		*۲۲۰/۸±۱۸/۳	*۱۱۸/۴±۱۳/۹

* $p < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل منفی

بحث

نتایج این بررسی نشان داد که مصرف عصاره آبی دانه گیاه زنیان موجب بهبود زخم ایجاد شده توسط ایبوپروفن در معده موش صحرایی می شود و این اثر به صورت وابسته به دوز بروز می نماید. نتایج نشان داد که اثر التیام دهنده عصاره دانه گیاه زنیان با اثر داروی امپرازول قابل مقایسه بوده و حتی اثر درمانی آن در دوزهای مختلف بیش از اثر امپرازول بوده است.

نتایج نشان داد که اثر عصاره به صورت وابسته به دوز می باشد و در دوزهای خیلی کمتر از امپرازول اثری تقریباً مشابه در درمان زخم معده دارد. این می تواند نقطه قوت مصرف عصاره باشد زیرا واضح است که هر چه دوز داروی مصرفی کمتر باشد، احتمالاً عوارض جانبی آن نیز کمتر خواهد بود.

مصرف عصاره در دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ mg/kg به صورت معنی داری تعداد و درصد حیواناتی را که دارای زخم معده بودند، کاهش داد. مصرف عصاره در هر سه دوز به کار رفته تعداد و مساحت زخم های ایجاد شده را در مقایسه با گروه کنترل منفی به صورت معنی داری کاهش داده است و در دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ mg/kg نسبت به گروه کنترل مثبت نیز به طور قابل ملاحظه ای اثر بهتری از خود نشان داده است و این اثر هم در کاهش تعداد زخم ها، مساحت زخم ها و شاخص درمانی دیده می شود. در هیچ کدام از مطالعات گزارش شده قبلی گیاه زنیان، اثر درمانی عصاره این گیاه بر زخم معده مورد بررسی قرار نگرفته بود تا بتوان نتایج مطالعه حاضر را با آن ها مقایسه نمود. مکانیسم اثر عصاره دانه گیاه زنیان در درمان زخم معده روشن نیست و هدف این مطالعه نیز نبوده است ولی از مقایسه اثر درمانی آن با داروی شناخته شده امپرازول می توان اظهار نظر نمود که احتمالاً عصاره نیز

References

- Kasper BW, Fauci H, Longo J. Peptic ulcer disease and related disorders In: Harrison's principals of internal Medicine. 16th ed. New York: McGraw-Hill; 2005: 1446-1762.
- Helicobacter pylori and peptic ulcer disease; economics of peptic ulcer disease and H. pylori infection. Centers for Disease Control and Prevention website. www.cdc.gov/ulcer/economic.htm. Accessed February 23, 2009.
- Yeomans ND, Naesdal J. Systematic review: Ulcer definition in NSAID ulcer prevention trials. Aliment Pharmacol Ther 2008; 27(6): 465-472
- Musumba C, Pritchard DM, Pirmohamed M. Cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. Aliment Pharmacol Ther 2009; 30(6): 517-31.

5. Chan Francis KL. Helicobacter pylori NSAIDs and gastrointestinal hemorrhage. Eur J gastroentrol hepatol 2002; 14(1): 1-3.
6. De M, Krishna De A, Banerjee AB. Antimicrobial screening of some Indian spices. Phytother Res 1999; 13(7): 616-8
7. Zahin M, Ahmad I, Aqil F. Antioxidant and antimutagenic activity of Carum copticum fruit extracts. Toxicol in Vitro 2010; 24(4): 1243-49.
8. Dashti-Rahmatabadi MH, Hejazian H, Morshedi A and Rafati A. The analgesic effect of Carum copticum extract and morphine on phasic pain in mice. J Ethnopharmacol 2007; 109(2): 226-8.
9. Singh G, Maurya S, Catalan C and De Lampasona MP. Chemical constituents, antifungal and antioxidative effects of ajwain essential oil and its acetone extract. J Agric Food Chem 2004; 52(11): 3292-6.
10. Boskabady MH, Ramazani M, Tabei T. Relaxant effects of different fractions of essential oil from Carum copticum on guinea pig tracheal chains. Phytother Res 2003; 17(10): 1145-49.
11. Samini M, Dehpour AR, Babazadeh-Khameneh E. [Study of the effect of melatonin on water immersion stress-induced gastric lesions] Persian. J Faculty Med 2003; 60(3): 178-81.
12. Gilani AH, Jabeen Q, Ghayur MN, Janbaz KH and Akhtar MS. Studies on the antihypertensive, antispasmodic, bronchodilator and hepatoprotective activities of the Carum copticum seed extract. J Ethnopharmacol 2005; 98(1-2): 127-35.

*Therapeutic effects of aqueous extract of *Carum copticum* seed on ibuprofen induced gastric ulcer in rats*

Gholam R. Komeili,¹ Meisam Sargazi,² Sivash Soluki,² Shahab-al-Din Maleki²

Background: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs are increasingly used recently and one of their side effects is gastric ulcer. This study has tried to elucidate the effects of *Carum copticum* seed extract in the treatment of ibuprofen induced peptic ulcer in an animal model.

Materials and method: This research study was performed on 30 adult rats. Gastric ulcer induced by ibuprofen. Animals were randomly divided into five groups. After inducing peptic ulcer, rats were treated with omeprazole or plant seed aqueous extract with doses 125, 250 and 500 mg/kg, twice a day for two weeks, respectively. Finally, rats stomachs were studied in terms of numbers and extent of gastric ulcer. Serum levels of aspartate transferase (AST) and alanine transferase (ALT) were measured.

Results: Aqueous extract of *Carum copticum* had a dose-dependent effect on the healing of peptic ulcer compared with the control group ($p < 0.05$). The mean number and area of gastric ulcers in the groups receiving the extract were significantly lower than control group ($p < 0.01$). Serum level of the liver enzymes in the treated groups that received doses of 250 and 500 mg/kg were prominently higher than other groups ($p < 0.05$).

Conclusion: The consumption of plant seed extract *Carum Copticum* was effective in treating ulcers and its therapeutic effect is as of the drug known as omeprazole are comparable. Thus, to understand the extent and mechanism of these effects further work is needed.

Keywords: Carum Copticum, seed extract, peptic ulcer, rat, ibuprofen.

1. Associated professor of Physiology, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran
2. Student of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran