

اثر عصاره آبی - الکی برگ سدر بر نیروی انقباضی و ضربان قلب قورباغه

دکتر محمد کاظم غریب ناصری

چکیده

سابقه و هدف: سدر با *Zizyphus spina christi* از نیره عنب *Rhamnaceae* یکی از گیاهان بومی ایران است که به صورت خودرو در استان خوزستان رشد می‌کند و به آن کنار نیز می‌گویند. در طب سنتی در مورد اثرات میوه آن اشارتی شده است و برگ آن که سدر نامیده می‌شود به‌طور عمده برای شستشوی موی سر استفاده می‌شود. به منظور تعیین اثرات غلظت‌های مختلف عصاره آبی - الکی برگ آن بر قلب قورباغه این تحقیق انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: تحقیق به روش Experimental انجام شد. قلب قورباغه از طریق *Vena cava* کانیوله شده و توسط محلول رینگر استاندارد پرفیوز گردید سپس پس از تغذیه و اکسیژن‌دهی از شاخه چپ کانیوله شده آئورت از قلب خارج گردید. به محلول رینگر عصاره اضافه شد تا غلظت‌های نهایی 20 mg/ml و 10 ، 5 ، $2/5$ ایجاد شود. تغییرات نیروی انقباضی و تعداد ضربان قلب قبل و بعد از اضافه کردن عصاره به صورت ایزومتریک ثبت و مقایسه گردید. فشار بازگشت وریدی در تمام مدت آزمایش $5/5$ سانتی‌متر آب بود. دمای رینگر $22-20^\circ \text{C}$ و pH آن $8/4$ بود. تحریک الکتریکی دیواره دهلیز با 10 ولت، 1 هرتز و اهرارم ثانیه به مدت $20-10$ ثانیه قبل و بعد از استفاده از غلظت 20 mg/ml اعمال شد و تأثیر هر غلظت با آماره *t-test* و بین غلظت‌های متفاوت با *Anova* مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: تحقیق روی 25 قلب پرفیوز شده قورباغه انجام گرفت و مشاهده گردید که این عصاره به صورت وابسته به غلظت موجب کاهش نیروی انقباضی و تعداد ضربان قلب قورباغه می‌گردد ($p < 0.0001$). غلظت 20 mg/ml در موارد سبب بروز ایست قلبی در حالت آدیاستول گردید که با پرفیوزیون رینگر تازه ایست قلبی برطرف گردید. تحریک الکتریکی (E.S) دیواره دهلیز تأثیری بر ایست قلبی حاصل از غلظت 20 mg/ml نداشت. نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد این عصاره حاوی ماده و یا مواد مهارکننده بهره‌مندی سلول‌های قلب از کلسیم در روند انقباض باشد و در تحقیقات علمی صحبت از احتمال و شاید و... نباید باشد.

واژگان کلیدی: سدر، *Zizyphus spina christi*، قلب قورباغه، نیروی انقباضی قلب، تعداد ضربان قلب

مقدمه

سدر، سدره، مونبال داود با نام علمی *Zizyphus spina christi* با نام انگلیسی *Lote tree* یا *christ's thom* گیاهی از تیره عناب به طول ۱۰ متر است که در عربستان، شمال آفریقا و ایران در استان‌های خوزستان، فارس، هرمزگان تا جزیره خارک به صورت خودرو رشد می‌کند. سدر گیاهی همیشه سبز با شاخه‌های خاردار و برگ‌های تخم‌مرغی شکل و نوک‌تیز است (۱). میوه آن ترش و شیرین، خوشبو و کروی شکل تا قطر ۲ سانتی‌متر است. میوه رسیده آن مسهل صفرا و میوه نارس آن قابض و نفاخ است. پودر برگ آن معروف به سدر است و برای شستشوی موی سر و تقویت مو و جلوگیری از ریزش آن مصرف می‌شود (۲ و ۳). شیره مغز هسته آن در تب‌های گرم صفراوی و نیز آبله و سرخک نافع است. از پوست ساقه آن در دباغی استفاده می‌شود (۱). از مصارف دیگر برگ آن ضد عفونی زخم است. ذکر شده است که عصاره آبی - الکلی برگ آن از رشد بعضی از قارچ‌ها جلوگیری می‌کند (۳). در مورد فواید برگ و میوه عناب که از همین تیره می‌باشد اطلاعات فراوانی وجود دارد. از جمله در طب سنتی میوه عناب به تنهایی و یا همراه با چند داروی سنتی دیگر جهت ناراحتی‌های دستگاه تنفس استفاده می‌شود در یکی از تحقیقات گزارش شده است که برگ عناب می‌تواند حس ذائقه را برای مواد شیرین کاهش دهد. در مورد برگ سدر نشان داده‌اند که عصاره بتانولی آن قادر به کاهش قند خون موش‌های مبتلا به دیابت بوده و فعالیت آنزیم گلوکز ۶ فسفاتاز را افزایش می‌دهد (۴). باتوجه به بررسی‌های انجام شده و نبود اطلاعاتی درباره اثرات عصاره آبی - الکلی برگ سدر در منابع جدید به منظور تعیین اثر این عصاره

بر فعالیت‌های مکانیکی قلب قورباغه این پژوهش صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

تحقیق به روش تجربی و به شرح زیر انجام گرفت.

الف - عصاره‌گیری

برگ‌های تازه درخت سدر از اطراف دانشکده پزشکی اهواز تهیه شد و پس از شستشو و خشک کردن در سایه و حرارت اتاق، آسیاب و الک شد. به منظور ایجاد تورم در پودر به دست آمده از محلول آب و الککل ۷۰ درصد به نسبت ۲ گرم پودر و یک میلی‌لیتر محلول به مدت ۱۵ دقیقه استفاده گردید. پودر مستورم شده به مدت ۷۲ ساعت به روش پرکلاسیون به نسبت ۳۰۰ گرم و ۷۰۰ میلی‌لیتر با الککل ۷۰ درصد مجاور گردید (۳ و ۵). محلول عصاره پس از عبور از کاغذ صافی واتمن شماره ۱۰ روی سطح شیشه گسترده شد تا در دمای اتاق، حلال تبخیر و عصاره خشک شود. سپس، عصاره به وسیله تیغ از سطح شیشه تراشیده شد. نسبت استخراج پودر عصاره از پودر برگ ۱۸ درصد بود.

ب - پرفوزیون قلب قورباغه

قلب قورباغه‌های نر و ماده بعد از مغزی نخاعی شدن به روش زیر پرفوزیون شدند: دور شریان‌های چپ و راست آنورت نخ عبور داده و گره شل زده شد. *Vena cava* به وسیله کاتتری از جنس پلی‌اتیلن با قطر خارجی یک میلی‌متر کانیوله شد. این کانیولا به یک ستون از مایع رینگر با حجم ۱۰ میلی‌لیتر و ارتفاع مایع ۵/۵ سانتیمتر حاوی رینگر استاندارد متصل بود (۶). دمای محلول رینگر $22-20^{\circ}\text{C}$ و pH آن برابر ۸/۴ بود و اکسیژن ۱۰۰ درصد (۷) در آن دمیده شد.

می‌شد. مشخصات تحریک شامل ۱هرتز، ۱۰ولت و ۱هزارم ثانیه (Harvard Kymograph Universal) بود. با توجه به وجود رینگر در اطراف قلب، سعی می‌شد تا استقرار الکترودها به نحوی باشد که در هنگام تحریک، عضلات اسکلتی بدن حیوان تحریک نشده تا تأثیری بر انقباضات ثبت شده نداشته باشد. به منظور روشن شدن تأثیر تحریک الکتریکی در حالت کنترل (بدون حضور عصاره) قلب به مدت ۱۰ تا ۲۰ ثانیه تحریک می‌شد. پس از اضافه کردن عصاره با غلظت ۲۰mg/ml در حالتی که ایست قلبی ایجاد شده بود در پایان ۱/۵ دقیقه به مدت ۱۰ تا ۲۰ ثانیه با همان مشخصات، قلب تحریک می‌گردید.

روش بررسی آماری نتایج

این تحقیق به منظور اندازه‌گیری تغییرات نیروی انقباضی (ΔC) و تغییرات تعداد ضربان قلب (ΔHR) صورت پذیرفت، لذا تغییرات دامنه انقباضات و ضربان قلب ۲۰-۱۰ ثانیه قبل از اضافه کردن عصاره و به همین مدت در پایان ۲-۱/۵ دقیقه با هم مقایسه شده و به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارایه شدند. نتایج بین دو غلظت به روش t-test و بین همه غلظت‌ها به روش ANOVA مقایسه شد و مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

تحقیق روی ۲۵ قورباغه انجام گرفت. شکل (F-A) ثبت حقیقی تأثیر غلظت‌های مختلف آبی-الکلی برگ سدر بر نیروی انقباضی و ضربان قلب قورباغه را نشان می‌دهد. همان‌طوری که مشاهده می‌شود، این عصاره با غلظت‌های زیاد بر دو متغیر فوق اثر مهاری دارد و در غلظت ۲۰mg/ml موجب توقف

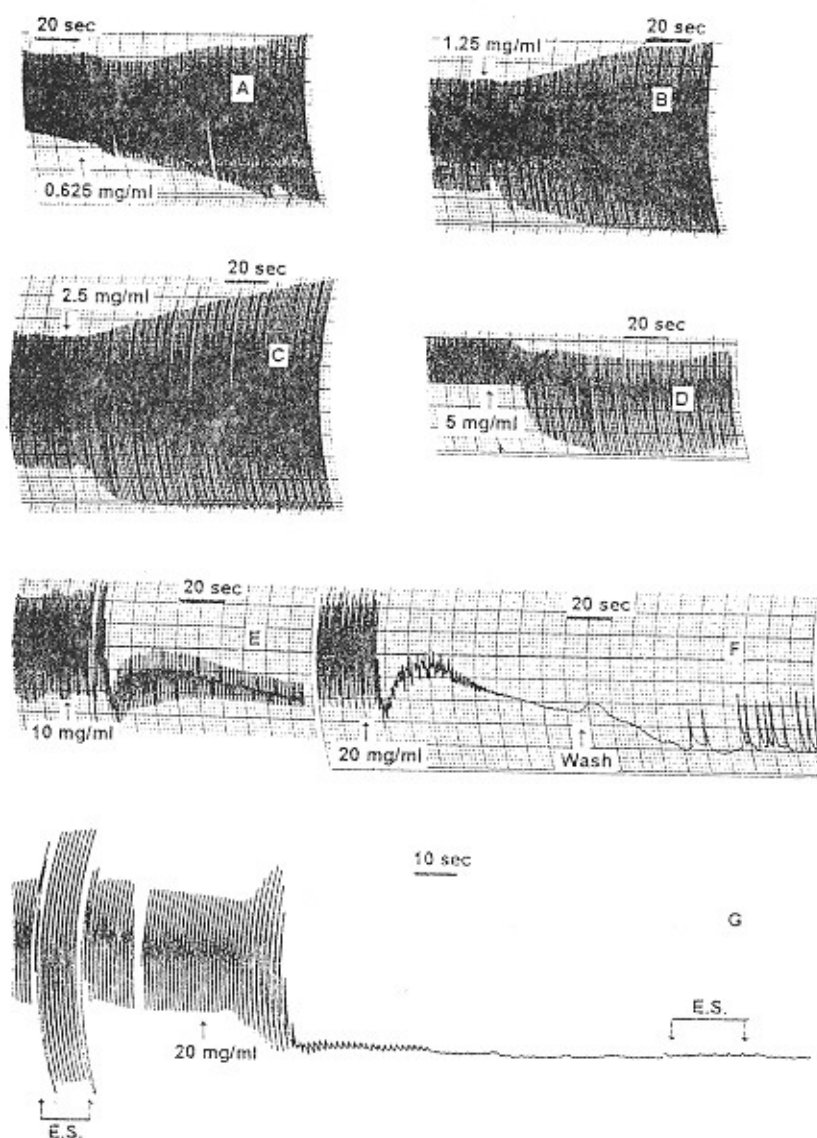
با توجه به تأثیر ارتفاع ستون مایع رینگر (به عنوان فشار بازگشت وریدی) بر برون‌ده قلب (۶)، سعی گردید در تمام مراحل آزمایش، ارتفاع مایع در حد ۵/۵ سانتیمتر همواره ثابت بماند. سپس، گره روی آنورت راست محکم شد و شاخه آنورت چپ به وسیله کاتتری از جنس پلی‌اتیلن با قطر خارجی یک میلی‌متر کانوله شد تا محلول رینگر پس از تغذیه و اکسیژن‌دهی از قلب و از طریق کانولای اخیر خارج شود. عمل اکسیژن‌دهی به محلول رینگر در مخزن اصلی رینگر که بالاتر از قلب قرار داشت انجام می‌شد. پس از اضافه کردن عصاره، مخلوط رینگر و عصاره به طور مرتب به هم زده می‌شد.

ج - روش ثبت اطلاعات

نوک قلب به وسیله گیره استیل به ترانس دیوسر ایزومتریک Pioden Control LTD و Dynamometer UFI متصل گردید و دستگاه Harvard Universal Oscillograph نیروی انقباضی قلب را ۰/۵ تا ۱ میلی‌متر در ثانیه روی کاغذ ثبت می‌کرد. پس از دوره ۱۰ دقیقه‌ای recovery عصاره حل شده در آب مقطر به محلول ستون رینگر اضافه می‌شد تا غلظت‌های نهایی ۲۰mg/ml و ۰/۱، ۰/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵ به وجود آید. مدت پرفوزیون هر غلظت ۲ تا ۱/۵ دقیقه و فاصله زمانی بین دو غلظت متوالی ۵ تا ۱۰ دقیقه بود. ثبت انقباضات به مدت ۲۰ تا ۱۰ ثانیه قطرات رینگر مرطوب نگه‌داشته می‌شد. در پایان مدت ۱/۵ تا ۲ دقیقه تأثیر دادن عصاره، مخلوط عصاره و رینگر ستون از طریق لوله تحتانی ستون به سرعت تخلیه شد و با ورود و تخلیه مکرر رینگر تازه سعی می‌شد تا بقایای عصاره در ستون کاملاً شسته شود. در تجربیات تأثیر الکتریکی دهلیز، از یک جفت الکترود نقره‌ای مماس با دیواره دهلیز استفاده

کاملاً قلبی شده است و جایگزینی آن با رینگسر تازه (Wash) موجب برگشت ضربان قلب شده است.

ضربان قلب در حالت آدیاستول (adiastole) شد. در قسمت G شکل ۱ مشاهده می‌گردد که خالی کردن عصاره با غلظت ۲۰mg/ml سبب ایست



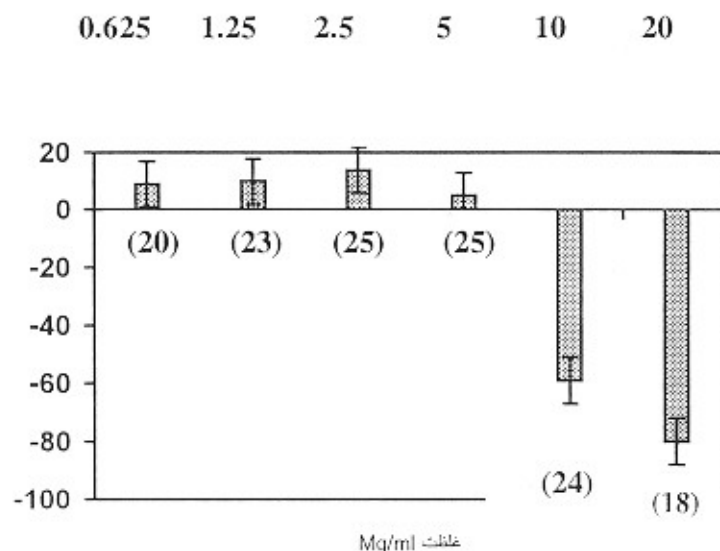
نیروی انقباضی قلب شده است ولی این اثرات از نظر آماری قابل ملاحظه نبودند. در غلظت‌های ۲۰ و ۱۰ mg/ml موجب بروز اثرات مهاری بر نیروی انقباضی قلب گردیدند و مشخص شد که

نمودار شماره ۱ اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی - الکلی برگ سدر را بر نیروی انقباضی قلب نشان می‌دهد. اگرچه عصاره تا غلظت ۵mg/ml (خصوصاً در غلظت ۲/۵mg/ml) موجب افزایش

یک اثر مهارى شديد بر نیروى انقباضى قلب مى باشد ($P < 0.0001$). در غلظت ۲۰ mg/ml این اثر مهارى $5 \pm 32.8\%$ بود و در اکثر موارد ایست قلبى مشاهده گردید.

اختلاف اثر غلظت‌های ۱۰ mg/ml و ۵ بسیار قابل ملاحظه است ($P < 0.0001$). اختلاف اثر غلظت‌های ۲۰ mg/ml و ۱۰ نیز قابل ملاحظه بود. ($P = 0.0059$). بررسی آماری نتایج به روش ANOVA نشان‌دهنده

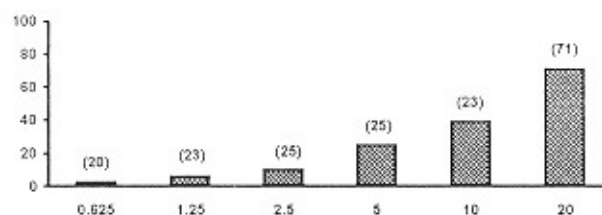
نمودار ۱- میزان درصد تغییرات نیروى انقباضى قلب قورباغه برحسب غلظت های عصاره آبی - الکلی برگ سدر



دارای اختلاف معنی‌داری هستند ($P < 0.003$). بررسی آماری به روش ANOVA نیز در مورد اثر این عصاره بر تعداد ضربان قلب مانند نیروى انقباضى نشان‌دهنده اثر مهارى شديد وابسته به غلظت مى باشد ($P < 0.001$).

نتیج حاصل از تاثیر عصاره آبی - الکلی برگ سدر بر تعداد ضربان قلب در نمودار شماره ۲ ارایه گردیده است نشان می‌دهد که در همه غلظت‌های به کار رفته اثر مهارى بر این متغیر وجود دارد. مقایسه آماری اثر غلظت‌های متوالی نشان می‌دهد که فقط غلظت‌های ۲۰ mg/ml و ۱۰

نمودار ۲- میزان درصد تغییرات ضربان قلب قورباغه برحسب غلظت های مختلف عصاره آبی - الکلی برگ سدر



معنی‌دار نیست. در مورد تأثیر عصاره بر تعداد ضربان قلب باید اضافه نمود که برخلاف تأثیر مشاهده شده بر نیروى انقباضى، اثر مهارى ایجاد شده در ضربان قلب در همه غلظت‌های عصاره

این مطالعه نشان داد که غلظت‌های ۵ mg/ml تا ۰/۶۲۵ در مورد نیروى انقباضى اثر تقویت‌کننده (غیر قابل ملاحظه) دارد در حالی که در مورد تعداد ضربان قلب روندی مهارى دارد هرچند که

مشاهده می‌گردد. به عبارت دیگر اثر مهاری بر تعداد ضربان قلب از غلظت کمتر عصاره شروع می‌گردد. قسمت (G) شکل ۱ نتیجه تحریک الکتریکی (هرتز، ۱۰ ولت و اهزارم ثانیه) قبل از اضافه کردن عصاره و در پایان ۱/۵ دقیقه بعد از اضافه کردن عصاره برگ سدر با غلظت ۲۰mg/ml و ایجاد ایست قلبی را نشان می‌دهد. همان‌طوری که مشاهده می‌گردد، قبل از تأثیر عصاره، با توجه به فرکانس استفاده شده که تقریباً با فرکانس قلب یکسان است (به جز شروع و خاتمه تحریک که سبب اکستراسیستول گردید) قلب ریتم طبیعی داشته و حتی نیروی انقباضی افزایش یافته است. از طرف دیگر تحریک باد شده در زمان برقراری ایست قلبی تأثیری بر آن نداشته و نتوانسته است سبب شروع ضربان در قلب گردد.

بحث

تحقیق نشان داد که عصاره آبی - الکلی برگ سدر به‌خصوص در غلظت‌های زیاد موجب کاهش نیروی انقباضی و تعداد ضربان قلب می‌گردد. از ویژگی‌های مثبت روش پرفوزیون قلب فورباغه می‌توان به کاربرد آن به عنوان مدل مناسبی جهت بررسی اثرات مواد، از جمله عصاره گیاهی، بر قلب اشاره کرد. سادگی تهیه، نگهداری، سهولت کانیوله کردن و قدرت تحمل قلب در برابر ایست کامل قلبی از نکات مثبت این مدل حیوانی می‌باشد. احتمالاً، به این دلیل که عدم وجود عروق کرونر در این نوع قلب و تغذیه و اکسیژن‌گیری از سطوح داخلی و خارجی سبب می‌گردد. تا قلب شرایط دشواری مانند ایست قلبی را به خوبی تحمل نماید و ادامه آزمایش امکان‌پذیر باشد، زیرا حتی اگر ایست کامل قلبی ایجاد شده باشد، محلول رینگر

خواهد توانست ضمن عبور آرام از قلب، مانع مرگ بافت گردد.

اگرچه اطلاعات نسبتاً فراوانی در مورد اثرات میوه عناب و برگ آن که از همین تیره است در منابع قدیم و جدید وجود دارد ولی اطلاعات کافی در مورد برگ سدر وجود ندارد، لذا این امر مقایسه نتایج حاصل از این تحقیق را با نتایج کار سایر محققان دشوار می‌سازد. با این وجود، براساس نتایج به دست آمده می‌توان گفت که عصاره آبی - الکلی برگ سدر حاوی ماده و یا مواد موثری می‌باشد که به‌خصوص در غلظت‌های زیاد می‌تواند موجب کاهش نیروی انقباض و تعداد ضربان قلب گردد. این اثر می‌تواند نتیجه مهار ورود یون کلسیم از محیط خارج سلولی به سلول‌های قلبی باشد. در عین حال به دشواری می‌توان تصور نمود که اضافه کردن عصاره سبب رقیق شدن محلول رینگر و کاهش غلظت یونی آن شده باشد. زیرا در آزمایش‌های انجام شده که نتایج آن در این تحقیق ارایه نشده‌اند، نیروی انقباض قلب حتی با رینگر بدون کلسیم فقط حدود ۵۰ درصد کاهش یافته است ولی موجب ایست قلبی نشده است. این موضوع موبد این نظریه است که قلب فورباغه می‌تواند از منابع داخل سلولی کلسیم (رتیکولوم سارکوپلاسمیک) استفاده نماید. این موضوع در مطالعه Ozgul نشان داده شده است. در بررسی یاد شده مصرف ۶- آمینوپیریدین که سبب توقف ورود کلسیم به سلول‌های قلب فورباغه می‌گردد. قادر به توقف ضربان قلب نیست (۸)، لذا احتمال دارد که عصاره برگ سدر امکان استفاده از کلسیم را در روند انقباض سلول‌های قلبی دچار اختلال کرده باشد و شاید فرصت استفاده از کلسیم منابع داخل سلولی را از بین برده باشد.

مشابه این اثر مهاری در مورد تونیسیته ایلنوم موش صحرایی دیده شده است که طی آن عصاره آبی-الکلی برگ سدر به صورت وابسته به غلظت موجب شل شدن قطعه ایلنوم موش صحرایی گردیده است (۷). گزارش شده است که درمان چهار هفته‌ای موشهای مبتلا به دیابت با عصاره بتانولی برگ سدر موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی فسفریلاز و گلوکز ۶ فسفاتاز و در نهایت کاهش قند خون می‌گردد (۴). ممکن است در این بررسی عصاره آبی-الکلی برگ سدر توانسته باشد به سرعت در امر استفاده از گلوکز در سلولهای عضلانی قلب اختلال ایجاد کرده باشد. در هر حال نتیجه‌گیری دقیق‌تر نیازمند تحقیق بیشتر است و شاید بتوان با استخراج و تخلیص مواد موثر برگ سدر جهت درمان زیادی فشار خون فیبرلاسیون قلبی و تکیکاردی استفاده نمود.

References:

۱. میرحیدر ح. معارف گیاهی، کاربرد گیاهان در پیشگیری و در درمان بیماریها. چاپ اول. دفتر نشر فرهنگ اسلامی، جلد سوم ۱۳۷۳: صفحات ۱۳۲-۱۳۰.
۲. زرگری ع. گیاهان دارویی. چاپ ششم. انتشارات دانشگاه تهران. سال ۱۳۷۲: صفحه ۶۰۳.
۳. حبیب بیگی ف. بررسی آزمایشگاهی اثرات ضد قارچی گیاهان اوکالیپتوس و سدر. پایان نامه جهت اخذ دکترای داروسازی دانشکده داروسازی اهواز: ۱۳۷۳.
4. Glombiza KW, Mahran GH, Mirhom YW, Michel KG, Motawi TK. Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of Zizyphus spina chnisti in rats. *Planta Med* 1994; 60(3): 244-47.
۵. صمصام شریعت ه. عصاره گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی و روشهای شناسایی و ارزشیابی آنها. انتشارات مانی. سال ۱۳۷۱: سال ۱۶-۱۴.
6. Andrew BL. *Experimental Physiology*. 9th edition, Churchill Livingstone. 1972: 155-57.
۷. غریب ناصری م ک، امیدی آ، معصوم م. اثر عصاره هیدروالکلی برگ کناز (سدر) بر فعالیت مکانیکی ایلنوم موش صحرایی. هفتمین سمینار سراسری دانشجویان داروسازی کشور. اصفهان، اسفند ۱۳۷۹: ۱۱۷.
8. Ozgul M, Silan C, Yillar O, Kucukhuseyin C. 4- aminopyridine can induce release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of heart. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2000; 11(1): 57-62.