



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Cissus Quadrangularis Linn

Abtin Mojarrady

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2010: 40

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2010



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Cissus Quadrangularis Linn

Cissus Quadrangularis Linn

Abtin Mojarrady

Handledare:

Eva Tydén, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator:

Désirée S. Jansson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: VM0068

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2010

Omslagsbild: -

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2010: 40
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: Cissus Quadrangularis Linn, Ledproblem, Viktminskning, Frakturläkning, Magsår, Analgesi, Antiinflammatoriskt, Naturläkemedel, Kramphämmande

Key words: Cissus Quadrangularis Linn, Joint diseases, Weight loss, Fracture healing, Gastric ulceration, Analgetic, Anti-inflammatory, Natural medicine, Anticonvulsant.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning.....	1
Summary.....	2
Inledning.....	3
Material och metoder.....	4
Litteraturöversikt.....	4
Benbildning.....	4
<i>In vivo</i>	4
<i>In vitro</i>	4
<i>In utero</i>	5
NSAID-inducerade ulcerationer.....	5
Fettförbränning och förbättring av blodvärden.....	6
Analgetisk verkan.....	7
Antiinflammatorisk effekt.....	9
Övriga effekter.....	10
Neurogena effekter.....	10
Kramphämmande och antiepileptiskt.....	12
Kärlkontraherande.....	13
Antibakteriell effekt.....	13
Toxicitet.....	13
Diskussion.....	14
Litteraturförteckning.....	17

SAMMANFATTNING

Cissus Quadrangularis Linn (CQ) är en medicinalväxt som växer i bland annat Indien där den använts för sina läkande effekter på bland annat frakturer och magbesvär. Experimentellt har växten gett jämförbara resultat som traditionell behandling av osteoporosis (ökad frakturbenägenhet) hos kastrerade honråttor. Studier *in vitro* har visat en ökad proliferationshastighet hos mesenkymala stamceller och ökad mineralisering av det extracellulära matrixet hos osteocyter. Dräktiga råttor som behandlats med CQ får avkomma med högre utvecklat skelett i fram och bakben. Förbehandling med CQ ger betydligt färre och mindre lesioner vid magsår som inducerats med NSAID (Non Steroidal Antiinflammatory Drugs). Askorbinsyra som utvunnits från CQ ger jämförbara gastroprotektiva resultat som traditionell förbehandling av magsår. Överviktiga personer som får ett tillskott av CQ extrakt går ner i fettvikt, samtidigt som de signifikant förbättrar sina blodvärden gällande bland annat kolesterol. De smärtlindrande och antiinflammatoriska effekterna hos CQ är tydliga och i många fall jämförbara med traditionella läkemedel. Örten är även sedetativ och CNS-depressiv, vilket yttrar sig som bland annat minskat utforskningsbeteende och försämrad koordination i studier på möss. En svag antibakteriell verkan och en kärilkontraerande effekt har noterats. Vid Pentobarbital- och Diazepaminducerad sömn, med samtidig behandling av CQ, potentiernas den inducerade sömnen starkt. Flera försök har visat på en stark kramphämmande egenskap hos växten, som i flera fall var jämförbar med traditionella läkemedel. Toxicitetsstudier har visat att CQ är ofarligt vid oral administrering i relativt höga doser, men vid intraperitonell injektion finns en viss toxicitet. Alla dessa starkt positiva effekter och den låga toxiciteten borde göra CQ till en stark kandidat för framtida naturläkemedelsforskning.

SUMMARY

Cissus Quadrangularis Linn (CQ) is a medicinal plant that grows in for example India, where it has been used for instance for its healing properties on fractures and gastric problems. In experimental studies has this medicinal plant shown comparable results with the traditional treatment of osteoporosis (increased risk of fracture) on ovariectomized rats. Studies *in vitro* have shown an increased mesenchymal stem cell proliferation and an increased mineralization of extracellular matrix and osteocytes. The offspring of rats that have been treated with CQ is born with more ossified bone in their fore and hind limb. Pretreatment with CQ gives significant lesser and smaller lesions of gastric ulcers induced by NSAID (Non Steroidal Anti-inflammatory Drugs). Ascorbic acid extracted from CQ gives comparable gastro-protective results as traditional treatment of gastric ulcers. Obese people that have been given a supplement of CQ extract loose fat and at the same time improve their blood cholesterol, among other blood values. The analgesic and anti-inflammatory effects of CQ is obvious and is in a lot of cases comparable with traditional medicines. The herb is sedative and a CNS-depressant, which shows as a lower exploratory behavior pattern and a decreased motor coordination in studies with mice. A weak antibacterial and a stronger venotonic effect have been noted. When used with Pentobarbitone and Diazepam induced sleep, CQ strongly potentiate the effect of both medicines. Several experiments have shown a strong anticonvulsant and antiepileptic property that in a lot of cases were comparable with traditional medication. Studies on the toxicity of CQ show that the herb is harmless when administered oral in relatively high doses, but when it is administered via intraperitoneal injection, there seems to be a higher risk for poisoning. All of these strong positive effects, and the low toxic risks, should make CQ to a strong candidate for future research on natural medicines.

INLEDNING

Cissus Quadrangularis Linn (CQ) är en ogräsliknande växt där framförallt stammen, men även blad och rötter, traditionellt använts som behandling vid benfraktur, avmaskning, menstruella besvär, magbesvär, hemmorojder, skörbjugg och som analgetika vid öron och ögonsjukdomar. Medicinalväxten finns att finna i de varmare delarna av Indien, Västafrika, Malaysia, Java och Sri Lanka. I Sverige är CQ förhållandevis okänd och ingår inte i Läkeemedelsverkets lista över godkända naturläkemedel, det används dock av kroppsbyggare och utövare av styrkesporter för att lindra ledvärk och för att öka fettförbränningen.

Fytokemiska analyser har visat på innehåll av askorbinsyra (antioxidant), fytoöstrogener (växtämnen som liknar östrogen), kalcium, fosfor, flavonoider (antioxidanter), tri-terpenoider (antiinflammatoriska, tex δ -amyrin och δ -amyrone), β -sitosterol (hämmar upptaget av kolesterol i tarm), β -carotene (prekursor till vitamin a), saponiner (slemlösande), tanniner (antioxidanter) och ketosteroner (steroidderivat).

Har *Cissus Quadrangularis* Linn haft en faktisk verkan vid sin traditionella användning och går det att förklara denna effekt vetenskapligt? Har den svenska användningen stöd i vetenskapliga studieresultat? Finns det andra indikationer som kan behandlas med örten? Är ett tillskott av växten toxisk eller är den ofarlig i terapeutiska doser, och vilka är då dessa doser?

MATERIAL OCH METODER

Studierna som använts i detta arbete har hittats på Pubmed och ISI Web of Knowledge, genom sökorden "Cissus Quadrangularis". Sedan har vissa referenser i funna studier följts upp genom att på Google söka på studiens namn.

LITTERATURÖVERSIKT

Benbildning

In vivo

Vid klimakteriet, eller kastration av honliga djur, sjunker östrogennivåerna, vilket medför till ett svagare skelett (osteoporosis) då osteoblaster stimuleras och osteoklaster inhiberas av östrogen. Detta behandlas normalt genom hormonterapi, men det för även med sig biverkningar. Kastrerade honråttor som fått etanolextrakt av CQ (CQE) i doserna 500 mg/kg och 750 mg/kg kroppsvikt, gick att jämföra resultatmässigt med behandling med en selektiv östrogenreceptorsmodulator som heter Raloxifen (5,4 mg/kg kroppsvikt) och som normalt används vid behandling av klimakterie-orsakad osteoporosis. Behandlingen pågick i 3 månader och resultatet baserades på koncentrationen av Alkaline phosphatase (ALP), Tartarate resistant acid phosphatase (TRAP) och tibias, femurs och det femte revbenets mekaniska styrka. ALP är ett mått på osteoblasternas aktivitet, medan TRAP visar på osteoklasternas aktivitet. Alla medicinerade grupper visade en ökning av ALP jämfört med kontrollgruppen, men det var bara de råttor som fått CQE 750 mg/kg som även visade en sänkning av TRAP. Den mekaniska styrkan ökade signifikant och var jämförbar med styrkan hos normalt ben. Mikroskopisk undersökning av femur visade en påbörjad läkningsprocess med mineralisering och osteocyter hos råttor som fått CQE 500 mg/kg och Raloxifen 5,4 mg/kg, medan gruppen med den högre koncentrationen CQE nästan hade återhämtat sig helt och starkt påminde om normalt ben (Shirwaikar et al., 2003). I en annan studie av Potu et al (2009a) har medicinering med petroleum-eter extrakt av CQ även visat sig öka vikten hos femur hos kastrerade honråttor. Resultatet var jämförbart med behandling med Raloxifen 5,4 mg/kg.

In vitro

Proliferationshastigheten hos mesenkymala stamceller från råttor fördubblas vid tillförelse av 0,3 mg/ml petroleum-eter extrakt av CQ. Även differentiering av mesenkymala stamceller till osteoblaster påverkas av CQE och detta kan mätas som en ökning i ALP-aktivitet. Mesenkymala stamceller som vuxit i medium som innehöll CQE 0,1 mg/ml visade på svag ALP-aktivitet, medan doser på 0,2 och 0,3 mg/ml vidare ökade ALP-aktiviteten och således differentieringen av mesenkymala stamceller till osteoblaster. Aktiviteten sågs redan vid cellodlingens 15:e dag, och vid dag 20 visade cellerna på en stark ALP-aktivitet. Cellodling i osteogen media (optimal media för benbildning) visade inte på ALP-aktivitet förrän efter 28

dagar. Mesenkymala celler som fått växa i basalmedia visade ingen mineralisering av det extracellulära matrixet (ECM) efter 28 dagar, medan celler som vuxit i basalmedia med CQE 0,3 mg/ml visade kalciumdepositioner redan efter 15 dagar. Detta kan jämföras med tillväxt i osteogen media som först efter 28 dagar visade på mineralisering av ECM (Potu et al., 2009b).

Effekten av etanolextrakt av CQ på en osteoblastisk cellinje från gnagare (MC3T3-E1), som visat sig ha förmågan att mineralisera på ett sätt som påminner om benformationen *in vivo*, stärker tidigare resultat av försök *in vitro*. En dosering på CQE 0,05 mg/ml ökade ALP-aktiviteten med ungefär 30 % och 0,1 mg/ml ökade aktiviteten med 80 %. Vid försökets tredje vecka hade kontrollodlingen endast bildat få mineraliserade noder, medan de CQE-behandlade cellerna hade utvecklat utbredda mineraliserade noder. Dock visade det här försöket, i motsats med tidigare försök (Potu et al., 2009b), att CQ inte har någon påverkan på osteoblastdifferentiationen. Med hjälp av transkriptionsfaktorerna Cbfa1 (core-binding factor 1) och OSX (osterix), som är specifika för osteoblaster, och OC (osteocalcin), som är en sen osteoblastisk markör, kunde man visa att genuttrycken inte skilde sig mellan de olika odlingarna (Parisuthiman et al., 2009).

In utero

Petroleum-eter extrakt av CQ i dosen 500 mg/kg oralt per dag, från dag 9 av dräktigheten till förlossning, hos dräktiga råttor ger avkommor med mer utvecklade humerus, radius, ulna, femur, tibia och fibula. Skelettet hos avkommornas fram och bakben blir förbenade till en högre grad än hos kontrollgruppens avkommor (Potu et al., 2008). Ett etanolextrakt i dosen 750 mg/kg oralt från dräktighetens 9e dag till förlossning, gav en ökad tjocklek av det kortikala benet (mätt mellan periosteum och endosteum) med 148 %, och av den individuella trabeklen med 104 %, jämfört med kontrollgruppens avkommor (Rao et al., 2007).

NSAID-inducerade ulcerationer

NSAID (Non Steroidal Antiinflammatory Drugs) inhiberar enzymet cyclooxygenas, vilket ger minskad produktion av prostaglandiner och som i sin tur försämrar magskyddet och leder till magsår. Aspirininducerade lesioner i magslemhinnan hos råttor minskar kraftigt vid förbehandling i 7 dagar med CQE 500 mg/kg oralt. Gastroprotektiva effekter såsom minskad volym magsaft, minskad syra- och pepsinssekretion, och minskad proteinhalt i magsaften noterades. Hög proteinhalt i magsaften är en indikator på dåligt slemhinneskydd där slemhinnan tagit skada och läckt proteiner ut i magsaften. En signifikant ökning av pH, halten glykoproteiner och kolhydrat:protein-ration sågs också som positiva effekter. Non protein sulphhydryl (NPSH), som minskar produktionen av fria syreradikaler, ökade även signifikant. Vid bara behandling med CQE, utan att ha inducerat magsår, visades en signifikant ökning av magslemhinnans skyddande slemhinnelager (Jainu et al., 2006b).

Histologiskt sågs epitelnöbildning, körtelorganisation, komplett slemlager och minskad storlek på ulcerkratrar hos den förbehandlade gruppen. Hos den obehandlade magsårsgruppen

såg större ulcerkratrar med oorganiserade körtlar, skadat epitel och inflammatoriskt exsudat innehållande cellulär debris (Jainu et al., 2006a; Jainu et al., 2006b).

Biokemiska blodprovsanalyser visade på en sänkning av TNF- α (Tumor Necrosis Factor), IL-1 β (Interleukin) och NOS-2-aktivitet hos förbehandlad grupp. Vävnadsskada kan påvisas genom sänkta nivåer av Glutathione (GSH), Superoxid dismutas (SOD) och Katalas (CAT), och en ökning av lipid peroxidation (LPO). Förbehandling med CQE motverkade dessa förändringar. Den magsårsinducerade DNA-fragmenteringen i magslemhinnans mukosa var kraftigt reducerad hos den förbehandlade gruppen. Vid bara behandling med CQE, utan inducerat magsår, sågs en ökning av GSH i mitokondrien (Jainu et al., 2006a).

I en annan studie administrerades CQE 25 mg/kg och 50 mg/kg dagligen i 5 dagar som förbehandling till råttor som sedan fått aspirininducerade magsår. Förbehandlingen gav signifikant skyddande effekter. Som jämförelse gav man Omeprazole 10 mg/kg oralt istället för CQE. Effekten hos CQE visade sig vara dosberoende och gav då bättre effekt vid 50 mg/kg där det gav ett skydd på 79,1 % jämfört med Omeprazoles skydd på 71,5 %. CQE ökade koncentrationen av de antiinflammatoriska cytokinerna IL-10 och IL-4 och sänkte koncentrationen av de proinflammatoriska cytokinerna IL-1 β , IL-6, TNF- α och IFN- γ (Interferon). Tillväxtfaktorerna TGF- α (Transforming Growth Factor) och VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) höjdes mer av CQE än Omeprazole. Detta är viktigt för läkningen då TGF- α stimulerar proliferation av mukosaceller, restoration av bindväv samt angiogenes i skadad mukosa, och inhiberar magsekretion. VEGF har liknande effekter, men är mer specifik för vaskulärt endotel och promotar endotelproliferation och migration. CQE ökade även PGE₂-produktionen (Prostaglandin) mer än Omeprazole, som bara höjde koncentrationen marginellt. Dock sänkte Omeprazole koncentrationen av NO (Nitric Oxide), som aktiverar makrofager men vid högre koncentrationer blir en nyckelmediator vid vävnadsskada, mer än CQE (Jainu et al., 2008).

I en jämförelsestudie med Sukralfat (antiulcusläkemedel) fick råttor metanolextrakt av CQ i doserna 250 mg/kg, 500 mg/kg, 1000 mg/kg eller Sukralfat 100 mg/kg i 3, 7 eller 10 dagar. Magsår inducerades med Indomethacin (NSAID) 50 mg/kg som gavs på dag 3, 7 eller 10. Den optimala dosen visade sig vara 500 mg/kg CQE i 10 dagar, men Sukralfat 100 mg/kg var mer än dubbelt så effektivt vad gällde minskning av lesioner. Dock sänkte CQE signifikant proteinkoncentrationen i magsaften, ökade kolhydratskoncentrationen, tenderade att öka mucinaktiviteten (Sukralfat gav en signifikant ökning) och sänkte DNA-koncentrationen i magsaften signifikant (jämförbart med Sukralfat). Man såg även en signifikant ökning av glykoproteiner i mukosan (Jainu et al., 2004).

Fettförbränning och förbättring av blodvärden

Försökspersoner, av båda kön, med ett BMI mellan 25,0 och 48,7 fick gå på en begränsad diet (2100 kcal/dag) och oralt inta 2 doser på 150 mg CQE eller overksam substans (kontrollgrupp) i 6 veckor. Se tabell 1.1 för resultat.

Tabell 1.1. Effekt av CQE på viktminskning och blodvärden (efter Oben et al., 2007).

Parameter	Sänkning (%)	
	CQE	Placebo
Kroppsvikt	4,0	1,1
BMI	5,4	0,02
Fettprocent	4,7	1,8
Totalkolesterol (plasma)	18,0	+1,5*
LDL-kolesterol (plasma)	29,0	0,03
HDL-kolesterol (plasma)	+21,1*	6,5
Triglycerider (plasma)	21,7	3,4
Fastande blodglukos (plasma)	14,6	4,5
MDA** (plasma)	37,5	5,5
Serotonin (plasma)	53,3	17,0
Kreatinin (plasma)	23,5	6,2

* Obs ökning.

** Malondialdehyde - en markör för oxidativ stress.

I en annan studie fick försökspersonerna rekommendationen att inte göra några förändringar i varken diet eller fysisk aktivitet, och oralt inta 2 doser på 150 mg CQE eller överksam substans (kontrollgrupp) om dagen i 10 veckor. Se tabell 1.2 för resultat.

Tabell 1.2. Effekt av CQE på viktminskning och blodvärden (efter Oben et al., 2008)

Parameter	Sänkning (%)	
	CQE	Placebo
Kroppsvikt	8,8	2,1
Fettprocent	14,6	4,0
Midjemått	8,6	1,0
Totalkolesterol (plasma)	27,0	2,2
LDL-kolesterol (plasma)	20,2	3,0
Fastande blodglukos (plasma)	14,8	2,6

I en annan studie fick kastrerade honråttor petroleum-eter extrakt av CQ i dosen 500 mg/kg oralt dagligen i tre månader. Dessa råttor gick upp signifikant mindre i vikt än kontrollgruppen under försöksperioden. Födötillgången var lika stor och av samma sort för båda grupperna (Potu et al., 2009a).

Analgetisk verkan

Smärtlindrande förmåga hos CQ har undersökts på flera vis. Intraperitonell injektion av ättiksyra ger smärta centralt via kemosensitiva nociceptorer och perifert genom utsläpp av bradykinin, histamin, prostaglandin och serotonin. Smärtan uttrycks som smärtryck och inhibering av dessa ryck genom behandling av CQE har visats genom ett flertal studier, där

man även jämfört effekten med kända smärtlindrande preparat som Aspirin och Indomethacin. I tabell 2.1 ses resultatet av de olika försöken.

Tabell 2.1. Smärtinhibering med hjälp av CQE och Aspirin hos råtta (1) (efter Panthong et al., 2007), CQE och Indomethacin hos mus (2) (efter Mate et al., 2008) och CQE och Aspirin hos mus (3) (efter Swamy et al., 2006) vid intraperitonell injektion av ättikssyra.

Försök	Preparat	Dosering (mg/kg)	Inhibering (%)
1	Aspirin	300	66
	CQE	10	34
		20	57
		40	72
2	Indomethacin	10	73
	CQE	250	48
		350	61
3	Aspirin	100	81
	CQE	50	44
		100	61
		200	84

Injektion av formalin i tassen på råtta ger upphov till en tidig fas av neurogen central smärta och en senare fas av perifer inflammatorisk smärta. Ett ihärdigt slickande på tassen ses vid smärta. Den tidiga fasen mättes från injektion och 5 min framåt, och den sena 15 min efter injektion och 15 min framåt. Resultaten jämfördes med traditionella läkemedel och ses i tabell 2.2.

Tabell 2.2. Smärtinhibering med hjälp av CQE och Aspirin hos råtta (1) (efter Panthong et al., 2007) och CQE och Pentazocine hos mus (2) (efter Mate et al., 2008) vid formalininjektion i tass.

Försök	Preparat	Dosering (mg/kg)	Inhibering (%)	
			Tidig fas	Sen fas
1	Aspirin	300	28	96
	CQE	10	22	33
		20	36	53
		40	47	68
2	Pentazocine	10	77	85
	CQE	250	58	81
		350	71	84

Ett svans-snärt-test hos möss påvisade ytterligare den centralt analgetiska verkan av CQ. Svansen doppades i 55 gradigt vatten och tiden som det tog innan mössen drog tillbaka den

ökade signifikant vid behandling med CQ. Som jämförelse användes Pentazocine 10 mg/kg ip. Maximal analgetisk effekt visades efter 60 min och var dosbaserad. CQE 200 mg/kg kunde jämföras med Pentazocine 10 mg/kg efter 60 min. CQE 200 mg/kg jämfört med kontrollen ökade reaktionstiden med 45 % efter 15 min, 117 % efter 30 min och 145 % efter 60 min (Swamy et al., 2006).

En 55-gradig varm platta användes för att kontrollera central analgesi som medieras genom opioidreceptorer. Möss som placeras på plattan reagerar genom att hoppa, dra tillbaka tassarna och slicka på dem. Pentazocine 10 mg/kg ip användes som jämförelse. Se tabell 2.3.

Tabell 2.3 – Smärtinhibering med hjälp av CQE och Pentazocine hos möss vid placering på varmt underlag (efter Mate et al., 2008)

Preparat	Dosering (mg/kg)	Inhibering (%)		
		30min	60min	90min
Pentazocine	10	60	71	72
CQE	250	41	57	64
	350	53	66	68

Antiinflammatorisk effekt

Öronödem hos råttor som inducerats genom topikal administrering av Ethyl Phenylpropiolate minskade kraftigt vid tidigare topikal administrering av metanolextrakt av CQ. Som jämförelse gavs en grupp Fenylbutazone 1.0 mg/öra. Se Tabell 3.1.

Tabell 3.1 – Ödemminskning med hjälp av CQE och Fenylbutazone hos råttor efter ödemindektion med Ethyl Phenylpropiolate (efter Panthong et al., 2007).

Preparat	Dosering (mg/öra)	Inhibering (%)			
		15min	30min	60min	120min
Fenylbutazone	1,0	68	62	61	58
	0,5	48	30	32	37
CQE	1,0	52	39	46	51
	2,0	70	57	58	62

Carrageenin-inducerat tassödem hos råttor minskade kraftigt vid oral tillförsel av CQ. Som jämförelse gavs Aspirin. Se Tabell 3.2.

Tabell 3.2 – Ödemminskning med hjälp av CQE och Aspirin hos råttor efter ödeminduktion med Carrageenin (efter Panthong et al., 2007).

Preparat	Dosering (mg/kg)	Inhibering (%)		
		60min	180min	300min
Aspirin	300	82	73	66
	75	41	31	30
CQE	150	56	43	41
	300	72	55	49

Arachidonsyra-inducerat tassödem hos råttor minskade kraftigt vid oral tillförelse av CQ 2 h innan injektion av arachidonsyra, jämfört med kontroll. Som jämförelse gavs Aspirin och Phenidone (en inhibitor av arachidonsyrametabolismen). Se Tabell 3.3.

Tabell 3.3 – Ödemminskning med hjälp av CQE, Aspirin och Phenidone hos råttor efter ödeminduktion med Arachidonsyra (efter Panthong et al., 2007).

Preparat	Dosering (mg/kg)	Inhibering (%)
Aspirin	300	8
Phenidone	40	44
	75	19
CQE	150	28
	300	38

Övriga effekter

Neurogena effekter

Cissus Quadrangularis Linn och dess sedetativa effekt har undersökts genom Spontan Motor Aktivitet (SMA) där aktiviteten mättes i 10 min. Detta gjordes 30 min efter medicinering och upprepades var 30e minut till 120 min hade gått. Aktiviteten hos behandlade råttor minskade kraftigt. Resultatet jämfördes med administrering av Diazepam 1 mg/kg ip inj och ses i Tabell 4.1.

Tabell 4.1 - Minskad aktivitet hos råttor efter behandling med CQE och Diazepam (efter Swamy et al., 2006).

Preparat	Dosering (mg/kg) ip inj	Minskad aktivitet (%)			
		30min	60min	90min	120min
Diazepam	1	92	95	96	98
CQE	50	77	81	80	82
	100	85	89	93	86
	200	91	95	96	96

Den CNS-lugnande effekten visades tydligt då behandlade möss placerades framför en bräda med 16 lika stora hål, för att undersöka mössens utforskningsbeteende. Under 3 min noterades antal gånger som försöksdjuren kikade genom hålen. Resultatet visas i Tabell 4.2.

Tabell 4.2 - Minskat utforskningsbeteende vid behandling med CQE och Diazepam hos möss (efter Swamy et al., 2006).

Preparat	Dosering (mg/kg) ip inj	Minskat antal hålkik (%)	
		30min	60min
Diazepam	1	70	92
CQE	50	35	57
	100	49	81
	200	65	95

Koordinationen hos behandlade möss försämrades kraftigt. Detta visades tydligt då man placerade försöksdjuren på en horisontellt roterande apparat som snurrade i 16 varv/min. Mössen som ingick i studien hade tidigare fått testa apparaten och var tvungna att klara sig kvar i minst 3 min för att bli utplockade till nämnda studie. Se tabell 4.3.

Tabell 4.3 - Försämrad koordination vid behandling med CQE och Diazepam hos möss (efter Swamy et al., 2006).

Preparat	Dosering (mg/kg) ip inj	Försämrad koordination (%)			
		30min	60min	90min	120min
Diazepam	1	82	75	52	53
CQE	50	61	58	37	27
	100	66	64	39	33
	200	76	68	40	41

Inducerad sömn med Pentobarbital och Diazepam påverkas av CQE genom att potentiära Pentobarbitals (Natriumpentobarbitone 40 mg/kg ip inj) och Diazepams (50 mg/kg) effekt kraftigt. Tiden till insomnande och sovtid användes som parametrar på detta och ses i tabell 4.4.

Tabell 4.4 – Minskad insomningstid och ökad sovtid vid behandling med CQE och Diazepam vid Pentobarbital-inducerad sömn (1) (efter Swamy et al., 2006), och behandling med CQE vid Diazepaminducerad sömn (2) (efter Bum et al., 2008).

Försök	Preparat	Dosering (mg/kg)	Minskad insomningstid (%)	Ökad sovtid (%)
1	Diazepam	1	42	130
	CQE	50	28	73
		100	38	81
		200	41	125
2	CQE	1000	62	1370

Kramphämmande och antiepileptiskt

I en studie a Bum et al (2008) lyckades man påvisa de kramphämmande och antiepileptiska egenskaperna hos CQ. Induktion av epileptiska anfall, kramper och vändreflexer hos möss genom elektrochocker och injektioner av NMDA (N-metyl-D-aspartate), Strykninnitrat, Pentylenetertrazol och Isonicotinic hydrazid syra, med samtidig behandling av CQ vattenextrakt visade på tydliga kramphämmande och antiepileptiska effekter. Doser på 100, 200, 500, 1000 och 2000 mg/kg gavs oralt 1 h innan respektive test. Den negativa kontrollen fick destillerat vatten. Resultaten från studien redovisas nedan.

Elektrochocker användes för att framkalla en tonisk extension på bakbenen. Positiv kontroll fick Diazepam 5 mg/kg ip. Diazepam skyddade försöksdjuren helt från elektrochockerna, medan CQE 1000 mg/kg gav ett skydd på 50 %.

NMDA (N-metyl-D-aspartate) 75 mg/kg sc inj ger ett vändbeteende där musen snurrar 360grader. Två snurrar på 360 grader hos samma mus under 30 min ses som ett positivt test. Positiv kontroll fick D-AP7 (d-2-amino7-phosponoheptanoate) 33 nmol/kg och skyddades helt från vändbeteendet. CQE 100 mg/kg gav 50 % skydd, 200 mg/kg och 500 mg/kg gav båda 83,3 % skydd. Dosen på 1000 mg/kg gav fullständigt skydd.

Strykninnitrat 2,5 mg/kg ip inj leder till kramper och död hos möss. Mössen sågs som skyddade om de överlevde i 10 min. Positiv kontroll fick Klonazepam 3 mg/kg och skyddade mössen helt. CQE 200 mg skyddade 33 %, 500 mg/kg skyddade 66 % och 1000 mg/kg skyddade helt.

Pentylenetetrazol (PTZ) 70 mg/kg injiceras ip och ger kloniska anfall. Positiv kontroll fick Klonazepam 0,1 mg/kg och skyddade helt mot PTZ-inducerade anfall. CQE 100 mg/kg, 200 mg/kg och 500 mg/kg skyddade 50 % av mössen, medan 1000 mg/kg skyddade helt.

Isonicotinic hydrazide acid 250 mg/kg ip inj ger kloniska och toniska anfall. Tid innan inträdande av anfall var parametern som mätte effekten hos preparaten. Positiv kontroll fick

Diazepam 10 mg/kg och fick anfall efter 76+-5min. Kontrollgruppen som bara fått destillerat vatten fick anfall efter 39+-2min. Gruppen som fått CQE 2000 mg/kg fick anfall efter 70+-11min.

Kärlkontraherande

Studier på huruvida CQ har en läkande effekt på hemorrojder har inte funnits att tillgå, men man har visat att CQE kontraherar vaskulär glatt muskulatur genom att sänka ned en mänsklig navelsträng i bad som innehöll CQE i koncentrationerna 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml och 0,4 mg/ml. En koncentrationsbaserad ökad effekt visades. Daflon är ett läkemedel som används för att behandla hemorrojder, och CQE 0,4 mg/ml visade på samma kontraktionskraft som Daflon 0,4 mg/ml (Panthong et al., 2007).

Antibakteriell effekt

En tydligare inhibitorisk effekt på grampositiva bakterier såsom *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* och *Streptococcus species*, än gramnegativa bakterier som *Pseudomonas aeruginosa* och *Escherichia coli* som visade hög resistens, har visats i experiment utförda *in vitro*. Dock visades en generellt låg inhibitorisk effekt överlag (Chidambara et al., 2003).

Toxicitet

Attawish et al (2002) har gjort en omfattande studie på toxiciteten hos CQ, men till skillnad från alla studier som använt sig av extrakt, har de använt sig av torkat stampulver som administrerats oralt. De använde sig av 5 grupper av råttor där grupp 1 var kontroll och bara fick vatten. Studien nämner att den terapeutiska dosen är 30 mg/kg, men hänvisar inte till någon källa där detta utreds närmare. Försöksgruppernas doseringar baseras än dock på detta och ges i 1, 10 och 100 gånger terapeutiska dosen. Grupp 2 fick 30 mg/kg, grupp 3 fick 300 mg/kg och grupp 4 och 5 fick 3000 mg/kg av torkat stampulver oralt. Grupp 5 var återhämningsgrupp. Efter 3 månaders behandling fastades grupp 1-4 i 18h, blodprover togs och djuren avlivades. Grupp 5 fick återhämta sig i 14 dagar innan proceduren upprepades med dem.

Blodprovsanalyser gjordes på hematokrit, hemoglobin, erytrocythalt (RBC), medelcellvolymen (MCV), medelcell hemoglobinkoncentration (MCHC), red cell distribution width (RCDW), halt vita blodkroppar (WBC), halt neutrofiler, halt lymfocyter, halt monocyter, halt eosinofiler, halt basofiler, halt blodplättar, blodplättsvolym (MPV), plateletcrit (PCT), platelet distribution width (PDW) och retikulocyter.

Biokemisk analys av serum gjordes på Alkaline Phosphatase (ALP), Alanine Aminotransferase (ALT), Aspartate Aminotransferase (AST), Blood Urea Nitrogen (BUN), P-amylas,

totalprotein, albumin, bilirubin, kreatinine, glukos, urinsyra, triglycerider, kolesterol, natrium, kalium och klorid.

Position, form, storlek och färg noterades hos alla interna organ som sedan samlades in och vägdes, lades i formalin och snittades för att sedan undersökas av en veterinärpatolog.

Det man fann var att hanliga råttor signifikant, men inom normalvärdena, hade lägre halt basofil jämfört med kontrollgruppen. Hanliga råttor som fick högsta dosen på 3000 mg/kg hade signifikant lägre halt monocyter och retikulocyter, men även dessa inom normalvärdena. Honliga råttor hade signifikant högre halt eosinofiler, men inom normalvärdena. Hos återhämningsgruppen sågs hög halt neutrofiler och låg halt basofiler hos hanar, och hög halt eosinofiler och låg MCHC hos honor, men allt detta inom normalvärdena. Hanliga råttor i återhämningsgruppen hade även en hög halt av bilirubin och låg halt urinsyra i serum, men detta var också inom normalvärdena.

Vid undersökning av interna organ hittades inga abnormaliteter. Histopatologisk undersökning visade inte på några lesioner i spottkörtlar, mjälte, pankreas eller tarmar. Peribronkulär lymfoid aggregation var lägre hos behandlade djur än hos kontroller, men denna återgick hos återhämningsgruppen. Hos behandlade hanliga råttor minskade fettdegenerationen i binjurarna signifikant, men det återgick vid återhämtning.

Andra studier har visat att inga förgiftningar, kliniska symtom, mortalitet eller patologiska förändringar på organ uppkommer vid doser upp till 5000 mg/kg vid oral administrering (Jainu et al., 2005; Shirwaikar et al., 2003; Potu et al., 2009; Jainu et al., 2004). Studier på dräktiga råttor har inte heller visat på några kliniska abnormaliteter hos de försöksdjur som fått 500 mg/kg dagligen från dag 9 till förlossning. (Potu et al., 2008). Inte heller 750 mg/kg dagligen från dag 9 till förlossning, har gett någon dödlighet eller kliniska symtom. Ingen mortalitet har uppträtt hos de nyfödda (Rao et al., 2007).

Vid intraperitonell injektion verkar det dock finnas en allvarligare toxicitet. Dödlig dos för 50 % av försöksdjuren (LD50) hos möss har visats vara 1000 mg/kg vid intraperitonell injektion (Swamy et al., 2006). Parisuthiman et al (2009) visade att CQE 0,5 mg/ml och 0,2 mg/ml hade en cytotoxisk effekt på tillväxt hos den osteoblastiska cellinjen MC3T3-E1.

DISKUSSION

Litteraturöversikten har visat att *Cissus Quadrangularis* Linn har en experimentellt bevisad effekt i sina traditionella användningsområden. De frakturläkande effekterna torde ha samma mekanism och effekt som de studier man gjort *in vivo*, *in vitro* och *in utero*, där en ökad ALP-aktivitet leder till ökad nybildning av ben. Det ökade magskyddet ihop med analgetisk och antiinflammatoriska effekter har hjälpt vid magbesvär. Den analgetiska verkan vid behandling av ögon och öronsjukdomar går att extrapolera från alla de analgetiska experiment som redovisats. De kärilkontraherande, antiinflammatoriska och analgetiska effekterna har hjälpt

vid hemorrojder. Den höga halten av C-vitamin botar och förebygger skörbjugg. Vad för menstruella besvär som behandlats framgår inte, men värk i samband med menstruation lindras av den analgetiska verkan och ev menstruella störningar kan lindras av växtens fytoöstrogener.

Fler effekter som redovisats i litteraturöversikten, men som inte nyttjats traditionellt, är de kramplösande, antiepileptiska, neurogena, fettförbrännande och svagt antibakteriella egenskaper hos CQ. En viktig effekt som påvisats är potentieringen av Pentobarbital- och Diazepaminducerad sömn. Potentieras effekten oavsiktligt kan det vara till skada och vara rentav livsfarligt för patienten, men utnyttjar man den potentierande effekten så finns det möjlighet att minska läkemedelsbruket och därmed även biverkningarna.

I Sverige nyttjas CQ som bekant främst för att förebygga, lindra och läka ledsador och ledvärk. Den analgetiska och antiinflammatoriska effekten spelar högst troligen in, men frågan är om den rekommenderade dosen och sammansättningen är tillräcklig för att ge en effekt. I det billigaste extraktet på marknaden just nu rekommenderas ett dagligt oralt intag på 2000 mg. Extraktet har som enda parameter halten 3-ketosteron och är standardiserat till 20 % 3-ketosteron, medan de extrakt som använts i studier på analgesi och antiinflammatorisk verkan inte har varit standardiserade. Det är därför svårt att dra en slutsats om en möjlig faktisk verkan, som inte är ren placebo. Däremot har Oben et al (2007) och Oben et al (2008) använt sig av ett extrakt som varit standardiserat till 2,5 % ketosteroider när de undersökt extraktets verkan på fettförbränning. Vilka ketosteroner som ingått i dessa 2,5 % är inte känt, men utgår man från doserna på 300 mg CQE och jämför med 2000 mg som rekommenderas ovan, så ingår högst troligen den mängden ketosteroider som visat sig ha effekt experimentellt.

Innan man sprider örten på marknaden så måste fler studier göras. Det behövs fler toxicitetsstudier, på fler djurslag, däribland människa. Den befintliga toxstudien (Attawish et al., 2002) gjordes med torkat stampulver, medan övriga studier har gjorts med extrakt av växten. Det är därför svårt att dra fullständiga slutsatser om toxiciteten. Effektstudier på olika djurslag behövs då farmakodynamik och farmakokinetik kan skilja sig mellan olika arter och raser. Studier på lägsta effektiva dos för att optimera behandlingen. Fler studier på vad växten innehåller och vilka av komponenterna som är viktiga för en specifik indikation, dvs om ett extrakt av en eller flera komponenter istället för ett extrakt av hela växten kan ge bättre effekt. Studier på hur extraktionstekniken skall optimeras för att göra extraktet så innehållsrikt som möjligt. Det behövs även fler interaktionsstudier med läkemedel, naturläkemedel och kosttillskott. Som det är nu har man bara påvisat en potentiering av effekten hos Pentobarbital och Diazepam. Eventuella överkänslighetsstudier måste också göras. I de studier som gjorts på benbildning har man inte haft någon kontrollgrupp som bara fått CQE. Detta måste göras för att utesluta risken för att normalt ben utvecklas onormalt pga den stimuleringen som extraktet ger.

I redovisade studier har CQ visat sig vara jämförbar med flera olika traditionella västerländska läkemedel. Samtidigt visar toxicitetsstudier att CQ har väldigt låg toxicitet,

medan de traditionella läkemedlen har många och i vissa fall allvarliga bieffekter. Vissa blodvärden sänktes vid behandling med örtextraktet, men då dessa värden fortfarande låg inom normalvärdena kan denna negativa påverkan bortses ifrån. De neurogena effekterna och toxiciteten som påvisats vid intraperitonell administrering måste dock tas i beaktande, men det finns helt klart en plats för CQ i den moderna västerländska läkekonsten. Jag tror att det mest är en fråga om tid innan vi ser ett preparat med *Cissus Quadrangularis* Linn på marknaden.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Attawish, A., Chavalittumrong, P., Chivapat, S., Chuthaputti, A., Rattanajarasroj, S., Punyamong, S. (2002). Subchronic toxicity of *Cissus Quadrangularis* Linn. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 24(1), 39-51.
- Bum, E.N., Ngoupaye, G.T., Talla, E., Dimo, T., Nkantchoua, G.C.N., Pelanken, M.M., Taiwe, G.S. (2008). The anticonvulsant and sedative properties of stems of *Cissus quadrangularis* in mice. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(3), 42-47.
- Chidambara Murthy, K. m.fl., 2003. Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Cissus quadrangularis* L. *Journal of Medicinal Food*, 6(2), 99-105.
- Jainu, M. & Devi, C.S.S., 2004. Effect of *Cissus quadrangularis* on gastric mucosal defensive factors in experimentally induced gastric ulcer-a comparative study with sucralfate. *Journal of Medicinal Food*, 7(3), 372-376.
- Jainu, M. & Devi, C.S.S., 2006a. Gastroprotective action of *Cissus quadrangularis* extract against NSAID induced gastric ulcer: Role of proinflammatory cytokines and oxidative damage. *Chemico-Biological Interactions*, 161(3), 262-270.
- Jainu, M., Vijai Mohan, K. & Shyamala Devi, C.S., 2006b. Gastroprotective effect of *Cissus quadrangularis* extract in rats with experimentally induced ulcer. *The Indian Journal of Medical Research*, 123(6), 799-806.
- Jainu, M. & Mohan, K.V., 2008. Protective role of ascorbic acid isolated from *Cissus quadrangularis* on NSAID induced toxicity through immunomodulating response and growth factors expression. *International Immunopharmacology*, 8(13-14), 1721-1727.
- Jainu, M. & Shyamala Devi, C.S., 2005. Attenuation of neutrophil infiltration and proinflammatory cytokines by *Cissus quadrangularis*: a possible prevention against gastric ulcerogenesis. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 5(3), 33-42.
- Mate, G. m.fl., 2008. Evaluation of anti-nociceptive activity of *Cissus quadrangularis* on albino mice. *International Journal of Green Pharmacy*, 2(2), 118.
- Oben, J.E., Enyegue, D.M. m.fl., 2007. The effect of *Cissus quadrangularis* (CQR-300) and a *Cissus* formulation (CORE) on obesity and obesity-induced oxidative stress. *Lipids in Health and Disease*, 6, 4-4.

- Oben, J.E., Ngondi, J.L. m.fl., 2008. The use of a *Cissus quadrangularis*/*Irvingia gabonensis* combination in the management of weight loss: a double-blind placebo-controlled study. *Lipids in Health and Disease*, 7, 12-12.
- Panthong, A. m.fl., 2007. Analgesic, anti-inflammatory and venotonic effects of *Cissus quadrangularis* Linn. *Journal of Ethnopharmacology*, 110(2), 264-270.
- Parisuthiman, D. m.fl., 2009. *Cissus quadrangularis* extract enhances biomineralization through up-regulation of MAPK-dependent alkaline phosphatase activity in osteoblasts. *In Vitro Cellular & Developmental Biology. Animal*, 45(3-4), 194-200.
- Potu, B.K., Rao, M.S. m.fl., 2009a. Evidence-based assessment of antiosteoporotic activity of petroleum-ether extract of *Cissus quadrangularis* Linn. on ovariectomy-induced osteoporosis. *Upsala Journal of Medical Sciences*, 114(3), 140.
- Potu, B.K., Bhat, K.M. m.fl., 2009b. Petroleum Ether Extract of *Cissus Quadrangularis* (Linn.) Enhances Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Proliferation and Facilitates Osteoblastogenesis. , 64(10), 993-998.
- Potu, B.K. m.fl., 2008. Petroleum Ether Extract of *Cissus Quadrangularis* (LINN) Stimulates the Growth of Fetal Bone during Intra Uterine Developmental Period: A Morphometric Analysis. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*, 63(6), 815-820.
- Rao MS, Potu BK, Swamy NVB, Kutty GN. 2007. *Cissus quadrangularis* plant extract enhances the development of cortical bone and trabeculae in the fetal femur. *Pharmacologyonline*. 2007;3:190–202
- Shirwaikar, A., Khan, S. & Malini, S., 2003. Antiosteoporotic effect of ethanol extract of *Cissus quadrangularis* Linn. on ovariectomized rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 89(2-3), 245-250.
- Swamy, V.A.H.M., Thippeswamy, A.H.M., Manjula, D.V., Kumar, M.C.B. (2006). Some neuropharmacological effects of the Methanolic Root Extract of *Cissus Quadrangularis* in Mice. *African Journal of Biomedical Research*, 9, 69-75.