

## بررسی اثرات قلبی و عروقی عصاره خیسانده میوه زرشک بر رت‌های مبتلا به فشارخون بالا و مکانیسم‌های احتمالی آن

دکتر زهرا فاتحی حسن آباد \*

احمد قربانی<sup>۱</sup> - محمد فاتحی<sup>۲</sup>

اثرات عصاره آبی میوه زرشک بر فشارخون رت‌های بیهوش مبتلا به هیپرتانسیون و نیز بر پاسخ انقباضی بستر عروقی مزاتر به پتاسیم کلرید مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، ۱۷ رت نر از نژاد اسپراگ داوولی با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم مورد بررسی قرار گرفتند. هیپرتانسیون با تزریق نمک دزکسی‌کورتیکواسترون استات (دوکا، ۲۰ mg/kg، زیر جلدی، دو بار در هفته و به مدت پنج هفته) و نیز جایگزینی آب آشامیدنی توسط محلول کلرید سدیم ۱ درصد ایجاد گردید. پس از پنج هفته، حیوانات با تیوپنتال سدیم (۳۰ mg/kg، به صورت داخل صفاقی) بیهوش شدند. سپس فشارخون شریانی به طریق مستقیم اندازه‌گیری شد. فشارخون متوسط شریانی در رت‌های مبتلا به فشارخون،  $231/4 \pm 6/4$  mmHg بود. تجویز داخل وریدی عصاره آبی میوه زرشک این فشار را کاهش داد. در یک سری دیگر از آزمایشات، بستر عروقی مزاتر از بدن حیوانات جدا شده و با کلرید پتاسیم (۴۰ mM) منقبض گردید. سپس غلظت‌های مختلفی از عصاره آبی اضافه شد که سبب کاهش اثرات انقباضی کلرید پتاسیم گردید. مجاورت بستر عروقی مزاتر با ایندومتاسین (به میزان ۵-۱۰ مولار به مدت ۲۰ دقیقه) و با نیتروال آرژنین متیل‌استر (۴-۱۰ مولار به مدت ۲۰ دقیقه) تغییری در پاسخ‌های زرشک ایجاد نکرد. نتایج حاضر بیانگر آن است که اثرات ضد فشارخون عصاره آبی زرشک، احتمالاً از طریق کاهش مقاومت کل عروق محیطی ایجاد می‌گردد. همچنین این اثر زرشک از طریق سنتز پروستاگلاندین‌ها و فعال شدن مسیر ال - آرژنین - نیتریک اکساید اعمال نمی‌گردد.

واژه‌های کلیدی: میوه زرشک؛ هیپرتانسیون؛ نیتریک اکساید؛ پروستاگلاندین و رت.

\* استادیار گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد فیزیولوژی دانشکده پرستاری مشهد

<sup>۲</sup> دانشیار فارماکولوژی دانشکده پزشکی مشهد

## مقدمه

فشارخون شریانی تحت تأثیر دو عامل برون‌ده قلب و مقاومت کل محیطی قرار دارد. این دو فاکتور نیز توسط عوامل متعددی از جمله عوامل عصبی و همورال کنترل می‌شوند (۱). تغییر هر کدام از این دو فاکتور به تنهایی و یا به همراه هم، سبب تغییر فشارخون می‌گردد. هیپرتانسیون یا افزایش فشارخون شریانی یکی از مهم‌ترین مشکلات جوامع پیشرفته بشری می‌باشد. شیوع هیپرتانسیون در نژاد سیاه بیشتر از سفید و همچنین در آقایان بیشتر از خانم‌ها می‌باشد، البته شیوع آن پس از یائسگی در خانم‌ها نیز مشابه آقایان می‌باشد.

تجربیات چند دهه اخیر نشان داده که داروهای صناعی با وجود کارایی غیرقابل انکار، اثرات نامطلوب زیادی نیز دارند. داروهای ضد فشارخون نیز از این قاعده مستثنی نیستند. لذا امروزه استفاده از گیاهان دارویی مجدداً مورد توجه قرار گرفته است و مراکز تحقیقاتی و سازمان بهداشت جهانی برنامه‌های وسیعی جهت استفاده از گیاهان دارویی تدارک دیده‌اند. در طب سنتی، میوه و گیاهان زرشک<sup>۱</sup> کاربرد وسیعی در درمان بیماری‌ها داشته (۲، ۳) و همچنین از میوه زرشک بعنوان یک ماده افزودنی به غذاها استفاده شده است. میوه زرشک حاوی مواد متعددی نظیر اسید مالیک، مواد پکتیک، مواد قندی و بربرین (۲، ۳) می‌باشد. از این گیاه در درمان اسهال، عفونت‌های چشمی، بیماران تب‌دار و مشکلات کلیوی استفاده شده است (۴، ۵، ۶). همچنین مطالعات اخیر (۷، ۸، ۹) اثرات ضد التهابی و ضد دردی این گیاه را نشان داده‌اند. شواهدی نیز مبنی بر اثرات کاهش‌دهنده فشارخون شریانی زرشک موجود است (۱۰، ۹). اغلب خواص زرشک به بربرین‌ها نسبت داده شده است (۱۱) اما تاکنون مطالعه‌ای جهت بررسی اثرات میوه زرشک در حیوانات دچار فشارخون شریانی صورت نگرفته است. بنابراین، در این مطالعه اثرات عصاره خیسانده میوه زرشک بر فشارخون موش‌های صحرایی مبتلا به فشارخون مورد بررسی قرار گرفته است. جهت پی‌بردن به مکانیسم‌های احتمالی اثرات این عصاره، بستر عروقی مزاتر ابتدا توسط کلرید پتاسیم منقبض گشته و سپس غلظت‌هایی از عصاره در حضور و در غیاب ایندومتاسین و نیترو - ال - آرژنین متیل استر به این بافت اضافه گشت.

## روش پژوهش

**طریقه تهیه عصاره خیسانده میوه زرشک:** پس از تهیه میوه زرشک و تمیز نمودن آن، ۱۰ گرم از میوه زرشک را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر خیسانده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید. سپس عصاره حاصل را صاف نموده و دوزهای متفاوتی از آن به حیوانات تزریق گردید. همچنین غلظت‌های مختلفی از این عصاره به بستر عروقی مزاتر منقبض شده، با کلرید پتاسیم اضافه شد.

**طریقه ایجاد هیپرتانسیون و اندازه‌گیری فشارخون شریانی:** در این مطالعه، از موش‌های صحرایی نر نژاد اسپراگ داوولی<sup>۲</sup> با وزن (۲۰۰ الی ۲۵۰ گرم) استفاده شد. حیوانات تا هنگام آزمایش در اتاقی با دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت  $55 \pm 5$  درصد و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند. تغذیه حیوانات با غذای استاندارد انجام می‌شد. هیپرتانسیون شریانی توسط تزریق دزکسی‌کورتیکواسترون‌استات (دوکا، ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن

1 . Berberis Vulgaris  
2 . Sprague Dawley

بدن بصورت تزریق زیرجلدی، هفته‌ای دو بار به مدت پنج هفته) به همراه جایگزینی آب معمولی با آب حاوی نمک طعام (یک درصد) ایجاد گردید (۱۲). در کل دوره آزمایش، حیوانات بطور آزادانه به غذا و آب دسترسی داشتند. پس از پنج هفته، حیوانات با تزریق تیوپنتال سدیم (۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان) بیهوش شده و پس از گذاشتن کانونول در شریان کاروتید و ورید جوگلار، ابتدا فشارخون اندازه‌گیری و سپس دوزهای مختلفی از عصاره (حداکثر با حجم ۰/۳ میلی‌لیتر) از طریق ورید به حیوانات تزریق شد. فشار متوسط شریانی طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{فشار متوسط شریانی} = \text{فشار دیاستولیک} + \text{یک سوم تفاوت فشار سیستولیک و دیاستولیک.}$$

**طریقه جدا نمودن بستر عروقی مزانتر:** قبل از باز نمودن شکم، به رت‌ها ۱۰۰۰ واحد هپارین از طریق ورید جوگلار تزریق شد. بستر عروقی مزانتر پس از باز کردن حفره شکم با یک برش، به شیوه توضیح داده شده در منبع شماره (۱۴) جدا شد. بستر عروقی مزانتر توسط یک کانونول که در شریان مزانتریک فوقانی قرار داشت، توسط کربس تغذیه گردید. محتویات کربس بر حسب میلی‌مولار به شرح زیر می‌باشد: کلرید سدیم (۱۱۸/۴)، کلرید پتاسیم (۴/۷)، منیزیم سولفات (۱/۲)، بیکربنات سدیم (۲۵)، گلوکز (۱۱/۱)، پتاسیم دی‌هیدروژن ارتوفسفات (۱/۲) و کلرید کلسیم (۲/۵). محلول کربس توسط اکسیژن (۹۵ درصد) و دی‌اکسید کربن (۵ درصد) گازدهی شده و به میزان ۲ میلی‌لیتر در دقیقه به مزانتر وارد می‌شد. برای جلوگیری از تجمع کربس در بشقابک حاوی بافت، مایع خارج شده از انتهای روده‌ای مزانتر با سرعت ۲ میلی‌لیتر در دقیقه به خارج تخلیه می‌شد. به مدت ۳۰ دقیقه به بافت‌ها اجازه داده شد که به شرایط موجود عادت نمایند. بافت‌ها توسط کلرید پتاسیم (به میزان ۴۰ میلی‌مولار) منقبض شده و غلظت‌های متفاوتی از عصاره به کربس اضافه شد. برای مشخص نمودن اثرات احتمالی پروستاگلاندین‌ها و نیتریک اکساید به ترتیب از ایندومتاسین (۱۰ میکرومولار) و L-NAME (۱۰۰ میکرومولار) استفاده گردید.

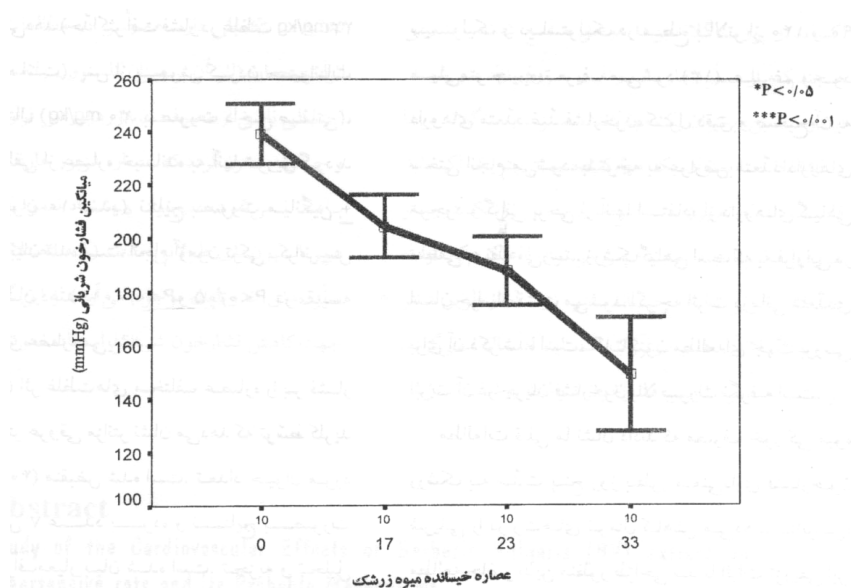
**داروهای مورد استفاده:** داروهای زیر در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند: دزکسی‌کورتیکواسترون استات (شرکت ایران هورمون)، ایندومتاسین، و نیترو آل آرژنین متیل‌استر (L-NAME) از شرکت سیگما، کلرید سدیم، کلرید پتاسیم، منیزیم سولفات، کربنات سدیم، گلوکز، پتاسیم دی‌هیدروژن ارتوفسفات و کلرید کلسیم از شرکت مرک و تیوپنتال سدیم از شرکت بیوشیمی<sup>۱</sup> اتریش تهیه گردید.

در این آزمایش، نتایج بر حسب میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده و P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به اثر عصاره بر فشار پرفوزیون بستر مزانتر از آزمون تی استیودنت و آنالیز داده‌های مربوط به تغییر فشارخون ANOVA یک سویه استفاده شد و به دنبال آن آزمون توکی-کرامر<sup>۲</sup> مورد استفاده قرار گرفت.

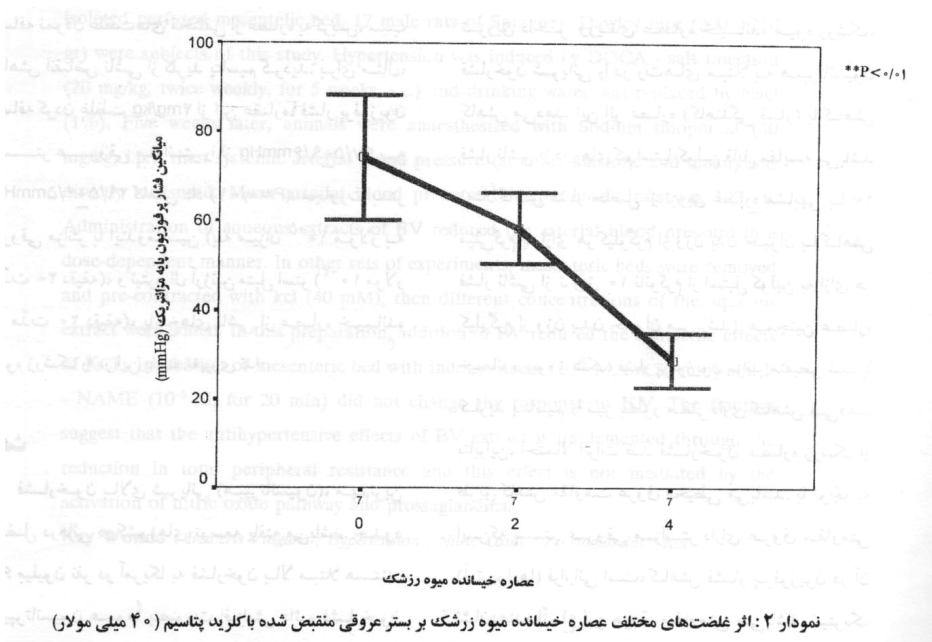
## یافته‌ها

تجویز عصاره خیس‌ساده میوه زرشک به حیوانات هیپرتانسیون (بیهوش شده توسط تیوپنتال سدیم) سبب کاهش فشارخون شریانی (سیستولیک، دیاستولیک و متوسط) گردید. برای مثال، تزریق داخل وریدی ۱۷ mg/kg عصاره، فشارخون را از  $231 \pm 6/4$  mmHg به  $200 \pm 0/7$  mmHg کاهش داد ( $P < 0/01$ ). نمودار (۱) اثر دوزهای مختلف عصاره را بر فشارخون متوسط شریانی رت‌ها نشان می‌دهد (حداکثر افت فشار در غلظت ۳۳ mg/kg ایجاد شده است).

1. Biochemie  
2. Tukey - Kramer



نمودار ۱: اثر دوزهای مختلف عصاره خیسانده میوه زرشک بر فشار خون متوسط شریانی.



نمودار ۲: اثر غلظت‌های مختلف عصاره خیسانده میوه زرشک بر بستر عروقی منقبض شده با کلرید پتاسیم (۴۰ میلی مولار).

پس از بیهوش کردن حیوانات توسط تیوپنتال (۳۰ mg/kg)، بصورت داخل صفاًتی، دوزهای مختلفی از عصاره خیسانده به آنها تزریق گردید (تعداد حیوان ۱۰ عدد). نتایج بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده است. انجام آزمون توکی - کرامر پس از ANOVA نشان دهنده  $P < 0/001$  و  $P < 0/05$  در مقایسه با قبل از تزریق عصاره می‌باشد.

شکل (۲) اثر غلظت‌های مختلف عصاره را بر فشار پرفوزیون بستر عروقی مزانتر نشان می‌دهد که توسط کلرید پتاسیم (۴۰ mM) منقبض شده است. تعداد حیوان مورد آزمایش ۷ عدد بوده و نتایج بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تی استیودنت نشان دهنده  $P < 0/01$ ، در مقایسه با قبل از تزریق عصاره می‌باشد. اضافه نمودن غلظت‌های مختلفی از عصاره به کریس، سبب کاهش انقباض ناشی از کلرید پتاسیم گردید. برای مثال، اضافه کردن غلظت ۴ mg/kg از این عصاره، فشار پرفوزیون بستر عروقی مزانتر را از  $67/5 \pm 9/6$  mmHg به  $67/5 \pm 4/5$  mmHg کاهش داد ( $P = 0/01$ ). مجاورت بستر عروقی مزانتر با ایندومتاسین (به میزان  $10^{-5}$  مولار به مدت ۲۰ دقیقه)، و نیترو ال آرژنین متیل استر ( $10^{-4}$  مولار به مدت ۲۰ دقیقه)، پاسخ‌های ناشی از عصاره خیسانده میوه زرشک را در این بافت تغییری نداد.

## بحث

فشارخون بالای شریانی (هیپرتانسیون)، مهم‌ترین معضل درمانی در کشورهای توسعه یافته می‌باشد. حدود ۶۰ میلیون نفر در آمریکا به فشارخون بالا مبتلا هستند. هیپرتانسیون عموماً بصورت افزایش دائم فشارخون سیستولیک و دیاستولیک در سطح بالاتر از ۱۴۰ و ۹۰ میلی‌متر جیوه تعریف می‌شود (۱۳). علیرغم وجود داروهای متعدّد ضدّ فشارخون، کنترل دقیق و صحیح آن به سختی انجام می‌شود. با توجه به عوارض متعدّد داروهای موجود و گرانی برخی از آنها استفاده از داروهای گیاهی منطقی به نظر می‌رسد. زرشک گیاهی است که به فراوانی در استان خراسان کشت می‌شود. اگر چه اثرات درمانی متعدّدی برای آن ذکر شده است، اما تاکنون مطالعه‌ای جهت بررسی اثرات آن در جریان فشارخون بالا صورت نگرفته است.

مطالعات قبلی ما نشان دادند که مصرف خوراکی میوه زرشک به مدت پنج روز بطور معنی‌داری فشارخون شریانی را در رت‌های نرمال کاهش می‌دهد. بنابراین، مطالعه حاضر بدین منظور طراحی شد تا اثرات تزریقی این عصاره را بر فشار شریانی در حیوانات دچار هیپرتانسیون بررسی نماییم. همانطور که در قسمت نتایج اشاره شد، تزریق داخل وریدی عصاره خیسانده میوه زرشک، فشارخون شریانی را در رت‌های مبتلا به هیپرتانسیون کاهش می‌دهد. این اثر عصاره (کاهندگی فشار) با کاهش فشار ناشی از دوزهای کم استیل‌کولین قابل مقایسه می‌باشد (مثلاً کاهش فشار حاصل از تزریق عصاره مشابهی با ۱۷ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن حیوان با کاهش فشار ناشی از تزریق ۱۰ نانوگرم از استیل‌کولین به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن حیوان می‌باشد). همچنین عصاره خیسانده میوه زرشک، فشار پرفوزیون مزانتر منقبض شده با کلرید پتاسیم را نیز بطور معنی‌داری کاهش می‌دهد. بنابراین، احتمالاً اثرات ضدّ فشارخون عصاره زرشک از طریق کاهش مقاومت عروقی محیطی می‌باشد. با توجه به این‌که بستر عروقی مزانتر دارای عروق مقاومتی (آرتریول‌ها) فراوانی است، کاهش فشار پرفوزیون در آن نشان‌دهنده اتساع این عروق مقاومتی می‌باشد. نیتریک اکساید و پروستاگلاندین‌ها عوامل متّسع‌کننده عروقی هستند که از سلول‌های اندوتلیال عروق آزاد می‌شوند. ایندومتاسین، بعنوان یک مهارکننده سنتز پروستاگلاندین‌ها و L-NAME بعنوان یک مهارکننده سنتز نیتریک اکساید قادر نبودند که تغییری در پاسخ‌های عصاره زرشک در بستر عروقی مزانتر

ایجاد نمایند؛ پس می‌توان ادعا کرد که اثرات ضد فشارخونی عصاره خیس‌انده میوه زرشک از طریق سنتز پروستاگلاندین‌ها و نیتریک اکساید اعمال نمی‌گردد. پی‌بردن به نحوه کاهش فشارخون توسط زرشک نیاز به تحقیقات تکمیلی دارد. همچنین در مطالعات آینده، دیگر اثرات عصاره (اثر آن بر میزان کلسترول پلاسما) و عوارض احتمالی ناشی از مصرف آن مورد بررسی قرار خواهد گرفت و چنانچه محرز گردد که عصاره مزبور عارضه نامطلوبی را باعث نمی‌شود، می‌توان پیشنهاد نمود که در جریان هیپرتانسیون‌های طولانی مدت (که اختلال در عملکرد سلول‌های آندوتلیال بوجود می‌آید) از این گیاه، می‌توان جهت کاهش فشارخون شریانی استفاده نمود.

## Abstract

### *Study of the Cardiovascular Effects of Berberis Vulgaris (BV) extract on hypertensive rats and its Probable Mechanisms*

In this study, we investigated the effects of Berberis vulgaris (BV) extract on blood pressure in anaesthetized hypertensive rats and also on responses of the rats' isolated perfused mesenteric bed. 17 male rats of Sprague - Dawley race (200 - 250 gr) were subjects of this study. Hypertension was induced by DOCA - salt injection (20 mg/kg, twice weekly, for 5 weeks, s.c.) and drinking water was replaced by Nacl (1%). Five weeks later, animals were anaesthetized with Sodium thiopental (30 mg/kg, i.p.), then systemic arterial blood pressure (systolic, diastolic and mean) was directly measured. Mean arterial blood pressure in hypertensive rats was 192±6. Administration of aqueous extracts of BV reduced the arterial blood pressure in a dose-dependent manner. In other sets of experiments, mesenteric beds were removed and pre-contracted with kcl (40 mM); then different concentrations of the aqueous extract were added. In this preparation, addition of BV reduced the contractile effects of KCL. Incubation of mesenteric bed with indomethacin (10<sup>-5</sup> M, for 20 min) and L - NAME (10<sup>-4</sup> M, for 20 min) did not change the response to B.V. The findings suggest that the antihypertensive effects of BV extract is implemented through the reduction in total peripheral resistance and this effect is not mediated by the activation of nitric oxide pathway and prostaglandins.

**Key Words :** *Berberis Vulgaris ; Hypertension ; Nitric Oxide ; Prostaglandin ; Rat.*

## منابع

- Berne, M. Levy, N. (2000). Principles of Physiology, third edition, Mosby, 237-245.
- زرگری. علی، گیاهان دارویی ایران، چاپ اول، تهران؛ مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۱۳۶۹ صص ۵۷۸-۵۷۴.
- میرحیدر. حسین، معارف گیاهی، جلد ششم، چاپ اول، تهران؛ نشر فرهنگ اسلامی، ۱۳۷۳ صص ۶۳-۳۵۸.
- Babbar, O.P; Chhatwal, V.K; Ray, I.B ;Mehra, M.K. (1982). Effect of berberine chloride eye drops on clinically positive trachoma patients. Indian J Med Res; 76 (suppl): 83-88.
- Hattori, T; Furuta, K; Nagao, T; et al. (1992) Studies on the antinephritic effect of plant components (4): reduction of protein excretion by berberine and coptisine in rats with original - type anti - GBM nephritis. Jpn J pharmacol; 59: 159-169.
- Kaneda, Y; Torii, M; Tanaka, T; Aikawa, M. (1991). In vitro effects of berberine sulphate on the growth and structure of entamoeba histolytica, Giardia lamblia and trichomonas vaginalis. Ann Trop Med Parasitol; 85: 417-425.

7. Ivanovska, N; Philipov, S. (1996). Study on the anti - inflammatory action of *Berberis vulgaris* root extract, alkaloid fractions and pure alkaloids. *J. Immunopharmac*; Vol. 18, No. 10, pp. 553-561.
8. Sack, R.B; Froehlich, J. L. (1982). Berberine inhibits intestinal secretory response of *vibrio cholerae* and *escherichia coli* enterotoxins. *Infect. Immun.* 35, 471-75.
9. Baytop, T. (1999). *Phytotherapy in Turkey: past and present*. Nobl Pub I, stanbul.
10. Blumenthal, M; Busse, W.R; Goldbert, A; Grenwald, J; Hall, T; Klein, S; Riggins, C.W; Rister, R.S. (1998). *The complete German E Monographs - therapeutic guide to herbal medicines*. American butanical council, Austin, TX, p. 310.
11. Gudima, S.O; Memelova, L.V; Bordulin, V.B; et al. (1994). Kinetic analysis of interaction of human immunodeficiency virus revers transcriptase with alkaloids. *Mol Biol (Mosk)*; 28: 1308-1314.
12. Bockman, C.S; Jeffries, W. B; Pettinger, W. A. and Abel, P. W. (1992). Reduced contractile sensitivity and vasopressin receptor affinity in DOCA - salt hypertension. *Am. J. Physiol.* 262, 1752-1758.
13. Burt, V.L; Whelton, P. Roccella, E. J. et al; (1995). Prevalence of hypertension in the US adult population. Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1991. *Hypertension*, 25, 3050-3058.
14. Fatehi, M; Anvari, K. and Fatehi - Hassanabad, Z. (2002). The beneficial effects of protein kinase inhibition on the circulatory failure induced by endotoxin in the rat. *Shock*, 18: 450-455.
15. Shamsa, F; Ahmadiani, A; Khosrokhavar R. (1999). Antihistaminic and anticholinergic activity of barberry fruit (*Berberis vulgaris*) in the guinea - pig ileum. *J. Ethnopharmacology*. 64 (2): 161-6.
16. Yesilada, E; Kupeli, E. (2002). *Berberis crataegina* DC root exhibits potent anti - inflammatory, analgesic and febrifuge effects in mice and rats. *J. of Ethnopharmacology*, 79, 237-248.