جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و یکم/شماره ۲۶۸/هفته دوم اسفند ماه ۱۳۹۲
تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۸/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۱۴

بررسی برون تنی عصاره‌ی هیدروالکلی سیر وحشی (Allium ampeloprasum) بر فعالیت حرکتی ایلئوم موش صحرایی

مهرنوش صدیقی هفشجانی[۱]، مصیب نوری احمدآبادی[۲]، دکتر حمید نصری[۳]، ملوک هادی[۴]، دکتر محمود رفیعیان کوپائی[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در این تحقیق، اثر ضد انقباضی عصاره‌ی هیدروالکلی برگ گیاه تره‌ی کوهی بر انقباضات ایلئوم موش‌های صحرایی نژاد ویستار و مکانیسم محتمل بر آن بررسی شد.

روش‌ها: در این تحقیق مداخله‌ای تعداد ۴۸ سر موش صحرایی، از نژاد ویستار به طور تصادفی به شش گروه هشت‌تایی به شرح زیر تقسیم شدند: شاهد، دریافت کننده‌ی غلظت‌های تجمعی عصاره‌ی تره‌ی کوهی، دریافت کننده‌ی L-NAME (L-NG-nitroarginine methyl ester) و عصاره، نالوکسان و عصاره، پروپرانولول و عصاره و گروه دریافت کننده‌ی غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم. در روز آزمایش، ایلئوم موش‌ها جدا و انقباضات آن در حمام بافت تحت یک گرم کشش با اضافه کردن کلرور پتاسیم (۶۰ mM) به روش ایزوتونیک ثبت شد. جهت بررسی مکانیسم اثر عصاره، بافت با پروپرانول، نالوکسان و یا L-NAME انکوبه شد و درصد تغییرات نیروی انقباضی بر روی کاغذ ثبت و محاسبه گردید. همچنین جهت نقش کانال‌های کلسیم در فعالیت حرکتی بافت، ایلئوم تحت تأثیر غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم قرار داده شد.

یافته‌ها: عصاره‌ی تجمعی تره‌ی کوهی (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت وابسته به غلظت انقباضات ایلئوم به وسیله‌ی کلرور پتاسیم را کاهش داد ($P < ۰/۰۰۰۱$). پروپرانولول اثر مهاری عصاره بر انقباضات ناشی از کلرور پتاسیم را به صورت معنی‌داری کاهش داد ($P < ۰/۰۰۱۰$). اما، L-NAME و نالوکسان سبب کاهش اثر مهاری عصاره بر ایلئوم نشدند. همچنین کلسیم سبب انقباض بافت دپولاریزه شده توسط کلرور پتاسیم شد و این اثر انقباضی توسط غلظت‌های تجمعی عصاره به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < ۰/۰۰۱۰$).

نتیجه‌گیری: عصاره‌ی هیدروالکلی برگ تره‌ی کوهی توانست با اثر بر گیرنده‌های بتاآدرنرژیک و کانال‌های کلسیم وابسته به ولتاژ، بر فعالیت حرکتی ایلئوم موش صحرایی اثر بگذارد و با توجه به نتیجه‌ی اثر، ممکن است بتوان از آن در درمان ناراحتی‌های گوارش استفاده کرد.

واژگان کلیدی: عصاره‌ی تره‌ی کوهی، پروپرانولول، ایلئوم، موش صحرایی

ارجاع: مهرنوش صدیقی هفشجانی، مصیب نوری احمدآبادی، حمید نصری، هادی ملوک، رفیعیان کوپائی محمود. **بررسی برون تنی عصاره‌ی هیدروالکلی سیر وحشی (Allium ampeloprasum) بر فعالیت حرکتی ایلئوم موش صحرایی و بیان مکانیسم محتمل.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۶۸): ۲۲۴۹-۲۲۳۸

۱- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲- دانشجوی پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳- استاد، گروه نفرولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- کارشناس ارشد، گروه آمار، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۵- استاد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر محمود رفیعیان کوپائی
Email: rafieian@yahoo.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

در سال‌های اخیر، استفاده از گیاهان دارویی به شدت افزایش یافته است (۴-۱) که اغلب ناشی از اعتقاد مردم به بی‌عارضه بودن آن‌ها است (۵-۲). تحقیقات اخیر نیز نتایج امیدوار کننده‌ای از این گیاهان به خصوص از خانواده‌ی آلیوم در درمان بیماری‌های مختلف داشته‌اند (۱۱-۵). از جمله‌ی این گیاهان، تره‌ی کوهی است که در طب سنتی خواص درمانی زیادی برای آن گزارش شده است (۱۲). گیاه تره‌ی کوهی یا سیر وحشی با نام علمی Allium ampeloprasum یکی از گیاهان خوراکی خودرویی است که متعلق به خانواده‌ی لاله (Lilaceae) می‌باشد (۱۳). تره‌ی کوهی دارای اثرات مشابه ولی ملایم‌تر نسبت به سیر است (۱۲). این گیاه در شهرستان‌های همدان، شیراز، سنندج، کامیاران، قم و اراک وجود دارد. از برگ و ساقه‌های جوان گیاه می‌توان به عنوان چاشنی همراه غذا و تهیه‌ی دارو استفاده کرد (۱۳).

ترکیبات گیاه تره‌ی کوهی شامل مقدار زیادی از سولفوکسیدهای سیستئینی، ساپونین‌ها و تانین‌ها و ترکیبات دی سولفید می‌باشد (۱۴). مواد مؤثره‌ی آن دارای خاصیت محافظت کنندگی در برابر آسیب القاء شده بر اثر عوامل آسیب رسان، پایین آورنده‌ی کلسترول سرم و گشاد کننده‌ی عروق می‌باشد (۱۵-۱۴).

گیاه تره‌ی کوهی دارای خواص ضد آسم، آنتی سپتیک، دیورز، گشاد کننده‌ی عروق خونی، اکسپکتورانت، تونیک و محرک است (۱۶). می‌توان این گیاه و گیاهان مشابه را به عنوان عامل ضد دیابتی در نظر گرفت (۲۳-۱۷). همچنین گیاه دارای اثرات سودمند بر سطح چربی‌ها و گلوکز سرم است.

ترکیبات دارای سولفور در گروه دی سولفیدها که به مقدار زیاد در گیاهان هم‌جنس سیر نظیر تره‌ی کوهی یافت می‌شوند، می‌توانند از طریق افزایش مصرف محیطی گلوکز، مهار جذب روده‌ای گلوکز و تشدید ترشح انسولین از سلول‌های باقی مانده‌ی بتا در جزایر لانگرهانس موجب کاهش گلوکز در مدل تجربی دیابت گردند (۲۷-۲۳).

توجه به نقش استرس اکسیداتیو و تغییرات آنزیمی، در بروز برخی تغییرات بیوشیمیایی و بافتی نامطلوب ناشی از دیابت نوع ۱ مؤثر است (۲۸). ترکیبات سولفوکسیدهای سیستئینی می‌توانند علت خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه باشند. خاصیت آنتی اکسیدانی این گروه از مواد از طریق افزایش سطح آنزیمهای مربوط به سیستم آنتی اکسیدانت شامل سوپر اکسید دیس موتاز به انجام می رسد (۲۸-۲۵). این گیاه دارای اثر ضد درد می‌باشد (۲۹). تره‌ی کوهی از نظر برخی مواد مؤثره، مشابه سیر می‌باشد که اثرات سودمند بر سطح گلوکز و چربی‌های سرم اعمال می‌نماید (۳۲-۳۰)؛ اما تحقیقی مربوط به خواص گیاه بر روده صورت نگرفته است.

عوامل متعددی، با اثر بر مکانیسم سلولی عضله، فعالیت حرکتی عضله‌ی صاف را تغییر می‌دهند. عواملی که به افزایش شدید غلظت پتاسیم خارج سلولی و دپولاریزاسیون غشا، باز شدن کانال‌های آهسته‌ی سدیمی- کلسیمی و ورود کلسیم به سلول، دفسفریله شدن میوزین فسفاتاز و پمپ شدن کلسیم درون رتیکلوم سارکوپلاسمیک و در نهایت افزایش کلسیم سیتوسولی شوند، سبب انقباض عضله‌ی صاف می‌شوند. همچنین عواملی که به واسطه‌ی آن‌ها کلسیم سیتوزولی کاهش و فعالیت میوزین فسفاتاز

www.mui.ac.ir

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

افزایش یابد سبب اثر مهاری بر فعالیت حرکتی عضله صاف می شوند(۳۴-۳۳).

از آن جایی که در تحقیقات قبلی اثر شل شدگی عروقی این گیاه (۱۵) و اثر گیاه والک از این خانواده (لاله) بر فعالیت انقباضی آئورت با خاصیت کاهش پاسخ انقباضی سیستم عروقی ایزوله‌ی موش صحرایی گزارش شده است (۳۵)، این تحقیق با هدف بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی تره‌ی کوهی بر فعالیت انقباضی ایلئوم و مکانیسم محتمل بر اثر مربوط، از طریق کانال‌های کلسیم وابسته به ولتاژ، گیرنده‌های بتاآدرنرژیک و اوپیوئیدی و نیز نقش گیاه در سنتز نیتریک اکساید سنتتاز انجام گردید.

روش‌ها

حیوانات

در این تحقیق مداخله‌ای، ۴۸ سر موش صحرایی از نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۲۰۰-۱۵۰ g از مرکز تحقیقات و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تهیه و در شرایط روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و در دمای ۲۴-۲۰ °C نگهداری شدند. موش‌ها دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند، اما شب قبل از آزمایش به دلیل راحتی کار و خالی بودن بافت از غذا محروم شدند (۳۷-۳۶).

مواد مورد استفاده:

پروپرانول، (L-NG-nitroarginine methyl ester) L-NAME از شرکت Sigma (آمریکا) و نالوکسان از شرکت تولید دارو (ایران) و کلیه‌ی نمک‌های مصرفی از شرکت Merck (آلمان) تهیه شدند.

روش عصاره‌گیری

در این مطالعه، از روش ماسراسیون (Macerate) جهت به دست آوردن عصاره‌ی گیاه تره‌ی کوهی استفاده شد (۴۱-۳۸). بعد از خشک و پودر کردن برگ‌های گیاه، ۱۰۰ گرم پودر با اتانول ۷۰ درصد خیس شد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار گرفت. سپس محلول به دست آمده به وسیله‌ی قیف بوخنر صاف شد و در دمای ۳۵ °C با استفاده از دستگاه روتاری، عمل تقطیر حلال انجام گرفت. محلول غلیظ شده در انکوباتور با دمای حداکثر ۴۰ °C قرار گرفت تا الکل موجود در محلول به طور کامل خارج شود. پودر به دست آمده تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد (۴۳-۴۲). از ۵۰۰ g گیاه پودر شده‌ی تره‌ی کوهی در نهایت ۲۵ g پودر به دست آمد.

آماده‌سازی ایلئوم و روش انجام کار

در روز آزمایش با رعایت اصول اخلاقی، موش با کلروفرم بیهوش شد و از انتهای ایلئوم آن (به جز ۲ cm آخر) یک قطعه به طول ۲ cm جدا شد و داخل آن به آرامی با محلول تایرود شسته شد و در حمام بافت (۵۰ ml) بین دو قلاب استیل ضد زنگ به صورت عمودی با دمای محلول (۳۷ °C) و pH برابر ۷/۴ قرار گرفت. کشش اولیه به بافت ۱ گرم بود و محلول تایرود حمام دارای ترکیب زیر (بر حسب میلی‌مولار) بود:

NaCl (۱۳۶)، KCl (۵)، $CaCl_2$ (۲۰)، $NaHCO_3$ (۱۱/۹)، $MgCl_2$ (۰/۹۸)، NaH_2PO_4 (۰/۳۶) و گلوکز (۵/۵۵).

دوره‌ی سازگاری و به تعادل رسیدن بافت، ۶۰ دقیقه همراه با جریان دایم حباب هوا به داخل حمام بود که طی آن هر ۱۵ دقیقه محلول حمام تعویض می‌شد. بعد از سازگاری، ایلئوم را توسط کلرور

www.mui.ac.ir

پتاسیم (۶۰ mM) منقبض و هنگامی که انقباض به حالت کفه رسید، غلظت‌های تجمعی عصاره (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (۸) به حمام بافت اضافه می‌شد (۴۱). اهرم ترانسدیوسر ایزوتونیک (Harvard, UK) فعالیت مکانیکی بافت را به دستگاه ثبات (Universal Harvard Osilloghraph) منتقل می‌کرد و اثر مربوط روی کاغذ ثبت می‌شد. سپس درصد تغییر نیروی انقباضی نسبت به حالت کفه محاسبه می‌شد.

به منظور بررسی مکانیسم اثر عصاره بر بافت، پس از انکوبه کردن بافت (۳۰ دقیقه) پروپرانولول با غلظت ۱ μM، نالوکسان با غلظت ۱ μM (۳۰) و L-NAME (۲۰ دقیقه)، در غلظت ۱۰۰ μM، به ترتیب به منظور بررسی اثر بر گیرنده‌های بتا آدرنرژیک، اوپیوئیدی و نقش نیتریک اکساید بررسی شد (۴۴-۴۳).

جهت بررسی نقش کلسیم خارج سلولی در عملکرد عصاره، ابتدا بافت در محلول تیرود فاقد کلسیم و دارای غلظت زیاد کلروپتاسیم (۶۰ mM) قرار داده شد. سپس کلرور کلسیم به صورت تجمعی (۸-۲ mM) به حمام اضافه و انقباض ایلئوم در پاسخ به غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم بررسی گردید. پس از ۵ دقیقه انکوبه شدن و حضور عصاره با غلظت‌های تجمعی، مراحل ثبت انجام گردید.

روش‌های آماری

اطلاعات به دست آمده پس از ثبت در کامپیوتر با نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. تغییرات نیروی انقباضی ناشی از عصاره و آنتاگونیست‌ها، نسبت به عصاره به صورت میانگین ± انحراف معیار محاسبه و گزارش شد. از آزمون آماری Analysis of variance (ANOVA) جهت مقایسه‌ی غلظت‌های مختلف عصاره و از Student-t جهت مقایسه‌ی دو گروه با یکدیگر استفاده شد. $P < ۰/۰۵۰۰$ به عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در تمام مراحل انجام آزمایش، اضافه کردن کلرور پتاسیم به حمام بافت، سبب انقباض ناشی از کلرور پتاسیم بر ایلئوم شد و پس از مدت کوتاهی، انقباض به کفه رسید که در این نقطه، درصد انقباض ایلئوم محاسبه گردید. بعد از رسیدن بافت به حالت کفه با اضافه کردن سالین، غلظت‌های تجمعی عصاره، آنتاگونیست گیرنده‌های بتاآدرنرژیک، اوپیوئیدی، نقش نیتریک اکساید و دخالت کانال‌های کلسیم وابسته به ولتاژ بر میانگین تغییر انقباض بافت ثبت و محاسبه گردید.

مقایسه‌ی غلظت‌های تجمعی عصاره‌ی هیدروالکلی تره‌ی کوهی بر انقباضات ناشی از کلرور پتاسیم درایلئوم موش صحرایی

غلظت‌های تجمعی عصاره‌ی هیدروالکلی تره‌ی کوهی (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) انقباض ایلئوم موش صحرایی ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ mM) را در مقایسه با گروه سالین کاهش داد و نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها بود ($n = ۸$، $P < ۰/۰۰۰۱$) (شکل ۱). اثر مهاری عصاره بر ایلئوم نیز وابسته به دوز و نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار بین آن‌ها بود ($n = ۸$، $P < ۰/۰۵۰۰$).

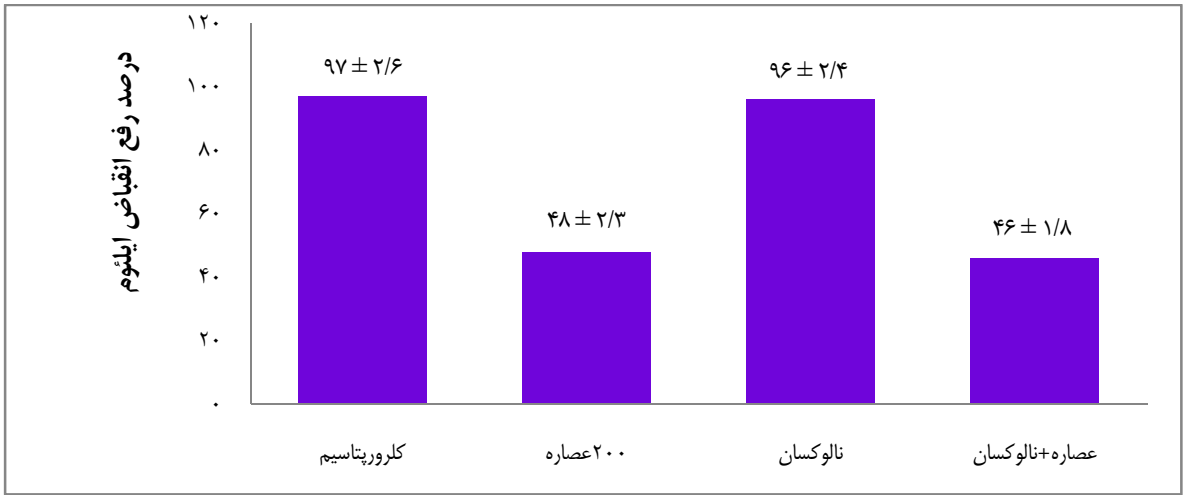
غلظت‌های تجمعی عصاره (۱۰۰ mg/kg، ۲۰۰ و ۴۰۰) انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ mM)

را در مقایسه با گروه سالین کاهش داد (n = ۸، P < ۰/۰۰۰۱). این اثر مهاری توسط عصاره، وابسته به دوز است و نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار بین هر یک از غلظت‌های عصاره است (n = ۸، P < ۰/۰۵۰۰).

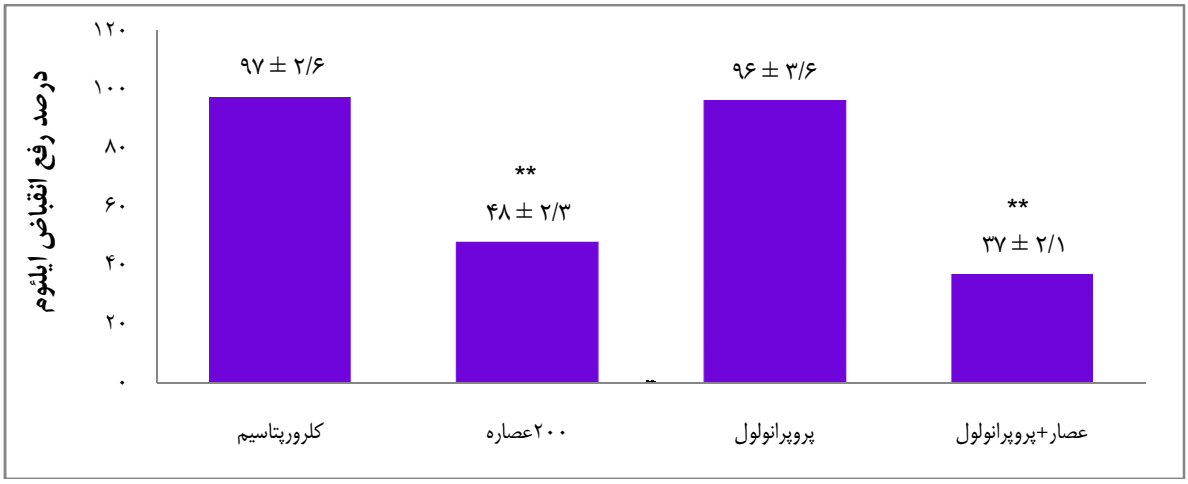
مقایسه‌ی اثر حضور آنتاگونیست گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک (پروپرانولول) بر عملکرد مهاری عصاره

تحریک گیرنده‌های بتاآدرنرژیک سبب شل شدن روده‌ی کوچک می‌شود. احتمال دارد عصاره از طریق تحریک این گیرنده‌ها سبب عملکرد مهاری شده باشد. بنابراین، اثر عصاره بر این گیرنده‌ها یک بار در غیاب و یک بار بعد از ۳۰ دقیقه حضور پروپرانول با فاصله‌ی زمانی ۱۵ دقیقه همراه با شستشوی بافت مقایسه شد.

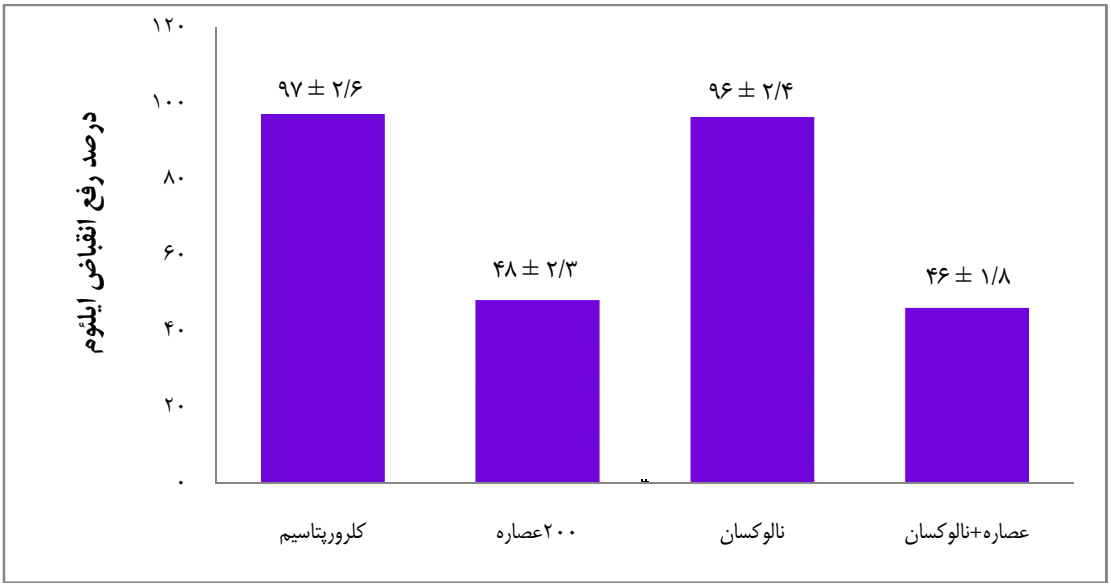
نتایج نشان داد که عصاره سبب مهار انقباض کلرور پتاسیم می‌گردد (n = ۸، P < ۰/۰۰۰۱). پروپرانولول نیز سبب کاهش معنی‌دار اثر مهاری انقباض ناشی از عصاره شد (n = ۸، P < ۰/۰۰۱۰) (شکل ۲).



شکل ۱. اثر غلظت‌های تجمعی عصاره‌ی تره‌ی کوهی (۱۰۰ mg/kg، ۲۰۰ و ۴۰۰) بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ mM) و سالین



شکل ۲. مقایسه‌ی اثر انقباضی کلرور پتاسیم و اثر مهاری عصاره (۲۰۰ mg/kg) و پروپرانولول (۱ µM) بر گیرنده‌های بتاآدرنرژیک در ایلئوم (n = ۸، P < ۰/۰۰۱۰)



شکل ۳. مقایسه‌ی اثر انقباضی کلرور پتاسیم و اثر مهاری عصاره (۲۰۰ mg/kg) و نالوکسان (۱ μM) بر گیرنده‌های اوپیوئیدی در ایلئوم ($P < ۰/۰۰۰۱$ ،$n = ۸$)

مقایسه‌ی اثر حضور آنتاگونیست گیرنده‌های اوپیوئیدی (نالوکسان) بر عملکرد مهاری عصاره

با توجه به این که تحریک گیرنده‌های اوپیوئیدی سبب کاهش حرکات روده‌ای می‌گردد. احتمال دارد مواد مؤثر این عصاره بر گیرنده‌ها اثر بگذارد و سبب شل شدن عضله گردد. بنابراین اثر مهاری عصاره بر این گیرنده‌ها یک بار در غیاب و یک بار بعد از ۳۰ دقیقه حضور نالوکسان ۱ μM و با فاصله‌ی زمانی ۱۵ دقیقه همراه با شستشوی بافت مقایسه شد. نتایج نشان داد که عصاره، اثر انقباضی کلرور پتاسیم را به صورت معنی‌دار کاهش داده است؛ اما اختلاف معنی‌داری بین اثر مهاری عصاره در حضور و غیاب نالوکسان وجود ندارد.

عصاره سبب مهار انقباض کلرور پتاسیم شد ($P = ۰/۰۰۰۱$ ،$n = ۸$)؛ اما اختلاف معنی‌داری بین اثر مهاری عصاره در حضور و غیاب نالوکسان وجود نداشت (شکل ۳).

مقایسه‌ی اثر حضور آنتاگونیست سنتز نیتریک اکساید (L-NAME) بر عملکرد مهاری عصاره

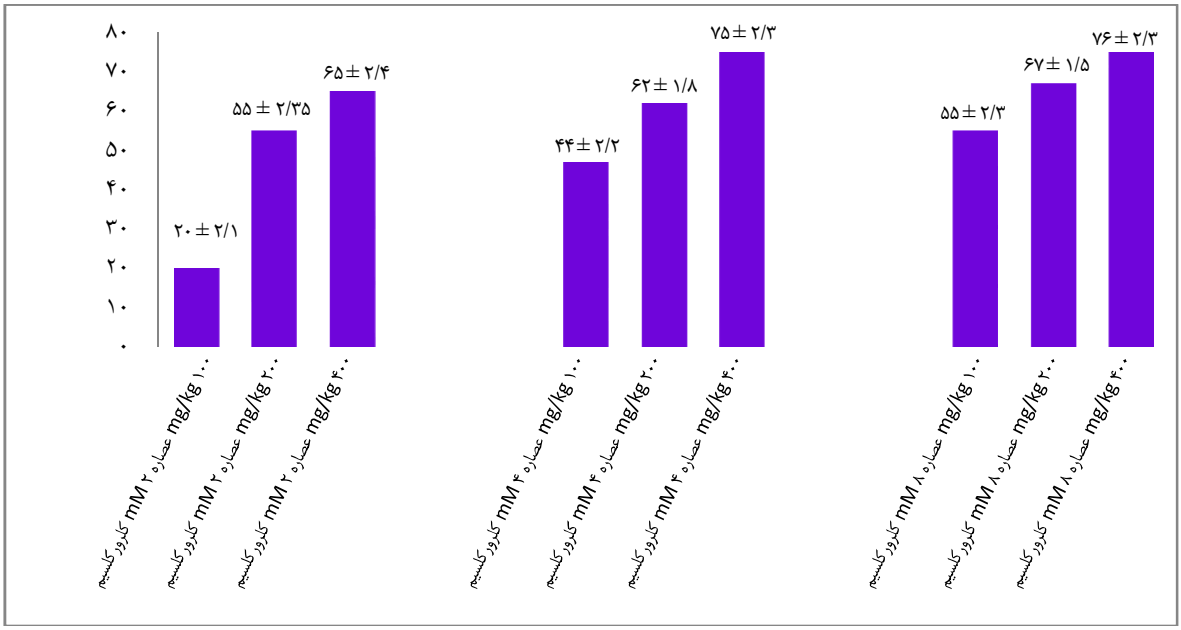
احتمال دارد تحریک سنتز NO سبب کاهش عملکرد انقباضی عصاره شده باشد. L-NAME نیز مهار کننده‌ی آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز می‌باشد. بنابراین، اثر عصاره بر این گیرنده‌ها یک بار در غیاب و یک بار بعد از ۲۰ دقیقه حضور L-NAME بر بافت مقایسه شد. فاصله‌ی زمانی مرحله‌ی ۱۵ دقیقه همراه با شستشوی بافت بود. عصاره، انقباض ناشی از کلرور پتاسیم را مهار کرد ($P = ۰/۰۰۰۱$ ،$n = ۸$)؛ **اما** اختلاف معنی‌داری بین اثر مهاری عصاره در حضور و غیاب L-NAME وجود نداشت (شکل ۴).

اثر عصاره‌ی هیدروالکلی برگ تره‌ی کوهی بر انقباض ناشی از کلرور کلسیم در ایلئوم دپولاریزه شده توسط کلرور پتاسیم

شکل ۵ نشان می‌دهد که ایلئوم دپولاریزه شده‌ی موش صحرایی در محلول تایرود با کلرور پتاسیم بالا (mM

۶۰) اما فاقد کلسیم، در حضور غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم به صورت وابسته به غلظت (۲ mM، ۴ و ۸) منقبض شده است (n = ۸، P < ۰/۰۰۰۱). بعد از شستشوی بافت با محلول تایرود بدون کلسیم و ۱۵ دقیقه استراحت بافت، تکرار همین مراحل در حضور ۳ دقیقه غلظت‌های مختلف عصاره (mg/kg ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰) موجب کاهش اثر انقباضی ناشی از کلرور کلسیم در ایلئوم شد و این اثر انقباضی کلسیم در غیاب و در حضور عصاره، اختلاف معنی‌داری با هم داشت (n = ۸، P < ۰/۰۰۱۰).

شکل ۴. مقایسه‌ی اثر انقباضی کلرور پتاسیم و اثر مهاری عصاره در غلظت ۲۰۰ mg/kg و L-NAME (۱۰۰ µM) مهار کننده‌ی سنتز آنزیم نیتریک اکساید در ایلئوم (n = ۸، P < ۰/۰۰۰۱)



شکل ۵. مقایسه‌ی اثر انقباض ایلئوم ناشی از غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم (۲-۸ mM) در بافت دپولاریزه توسط کلرور پتاسیم (۶۰ mM) (P < ۰/۰۰۰۱).

بحث

در این تحقیق عصاره‌ی تره‌ی کوهی توانست انقباضات ناشی از کلرور پتاسیم (۲۵ دقیقه) را کاهش دهد، اما قبل از اضافه نمودن عصاره، بافت در تمام دوره‌ی آزمایش همچنان در حال انقباض باقی می‌ماند و بعد از اضافه شدن عصاره، شل شد که ناشی از اثر عصاره روی بافت بوده است نه خستگی عضلانی (۴۵).

از آن جا که عامل اصلی انقباض عضله‌ی صاف، وجود یون‌های کلسیم می‌باشد. یون‌های کلسیم می‌توانند از طریق کانال‌های کلسیمی فعال شونده، وارد سلول شوند و سبب انقباض عضله‌ی صاف گردند. باز شدن این کانال‌ها تغییر زیادی در پتانسیل استراحت غشا ایجاد نمی‌کند؛ زیرا مقدار کافی از یون‌های پتاسیم به طور همزمان جهت حفظ یک پتانسیل غشای طبیعی به خارج از سلول حرکت می‌کند. روند انقباض نیز تا زمانی که این کانال‌های کلسیمی باز هستند، ادامه می‌یابد (۴۶). همچنین کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ مانند کانال‌های نوع L که در ایلئوم دیده می‌شوند، بنابراین انقباض عضله‌ی صاف ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم، می‌تواند به خاطر این کانال‌ها باشد (۴۷). این احتمال نیز وجود دارد که مواد مؤثره در عصاره‌ی تره‌ی کوهی با اثر بر مکانیسم سلول‌های عضله‌ی صاف ایلئوم، مانع افزایش کلسیم درون سلول و شل شدن عضله شده باشند.

در مورد بیان مکانیسم احتمالی دلیل شل شدگی عضله، باید یادآور شد که فعال شدن گیرنده‌های اوپیوئیدی سبب شل شدن ایلئوم می‌گردند؛ اما در این جا بلوکه کردن این گیرنده‌ها با داروی نالوکسان نشان دهنده‌ی ناتوانی نالوکسان در کاهش عملکرد مهاری عصاره، مؤید عدم دخالت این گیرنده‌ها می‌باشد (۴۸). فعال شدن گیرنده‌های بتاآدرنرژیک نیز موجب مهار فعالیت انقباضی ایلئوم می‌گردد (۴۹).

گیرنده‌های بتاآدرنرژیک با فعال کردن پروتئین کینازهای وابسته به cAMP (Cyclic adenosine monophosphate) و انتقال فعال کلسیم به درون شبکه‌ی سارکوپلاسمی، موجب مهار فعالیت انقباضی ایلئوم می‌گردند. انکوبه کردن قطعه‌ی ایلئوم با آنتاگونیست گیرنده‌های بتاآدرنرژیک توسط پروپرانولول، عملکرد شل کننده‌ی عصاره بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم را کاهش داد که می‌تواند نشان دهنده‌ی آن باشد که ماده و یا موادی از عصاره، قدرت فعال کنندگی گیرنده‌های بتاآدرنرژیک را داشته‌اند و سبب کاهش اثر عصاره شده‌اند.

همچنین یکی از مهم‌ترین عوامل آزاد شونده از آندوتلیوم، نیتریک اکساید (NO یا Nitric oxide) است. به وسیله‌ی آنزیم نیتریک اکساید، سنتاز از ال- آرژنین ساخته می‌شود (۵۲-۵۰). افزایش سنتز NO از طریق افزایش cGMP (Cyclic guanosine monophosphate) سبب شل شدن ایلئوم می‌گردد (۵۶-۵۳)؛ اما ناتوانی L-NAME در کاهش عملکرد مهاری عصاره، مؤید عدم دخالت و نیز عدم مشارکت سنتز نیتریک اکساید در عملکرد مهاری عصاره می‌باشند.

در مورد اضافه نمودن غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم به بافت، در محلول تیرود بدون کلسیم با پتاسیم زیاد، بافت فقط دپولاریزه شد و چون کلسیمی در محیط نبود، اثر انقباضی مشاهده نشد. با اضافه شدن کلسیم به محیط و با توجه به وجود کانال‌های کلسیم نوع L و اثبات وجود آن‌ها در عضله‌ی صاف روده با ورود کلسیم به داخل سلول از طریق این

کانال‌ها، عضله به صورت وابسته به دوز منقبض شد. سپس در حضور عصاره، اثر مهاری بر انقباض ایجاد شد که نشان دهنده‌ی تأثیر عصاره بر کانال‌های کلسیم و ایجاد عملکرد مهاری عصاره است.

گیاهان خانواده‌ی سیر دارای یک مهار کننده‌ی قوی آنزیم آلدوز ردوکتاز به نام Isoliquiritigenin هستند که این ترکیب می‌تواند از کاهش ایجاد پروستاگلاندین I_2 که دارای اثرات گشاد کننده‌ی عروقی است، توسط آئورت در شرایط دیابتی جلوگیری کند و توجیه کننده‌ی کاهش اثرات انقباضی آئورت سینه‌ای باشد (۵۸-۵۷).

می‌توان احتمال داد که عملکرد مهاری عصاره‌ی حاضر نیز نتیجه‌ی ترکیب ایزولیکوئیریتیجینین یا پیوند به نسبت پایدار ماده یا مواد مؤثره‌ی عصاره‌ی گیاه مانند فلاونوئیدها و ساپونین‌ها با کانال‌های کلسیم باشد (۶۱-۵۹، ۲)؛ یعنی اثر عمده‌ی عصاره‌ی حاضر از طریق غیر فعال کردن کانال‌های کلسیمی و قسمتی نیز از تأثیر ترکیبات عصاره با دخالت گیرنده‌های بتاآدرنرژیک انجام می‌گیرد که البته جدا کردن تک‌تک ترکیبات و بررسی جداگانه‌ی تأثیر هر یک بر روی این کانال‌ها نیازمند تحقیق جداگانه‌ای است.

نتیجه‌گیری

عصاره‌ی هیدروالکلی برگ تره‌ی کوهی می‌تواند با اثر روی کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ و گیرنده‌های بتاآدرنرژیک بر فعالیت حرکتی ایلئوم موش صحرایی اثر بگذارد و با توجه به نتیجه‌ی اثر، ممکن است بتوان از آن در درمان ناراحتی‌های گوارش استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره‌ی ۱۳۹۰ است که با بودجه‌ی معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شده است. بدین وسیله از آن معاونت محترم و سایر افرادی که در اجرای مطالعه همکاری داشتند، قدردانی می‌گردد.

References

1. Rafieian-Kopaei M. Medicinal plants and the human needs. J HerbMed Pharmacol 2012; 1(1): 1-2.
2. Asgari A. Herbal medicines and kidney; friends or foes? J Nephropharmacol 2014; 3(1): 5-6.
3. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Rafieian M. Plants antioxidants: From laboratory to clinic. J Nephropathol 2013; 2(2): 152-3.
4. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Herbal medicine and diabetic kidney disease. J Nephropharmacol 2013; 2(1): 1-2.
5. Shirzad H, Nasri H. Toxicity and safety of medicinal plants. J Herbmed Pharmacol 2013; 2(2): 1-2.
6. Behradmanesh S, Derees F, Rafieian-Kopaei M. Effect of Salvia officinalis on diabetic patients. J Ren Inj Prev 2013; 2(2): 51-4.
7. Asadi SY, Parsaei P, Karimi M, Rafieian-Kopaei M. Effect of ethanolic extract of Green tea (Camellia sinensis) on intra-abdominal adhesions in rats. J Zanjan Univ Med Sci 2013; 21(86): 86-96. [In Persian].
8. Kazemi S, Asgary S, Moshtaghian J, Rafieian M, Adelnia A, Shamsi F. Liver-protective effects of hydroalcoholic extract of Allium hirtifolium boiss. In rats with alloxan-induced diabetes mellitus. ARYA Atheroscler 2010; 6(1): 11-5.
9. Hajivandi A, Amiri M. World Kidney Day 2014: Kidney disease and elderly. J Parathyroid Dis 2014; 2(1):3-4.
10. Ardalan MR, Rafieian-Kopaei M. Is the safety of herbal medicines for kidneys under question? J Nephropharmacol 2013; 2(2): 5-6.
11. Bahmani M, Vakili-Saatloo N, Gholami-Ahangaran M, Karamati SA, Khalil-Banihabib E, Hajigholizadeh Gh, et al. A comparison study on the anti-leech effects of onion (Allium cepa

L) and ginger (Zingiber officinale) with levamisole and triclabendazole. J HerbMed Pharmacol 2013; 2(1): 1-3.
12. Eidi M, Soleimani F, Ebrahimi S. Hypolipidemic Effects of Allium porrum L. Leaves in Healthy and Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. Journal of Medicinal Plants 2007; 6(24): 8-13.
13. Mozafrian V. Culture of plant names. Tehran, Iran: Farhang Moaser Publication; 2003. p. 27. [In Persian].
14. Nguansangiam S, Angsubhakorn S, Bhamarapravati S, Suksamrarn A. Effects of elephant garlic volatile oil (Allium ampeloprasum) and T-2 toxin on murine skin. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2003; 34(4): 899-905.
15. Morita T, Ushiroguchi T, Hayashi N, Matsuura H, Itakura Y, Fuwa T. Steroidal saponins from elephant garlic, bulbs of Allium ampeloprasum L. Chem Pharm Bull (Tokyo) 1988; 36(9): 3480-6.
16. Bown D. Encyclopedia of Herbs and Their Uses. New York, NY: Reader's Digest Association p. 20-31; 1995.
17. Khalaji S, Eidi M, Eidi A, Shahmohammadi P, Arab M. Hyperalgesia effect of leaf Allium ampeloprasum extract attenuates (Allium ampeloprasum l. subsp. Iranicum) in normal and diabetic mice. Iranian Journal of Biological Scienses 2009; 4(1): 9-14. [In Persian].
18. Kadkhodaee M, Sedaghat Z. Novel renoprotection methods by local and remote conditioning. J Ren Inj Prev 2014; 3(2): 37-8.
19. Tavafi M. Complexity of diabetic nephropathy pathogenesis and design of investigations. J Ren Inj Prev 2013; 2(1): 59-62.
20. Augusti KT. Therapeutic values of onion (Allium cepa L.) and garlic (Allium sativum L.). Indian J Exp Biol 1996; 34(7): 634-40.
21. Ardalan MR, Rafieian-Kopaie M. Antioxidant supplementation in hypertension. J Ren Inj Prev 2014; 3(2): 39-40.
22. Nasri H, Behradmanesh S, Ahmadi A, Baradaran A, Nasri P, Rafieian-Kopaei M. Association of serum lipids with level of blood pressure in type 2 diabetic patients. J Ren Inj Prev 2014; 3(2): 43-6.
23. Eidi A, Eidi M, Esmaeili E. Antidiabetic effect of garlic (Allium sativum L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Phytomedicine 2006; 13(9-10): 624-9.
24. Tamadon MR, Baradaran A, Rafieian-Kopaei M. Antioxidant and kidney protection; differential impacts of single and whole natural antioxidants. J Ren Inj Prev 2014; 3(2): 41-2.
25. Nasri H, Ahmadi A, Baradaran A, Nasri P, Hajian S, Pour-Arian A, et al. A biochemical study on ameliorative effect of green tea (Camellia sinensis) extract against contrast media induced acute kidney injury. J Ren Inj Prev 2014; 3(1): 47-9.
26. Liu CT, Hse H, Lii CK, Chen PS, Sheen LY. Effects of garlic oil and diallyl trisulfide on glycemic control in diabetic rats. Eur J Pharmacol 2005; 516(2): 165-73.
27. Mardani S, Nasri H, Hajian S, Ahmadi A, Kazemi R, Rafieian-Kopaei M. Impact of Momordica charantia extract on kidney function and structure in mice. J Nephropathol 2014; 3(1): 35-40.
28. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Metformin improves diabetic kidney disease. J Nephropharmacol 2012; 1(1): 1-2.
29. Roghani M, Aghaie M. The effect of Allium ampeloprasum on nociceptive response intensity in diabetic rats. J Gorgan Uni Med Sci 2007; 9(3): 10-4. [In Persian].
30. Kumari K, Augusti KT. Antidiabetic and antioxidant effects of S-methyl cysteine sulfoxide isolated from onions (Allium cepa Linn) as compared to standard drugs in alloxan diabetic rats. Indian J Exp Biol 2002; 40(9): 1005-9.
31. Kumari K, Mathew BC, Augusti KT. Antidiabetic and hypolipidemic effects of S-methyl cysteine sulfoxide isolated from Allium cepa Linn. Indian J Biochem Biophys 1995; 32(1): 49-54.
32. Fritsch RM, Keusgen M. Occurrence and taxonomic significance of cysteine sulphoxides in the genus Allium L. (Alliaceae). Phytochemistry 2006; 67(11): 1127-35.
33. Ratz PH, Berg KM, Urban NH, Miner AS. Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calcium-sensitizing stimulus. Am J Physiol Cell Physiol 2005; 288(4): C769-C783.
34. Ratz RH, Berg KM, Urban NH, Miner AS. Role of Ca^{2+} and MLK in regulation of smooth muscle. Am J Physiol 2005; 248: 2769-83.
35. Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Ogbi K. Survey the Effect of Feeding of Allium Latifolium on Contractile Reactivity of Aorta of Diabetic Rats. J Guilan Univ Med Sci 2008; 17(65): 1-6. [In Persian].
36. Bahmani M, Vakili-Saatloo N, Maghsoudi R, Momtaz H, Saki K, Kazemi-Ghoshchi B, et al. A comparative study on the effect of ethanol extract of wild Scrophularia deserti and streptomycin on Brucellla melitensis. J HerbMed Pharmacol 2013; 2(1): 17-20.

37. Nasri H, Sahinfard N, Rafieian M, Rafieian S, Shirzad M, Rafieian-Kopaei M. Effects of Allium sativum on liver enzymes and atherosclerotic risk factors. J HerbMed Pharmacol 2013; 2(2): 23-8.
38. Shirzad H, Taji F, Rafieian-Kopaei M. Correlation between antioxidant activity of garlic extracts and WEHI-164 fibrosarcoma tumor growth in BALB/c mice. J Med Food 2011; 14(9): 969-74.
39. Ansari R, Shahinfard N, Namjou A, Rafieian M, Shirzad H, Rafieian-Kopaei M. Ameliorative property of Teucrium polium on second degree burn. J HerbMed Plarmacol 2013; 2(1): 9-11.
40. Asgary S, Kelishadi R, Rafieian-Kopaei M, Najafi S, Najafi M, Sahebkar A. Investigation of the lipid-modifying and antiinflammatory effects of Cornus mas L. supplementation on dyslipidemic children and adolescents. Pediatr Cardiol 2013; 34(7): 1729-35.
41. Sedighi M, Rafieian-Kopaei M, Noori-Ahmadabadi M. Efeect of Allium ampeloprasum on ileum function: Involopersum of beta-adrenergic receptors andvoltage depend calcium channels. Life Sci J 2012; 9(4): 1660-6.
42. Nasri H, Behradmanesh S, Ahmadi A, Rafieian-Kopaei M. Impact of oral vitamin D (cholecalciferol) replacement therapy on blood pressure in type 2 diabetes patients; a randomized, double-blind, placebo controlled clinical trial. J Nephropathol 2014; 3(1): 29-33.
43. Sedighi M, Rafieian-Kopaei M, Noori-Ahmadabadi M. Kelussia odoratissima Mozaffarian inhibits ileum contractions through voltage dependent and beta adrenergic receptors. Life Sci J 2012; 9(4): 1033-8.
44. Rafieian-Kopaei M, Sewell RD. Newer antidepressants: analgesia and relative monoamine reuptake inhibitor potency. Pharmaceutical Journal 1994; 46(Suppl): 1088.
45. Bolton TB. Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. Physiol Rev 1979; 59(3): 606-718.
46. Guyton AC, Hall JE. Medical physiology. 10th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co; 2000.
47. El Bardai S, Lyoussi B, Wibo M, Morel N. Comparative study of the antihypertensive activity of Marrubium vulgare and of the dihydropyridine calcium antagonist amlodipine in spontaneously hypertensive rat. Clin Exp Hypertens 2004; 26(6): 465-74.
48. Gray AC, White PJ, Coupar IM. Characterisation of opioid receptors involved in modulating circular and longitudinal muscle contraction in the rat ileum. Br J Pharmacol 2005; 144(5): 687-94.
49. van Der V, Rademaker B, Bast A. A beta adrenoceptor with atypical characteristics is involved in the relaxation of the rat small intestine. J Pharmacol Exp Ther 1990; 255(1): 218-26.
50. Bates DO, Hillman NJ, Williams B, Neal CR, Pocock TM. Regulation of microvascular permeability by vascular endothelial growth factors. J Anat 2002; 200(6): 581-97.
51. Nayer A, Ortega LM. Catastrophic antiphospholipid syndrome: a clinical review. J Nephropathol 2014; 3(1): 9-17.
52. Mubarak M, Nasri H. What nephrolopathologists need to know about antiphospholipid syndrome-associated nephropathy: Is it time for formulating a classification for renal morphologic lesions? J Nephropathol 2014; 3(1): 4-8.
53. Kanada A, Hata F, Suthamnatpong N, Maehara T, Ishii T, Takeuchi T, et al. Key roles of nitric oxide and cyclic GMP in nonadrenergic and noncholinergic inhibition in rat ileum. Eur J Pharmacol 1992; 216(2): 287-92.
54. Rafieian-Kopaei M, Nasri H. Vitamin D therapy in diabetic kidney disease. J Nephropharmacol 2014; 3(1): 3-4.
55. Nasri H. Antiphospholipid syndrome-associated nephropathy: current concepts. J Ren Inj Prev 2012; 2(1): 1-2.
56. Baradaran A. Antiphospholipid syndrome-associated nephropathy; a nephropathy needs classification. J Nephropharmacol 2012; 1(1): 9-11.
57. Carotenuto A, De Feo V, Fattorusso E, Lanzotti V, Magno S, Cicala C. The flavonoids of Allium ursinum. Phytochemistry 1996; 41(2): 531-6.
58. Heidarian E, Rafieian-Kopaei M, Ashrafi K. The Effect of hydroalcoholic extract of allium latifolium on the liver phosphatidate phosphatase and serum lipid profile in hyperlipidemic rats. J Babol Univ Med Sci 2013; 15(4): 37-46. [In Persian].
59. Parsaei P, Karimi M, Asadi SY, Rafieian-Kopaei M. Bioactive components and preventive effect of green tea (Camellia sinensis) extract on post-laparotomy intra-abdominal adhesion in rats. Int J Surg. 2013; 11(9): 811-5.
60. Tavafi M. Diabetic nephropathy and antioxidants. J Nephropathol 2013; 2(1): 20-7.
61. Asadi SY, Parsaei P, Karimi M, Ezzati S, Zamiri A, Mohammadizadeh F, Rafieian-Kopaei M. Effect of green tea (Camellia sinensis) extract on healing process of surgical wounds in rat. Int J Surg 2013; 11(4): 332-7.

Journal of Isfahan Medical School Received: 21.11.2013

Vol. 31, No. 268, 2nd Week, March 2014 Accepted: 03.02.2013

In-Vitro Evaluation of Hydroalcoholic Extract of Allium Ampeloprasum on Rat Ileum Contractions

Masoumeh Sedighi-Hafshejani MSc[1], Mosayyeb Noori-Ahmadabadi[2], Hamid Nasri MD[3], Molok HadiMSc[4], Mahmoud Rafieian-Kopaei PhD[5]

Original Article

Abstract

Background: Ampeloprasum is traditionally used for gastrointestinal disorders. In this experimental study, the effect of ethanolic extract of Allium ampeloprasum was investigated on the rat ileum contractions. The mechanisms were also evaluated.

Methods: In this experimental study, 48 male Wistar rats were randomly designated into six equal groups, including control and cumulative concentrations of Allium ampeloprasum, propranolol, naloxone, L-name, and $CaCl_2$. In the day of the experiment, the ileum was dissected and its contractions were recorded in Tyrode solution in an organ bath. To evaluate the mechanisms involved, propranolol, naloxone, or L-name was incubated and the percent of changes in contractions were recorded.

Findings: The extract of Allium ampeloprasum dose-dependently reduced the contractions induced by KCl (60 mM) ($P < 0.0001$); propranolol reversed this effect ($P < 0.0010$), but L-name and naloxone were not effective. $CaCl_2$ increased the contractions ($P < 0.0010$) and the extract reversed this effect.

Conclusion: Allium ampeloprasum leaves can affect the ileum contractions through beta adrenoreceptors and voltage-dependent calcium channels and might be used in gastrointestinal disorders.

Keywords: Allium ampeloprasum, Ileum, Beta-blockers

Citation: Sedighi-Hafshejani M, Noori-Ahmadabadi M, Nasri H, Hadi M, Rafieian-Kopaei M. **In-Vitro Evaluation of Hydroalcoholic Extract of Allium Ampeloprasum on Rat Ileum Contractions.** J Isfahan Med Sch 2014; 31(268): 2238-49

1- Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
2- Student of Medicine, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
3- Professor, Department of Nephrology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Department of Statistics, School of Health, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
5- Professor, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
Corresponding Author: Mahmoud Rafieian-Kopaei PhD, Email: rafieian@yahoo.com