Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 22:27 +0330 on Monday September 25th 2017

مقاله پژوهشی

نقش نیتریک اکساید و ذخایر داخل سلولی کلسیم در اثر حفاظتی عصاره آبی گیاه درمنه بر پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی به آگونیست آلفا ۱ – آدرنوسپتور در موشهای صحرایی دیابتی

دکتر توراندخت بلوچ نژاد مجرد* ، دکتر مهرداد روغنی**، فروزان صادقی محلی***

دریافت : ۸۵/۲/۱۲ ، پذیرش : ۸۵/۵/۲

چکیده:

مقدمه و هدف : دلیل اصلی مرگ و میر در بیماران دیابتی اختلالات عروقی است. با توجه بـه نقـش گیاهـان حـاوی فلاونوئیـد در برطرف نمودن عوارض عروقی دیابت و اثر حفاظتی عصاره آبی گیاه درمنه (Artemisia annua) بر پاسـخ انقباضـی حلقـه هـای آئورتی در موشهای دیابتی، در این مطالعه مکانیسم اثر گشادکنندگی عروقی عصاره این گیاه مورد بررسی قرار گرفته است.

روش کار: در این مطالعه تجربی موش های صحرایی نر از نژاد ویستار به تعداد ۳۶ راس بطور کاملا تصادفی به سه گروه سـالم، دیابتی درمان نشده و دیابتی تحت درمان با عصاره آبی درمنه تقسیم بندی شدند. برای دیابتی شدن حیوانات از استرپتوزوتوسین به میزان ۶۰ میلی گرم به کیلوگرم بصورت داخل صفاقی استفاده شد. گروه تحت درمان نیز عصاره آبی درمنه را به میزان ۱۰۰ میلی گرم به کیلوگرم بصورت داخل صفاقی به مدت یک ماه دریافت کرد. پس از گذشـت یـک مـاه، پاسخ انقباضـی حلقـه هـای آئورتی به فنیل افرین در حضور L- NAME و EGTA با استفاده از بساط بافت ایزوله مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج : مقایسه پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی دارای آندوتلیوم به فنیل افرین، قبل و بعد از اضافه نمودن L-NAME در موشـهای دیابتی درمان نشده و درمان شده، تفاوت معنی داری را نشان داد($P<0.05$). از طرف دیگر، مقایـسه پاسـخ انقباضـی حلقـه هـای آئورتی دارای آندوتلیوم و بدون آندوتلیوم به فنیل افرین در کربس فاقد کلسیم و در حضور EGTA نشان داد که در دو گروه دیابتی درمان نشده و درمان شده تفاوت معنی دار است($P<0.05$).

نتیجه نهائی : به طور کلی می توان گفت که اثر گشادکنندگی عروقی عصاره آبـی درمنـه در حیوانـات دیـابتی اثـری وابـسته بـه آندوتلیوم است و از طریق افزایش در تولید و یا آزاد سازی نیتریک اکساید عمل می کند همچنین می تواند اثر خود را از طریق مهار آزاد سازی کلسیم از منابع داخل سلولی اعمال نماید.

کلید واژه ها : آئورت / دیابت شیرین / فنیل افرین / کلسیم / گیاه درمنه / نیتریک اکساید

مقدمه :

دیابت قندی(Diabetes Mellitus) یکی از شایعترین بیماریهای غدد درون ریز در ایران است . هیپرگلیسمی در دیابت موجب بروز عوارض متعـددی از جملـه اخـتلالات قلبی- عروقی می شـود کـه علـت اصـلی مـرگ و میـر در بیماران دیابتی است . افزایش ضخامت غشاء پایه مـویرگی (۱)، کاهش تراکم عروق کوچک (۲)، دژنره شدن سلولهای آنـدوتلیال عروقـی (۳) ، تغییـر در پاسـخهای وابـسته بـه آندوتلیوم عروق (۴) ،کاهش ظرفیت آندوتلیال برای تولیـد و آزاد سازی نیتریک اکساید (NO) وکاهش عملکرد NO

* دانشیار گروه فیزیولوژی مرکز علوم پایه پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران(tmojarad@yahoo.com)
** دانشیار گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد
*** کارشناس ارشد گروه فیزیولوژی مرکز علوم پایه پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 22:27 +0330 on Monday September 25th 2017

بدنبال واکنش با رادیکالهای آزاد که در مسیر سیکلو اکسیژناز در عروق دیابتی آزاد می شوند(۵) از جمله عوارض عروقی بیماران دیابتی است. در حال حاضراستفاده از گیاهان دارویی حاوی فلاونوئید، بدلیل دارا بودن خواص درمانی و فارماکولوژیکی جهت درمان و پیشگیری از عوارض قلبی- عروقی بیماری دیابت مورد توجه محققین قرار گرفته است(۶). فلاونوئیدها ، پلی فنولهایی هستند که دارای فعالیتهای بیولوژیکی گوناگون از قبیل مهار تجمع پلاکتی، جمع کردن رادیکالهای آزاد، بهبود عملکرد NO و کاهش لیپو پروتئینهای با دانسیته پایین در پلاسما می باشند(۷). در میان گیاهان دارویی ، گونه آرتمیس که در جنوب شرقی آسیا و مناطق شمالی ایران یافت میشود، غنی از موادی است که دارای اثرات گوناگونی از جمله اثر ضد التهاب (۸)، ضد تومور (۹)، ضد زخم معده (۱۰)، مدر (۱۱)، آنتی آکسیدان (۱۲)، ضد مالاریا (۱۳)، کاهش دهنده سوء هاضمه (۱۴)، ضد پرولیفراسیون سلولی (۱۵)، می باشد. این گونه گیاهی دارای اثر اسپاسمولتیک بر انقباضات القاء شده بوسیله کارباکولین است(۱۶). مطالعات اولترا سونیک نشان داده است که تجویز داخل وریدی آرتمیس دارای اثرات قابل ملاحظه ای بر انقباض کیسه صفرا می باشد(۱۷). در این گونه گیاهی آلکالوئیدی شناسایی شده است که براحتی از سد خونی- مغزی عبور کرده و می تواند بعنوان مهار کننده استیل کولین استراز مانع نورو توکسیسیتی در مغز انسان شود (۱۸). مطالعات اخیر نشان داده است که تجویز ساب کرونیک عصاره آبی گیاه درمنه (Artemisia annua) نه تنها گلوکز سرم را در حیوانات دیابتی در حد نرمال نگه می دارد بلکه قادر است قبل از وقوع تغییرات ساختمانی و بیوشیمیایی در عروق مانع اثرات مخرب دیابت بر عملکرد فیزیولوژیکی آنها شود و از افزایش پاسخ انقباضی آئورت به آگونیست α – آدرنرژیک جلوگیری می کند(۱۹). از آنجایی که مهمترین عارضه بیماری دیابت ، اختلالات عروقی است و عصاره آبی گیاه درمنه بطور قابل ملاحظه ای از بروز چنین عوارضی پیشگیری می نماید لذا هدف از این مطالعه بررسی نقش NO و کلسیم داخل سلولی در اثر حفاظتی این گیاه بر پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی به آگونیست α- آدرنژیک در موشهای دیابتی است.

روش کار:

حیوانات: این مطالعه از نوع تجربی و به روش مداخله ای بر روی موشهای صحرایی نر نژاد ویستار به وزن ۲۵۰-۲۲۰ گرم انجام شد. حیوانات در حیوانخانه مرکز علوم پایه نگهداری و آب و غذای مخصوص(Pellete) بدون هیچگونه محدودیتی در اختیار آنها قرار داده می شد. قبل از شروع آزمایش گلوکز سرم موشها به روش آنزیمی گلوکز اکسیداز با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه گیری شده و تنها موشهایی که گلوکز سرم آنها کمتر از ۱۵۰mg/dl بود برای این مطالعه انتخاب می شدند .در این مطالعه، حیوانات بطور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند . ۱) حیوانات سالم (n=۱۲) که به مدت یک ماه بصورت داخل صفاقی سرم فیزیولوژی (بعنوان حلال عصاره آبی گیاه درمنه) دریافت می کردند (Vehicle-treated rats) ۲)حیوانات دیابتی درمان نشده (n=۱۲) که به مدت یک ماه بصورت داخل صفاقی سرم فیزیولوژی دریافت می کردند (Vehicle-treated diabetic rats) ۳) حیوانات دیابتی درمان شده (n=۱۲)که ۳ روز پس از دیابتی شدن، روزانه به مدت یک ماه ۱۰۰میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی گیاه درمنه دریافت می کردند (Extract-treated diabetc rats). موشها با تزریق داخل صفاقی۶۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن استرپتوزوتوسین دیابتی می شدند . در این مطالعه حیواناتی دیابتی محسوب می شدند که گلوکز سرم آنها بیشتر از ۲۵۰ mg /dl بود.

روش تهیه عصاره و انجام کار : برای تهیه عصاره آبی گیاه Artemisia annua سر شاخه های این گیاه از جنگلهای مناطق شمالی کشور (بابلسر) جمع آوری شده و پس از تایید سیستمیک، ۱۰۰ گرم از پودر این گیاه که در معرض هوا خشک شده بود را به یک لیتر آب مقطرجوشیده اضافه کرده و در دمای ۶۰ درجه به مدت ۱۵ دقیقه قرار می دادیم . مایع بدست آمده پس از سه بار صاف کردن با فیلتر کاغذی، در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد خشک می شد تا بصورت عصاره عسلی با غلظت ۶۲٪ (w/w) در آید . سپس عصاره بدست آمده در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری و برای تهیه غلظتهای مورد نظر از سرم فیزیو لوژی استفاده می شد . پس از ۴ هفته دریافت عصاره آبی Artemisia annua ، آئورت سینه ای موش های صحرایی را داخل پتری دیش که حاوی محلول

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 22:27 +0330 on Monday September 25th 2017

کـربس(KCl , 4.6 ; $MgSo_4$, 1.2 ;KH_2Po_4 , 1.2 ; NaCl , 118 Glucose , 11.1 ; $NaHco_3$, 27.2;) بـود و گاز کربـوژن(۹۵٪ اکسیژن + ۵٪ دی اکسید کـربن) نیـز بطور دائم بداخل آن دمیده می شد ، قـرار داده و آنـرا بـه حلقه های ۴-۳ میلی متری تقسیم کرده و یـک در میـان آندوتلیوم حلقه ها را بـا اسـتفاده از روش مکـانیکی جـدا می نمودیم . برای ثبت پاسخ انقباضی حلقه هـا بـه فنیـل افـرین از ترانـسدیوسر ایزوتونیـک F60 اسـتفاده شـده وکشش استراحت اعمال شده ۲ گرم در نظـر گرفتـه شـد. نیم ساعت پس از ثبت پاسخ انقباضی حلقه هـای آئـورتی به فنیل افرین (با غلظت تجمعی $۱۰^{-۹}$ تا $۱۰^{-۴}$ میلی مول) و شستشوی حلقه های دارای آندوتلیوم، به حمام بافت ۳۰۰ میکرومول L-NAME (L –nitro Argenin methyl ester) جهت مهار آنـزیم نیتریـک اکـساید سـنتاز(NOS) اضـافه نموده و مجددا پاسخ انقباضـی حلقـه هـای آئـورتی را بـه فنیل افرین ثبت می کردیم . برای بررسـی نقـش ذخـایر داخـل سـلولی کلـسیم در اثـر حفـاظتی عـصاره گیـاه Artemisia annua، حلقه های آئورتی دارای آنـدوتلیوم و بـدون آنـدوتلیوم را در محلـول کـربس فاقـد کلـسیم (Calcium-free PSS; کلریـد منیزیـوم جـایگزین کلریـد کلـسیم مـی شـد) قـرار مـی دادیـم و پـس از ۵-۴ بارشستشوی حلقه ها، ۵۰ میکرومـول EGTA (Ethylene glycol tetraacetic acid) جهت بافرینگ کلسیم به کربس فاقد کلسیم اضافه نموده و پس از آن پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی را به غلظـت $۱۰^{-۶}$ مـولار فنیـل افـرین ثبـت می کردیم . استرپتوزوتوسین از هلال احمـر، L-NAME و EGTA از سیگما و فنیل افرین هیدرو کلرایـد از شـرکت داروسازی دارو پخش تهیه شد. تمامی مقادیر بدست آمده در این مطالعه بصورت Mean±S.E.M و پاسخ انقباضی بـه فنیل افرین بصورت Tension(g) بیان شده است .

آنالیز آماری داده ها با استفاده از آزمون تی زوجـی و مستقل و آنالیز واریانس یکطرفه انجام گردید وP کمتـر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج :

وزن بدن و گلوکز سرم: مقایسه نتایج حاصل از ثبت وزن و گلوکز سرم مـوش هـای صـحرایی قبـل و بعـد از مـدت آزمایش (۴ هفته) نشان داد که وزن موشـهای دیـابتی درمـان نـشده یـک مـاه پـس از دیـابتی شـدن کـاهش می یابد (P<۰/۰۰۰۱) ولی در حیوانات دیابتی درمان شده که بمدت یک ماه عصاره آبـی Artemisia annua دریافـت کرده انـد وزن حیوانـات افـزایش معنـی داری نـشان مـی دهد(P<۰/۰۰۱). از طرف دیگـر مقایـسه گلـوکز سـرم در حیوانات دیابتی درمان نشده و حیوانات دیابتی درمان شده با عصاره آبی این گیاه نشان می دهـد کـه ۴ هفتـه تیمـار حیوانات با عصاره آبی درمنه موجب کاهش معنی داری در میزان گلوکز سرم می شود(P<۰/۰۰۰۱) (جدول ۱) .

جدول ۱: وزن بدن و گلوکز سرم حیوانات سالم، دیابتی درمان نشده و درمان شده

	گلوکز سرم(mg/dl)	وزن بدن(گرم)	
		شروع آزمایش	انتهای آزمایش
VT	۹۶/۸۹ ±۱	۲۱۰/۵۵ ± ۵/۴۸	۲۳۰/۱۸ ± ۴/۲۵
VD	۲۰/ ۴۰ ±۵۶۰*	۲۲۷/۹۰ ± ۹/۳۳	۱۷۸** ± ۲/۵۳
ED	۸۲/ ۳±۱۰۲/۰۱	۲۲۰ ± ۴/۵۶	۲۶۰/۲ ± ۸/۳۰

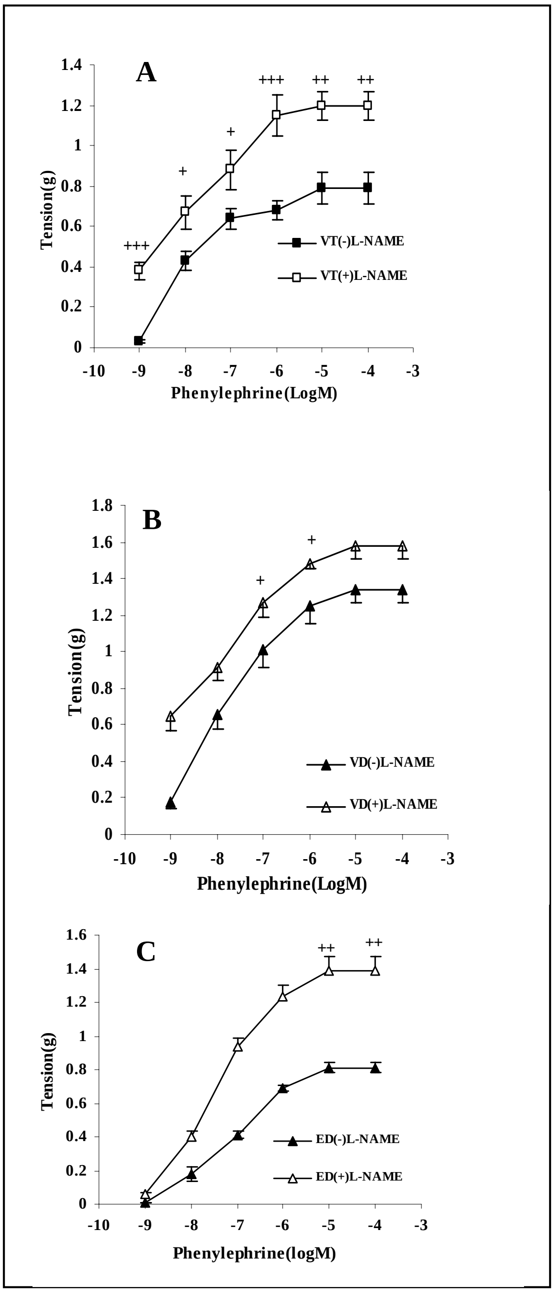
مقـادیر بـصورت Mean±SEM بیـان شـده انـد. VT ، VD وED هریـک بترتیب معادل گروه هـای Vehicle-treated، Vehicle- treated diabetic و Extract-treated diabetic می باشند.

(مقایسه گلوکز سرم در دو گروه VD و ED) ۰/۰۰۰۱ > P *

(مقایسه وزن بدن در دو گروه VD وED در انتهای آزمایش) ۰/۰۰۱ >P **

نقش NO بر پاسخ انقباضی آئورت در موش های صحرایی سالم: برای بررسـی نقـش NO بـر پاسخ انقباضـی حلقـه هـای آئورتی دارای آندوتلیوم، نتایج حاصل از تاثیر تجمعی فنیل افرین بر حلقه های آئورتی در غلظت های $۱۰^{-۹}$ تـا $۱۰^{-۴}$ مـولار قبـل و بعـد از اضـافه کـردن L-NAME بـصورت نمودار Log غلظت فنیل افـرین- پاسـخ انقباضـی آئـورت ثبت شد. نتایج حاصل نـشان داد کـه پـس از اضـافه کـردن L-NAME به حمام بافت، افـزایش قابـل ملاحظـه ای در پاسـخ انقباضـی حلقـه هـای آئـورتی بـا آنـدوتلیوم در موشهای سالم (P<۰/۰۰۱ - ۰/۰۵> P) بوجـود مـی آیـد (نمودار A ۱).

نقش NO بر پاسخ انقباضی آئـورت در مـوش هـای صـحرایی دیابتی درمان نشده و دیابتی درمان شـده : نتـایج حاصـل از تاثیر تجمعی فنیل افرین بر حلقه های آئورتی موش هـای صحرایی دیابتی درمان نشده و دیابتی درمان شـده قبـل و بعد از اضافه کردن L-NAME نشان داد که پس از اضـافه کردن L-NAME به حمام بافت، ا فزایش قابل ملاحظه ای در پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی با آندوتلیوم موشـهای دیابتی درمان نشده (P<۰/۰۰۱ – ۰/۰۵> P) ودرمان شـده (P<۰/۰۰۰۱ -P<۰/۰۰۱) بوقـــوع مـــی پیونـــدد (نمودار۱B,C).



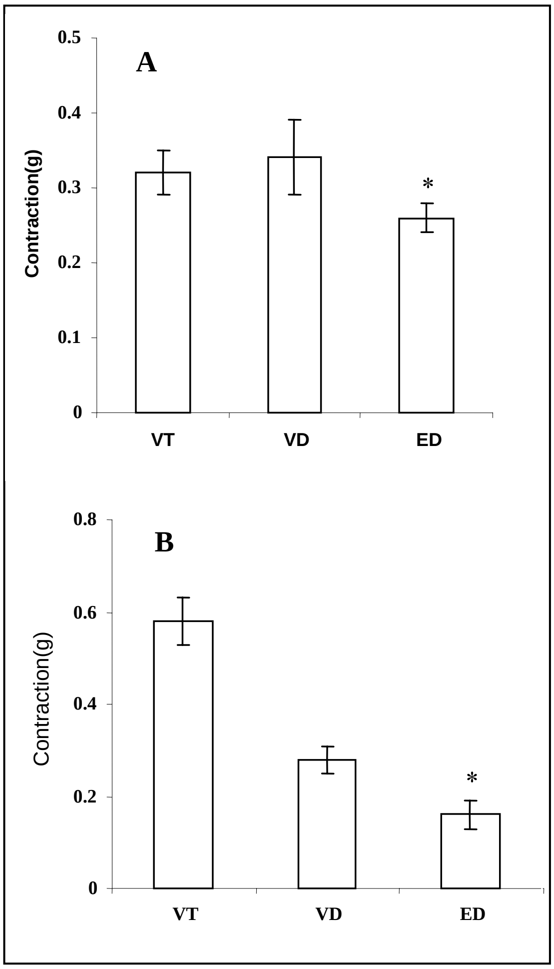
نمودار ۱: اثر گشادکنندگی عصاره Artemisia annua بر پاسخ انقباضی آئورت به فنیل افرین قبل و بعد از اضافه کردن L-NAME (A) در گروه سالم و دیابتی درمان نشده(B) و گروه دیابتی درمان شده (C). VT و VD و ED هر یک بترتیب معادل گروههای Vehicle-treated و Vehicle-treated diabetic و Extract-treated diabetic است.

در نمودار A : (مقایسه پاسخ انقباضی در گروه VT قبل و بعد از اضافه کردن L-NAME) *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

در نمودار B : (مقایسه پاسخ انقباضی در گروه VD قبل و بعد از اضافه کردن L-NAME) $^{+}$P<0.001 $^{+}$P<0.05

در نمودار C : (مقایسه پاسخ انقباضی در گروه ED قبل و بعد از اضافه کردن L-NAME) $^{+}$P<0.001, $^{++}$P<0.0001

نقش ذخایر داخل سلولی کلسیم در اثر حفاظتی گیاه درمنه بر پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی با آندوتلیوم: برای بررسی نقش ذخایر داخل سلولی کلسیم در اثر گشادکنندگی عروقی درمنه، مرحله اول پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی دارای آندوتلیوم به غلظت 10^{-6} فنیل افرین در حضور EGTA در موشهای دیابتی درمان نشده و درمان شده ثبت گردید(نمودار A ۲). نتایج بدست آمده نشان داد پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی دارای آندوتلیوم در حضور EGTA در موش های دیابتی درمان شده نسبت به موشهای دیابتی درمان نشده کاهش معنی داری می یابد (P<۰/۰۵).



نمودار ۲: اثر گشادکنندگی عصاره Artemisia annua **بر پاسخ انقباضی آئورت به فنیل افرین(10^{-6} مولار) با آندوتلیوم** (A) **و بدون آندوتلیوم** (B) **در حضور** EGTA **در گروه های سالم و دیابتی درمان نشده و درمان شده (گروه**ED **در مقایسه با** VD **در** A **و** B **)** * P<0.05

نقش ذخایر داخل سلولی کلسیم در اثر حفاظتی گیاه درمنه بر پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی بدون آندوتلیوم : مقایسه نتایج بدست آمده از ثبت مرحله اول پاسخ انقباضی

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 22:27 +0330 on Monday September 25th 2017

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 22:27 +0330 on Monday September 25th 2017

حلقه های آئورتی بدون آندوتلیوم فنیـل افـرین در حـضور EGTA در موشهای دیابتی درمـان نـشده و درمـان شـده نشان داد کـه پاسخ انقباضـی حلقـه هـای آئـورتی بـدون آندوتلیوم نیز در حـضور EGTA در مـوش هـای دیـابتی درمان شده نسبت به موشهای دیابتی درمان نشده کاهش معنی داری می یابد (P< ۰/۰۵) (نمودار 2B).

بحث:

در ایـن مطالعـه، نقـش NO و ذخـایر داخـل سـلولی کلسیم در اثر گشادکنندگی عروقی عصاره آبی گیاه درمنه مورد بررسی قرار گرفتـه اسـت. برخـی از مطالعـات اخیـر بدون اشاره به مکانیسم های در گیر نشان می دهند که در حیوانات سالم و دیابتی عـصاره آبـی گیـاه درمنـه موجـب کاهش پاسخ انقباضی آئورت به فنیل افرین می شود(۱۹). نتایج بدست آمده از این تحقیق بیانگر آن است که L-NAME پاسخ انقباضی آئورت را به فنیل افرین در موشهای دیابتی درمان نشده ودرمان شده باعصاره آبی گیاه درمنه افـزایش می دهد . بعلاوه عصاره این گیاه پس از حـذف کلـسیم و اضافه نمودن EGTA به حمام بافت توانست تنهـا مرحلـه اول پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی به فنیل افـرین را تـا حد معنی داری کاهش دهد تاثیری بـر مرحلـه دوم پاسـخ انقباضی (انقباض ثانویه تونیک) آئـورت بـه فنیـل افـرین ندارد. با توجه به نتایج حاصل بنظر می رسد NO و ذخایر داخل سلولی کلسیم نقش مهمی در بروز اثر وازودیلاتوری عصاره آبی گیاه داشته باشد . سایر مطالعات نیز حـاکی از وابسته بودن اثر گشادکنندگی عروقی بـسیاری از گیاهـان دارویی به آندوتلیوم است. تحقیقات نـشان داده اسـت کـه آندوتلیوم عروق با آزاد کردن NO از سلول های آنـدوتلیال نقـش مهمـی در کنتـرل تونـسیته عـروق دارد (۲۴-۲۰). چنانکه عصاره برگ گیاه لوبوما، فلاون مشتق از سلاجینلا، عصاره آبی ائوکومیا علاوه بر این کـه از طریـق آزاد کـردن عوامل هیپر پلاریزه کننده مشتق از آندوتلیوم که منجر به فعال شدن کانالهای پتاسیم مـی شـوند اثـر وازودیلاتـوری خود را اعمال می کنند، با تولید و آزاد کردن NO نیز ایـن اثر را تـشدید مـی نماینـد(۲۷-۲۵). در ایـن مطالعـه اثـر وازودیلاتوری القاء شده بوسـیله عـصاره آبـی گیـاه درمنـه وابسته به وجود سـلولهای آنـدوتلیال بـا عملکـرد طبیعـی می باشد چنانکه بعد از مهار آنزیم نیتریک اکساید سنتاز با اسـتفاده از L-NAME ، ایـن اثـر کـاهش چـشمگیری می یابد. مطالعات مشابه که با استفاده از یکی دیگر از مهار کننده های آنزیم نیتریک اکساید سـنتاز یعنـی L-NNA انجام شده است نیز مؤید این یافته می باشد (۲۴). از ایـن رو ، بعید بنظر می رسد اثر گـشادکنندگی ایـن عـصاره از طریق فعال نمودن مستقیم گـوانیلات سـیکلاز و یـا مهـار فسفودی استراز در عضلات صاف باشـد. از آنجـایی کـه در حیوانات دیابتی درمان نشده نیز L-NAME پاسخ انقباضی آئورت به فنیل افرین را کـاهش داد بنـابر ایـن مـی تـوان نتیجه گرفت که مـدت آزمـایش یعنـی یـک مـاه پـس از دیابتی کردن حیوانات، برای تخریب آندوتلیوم آئورت کافی نبوده و NO کماکان از آن آزاد شده اسـت . بعـلاوه نتـایج حاصل از مطالعات بیو آسای نـشان داده اسـت کـه میـزان NO در سـلول هـای آنـدوتلیال عـروق حیوانـات سـالم و دیابتی همانندیکدیگر است و در حیوانات دیابتی هیچگونه کاهشی در فعالیت آنزیم نیتریک اکساید سنتاز آندوتلیومی دیده نمی شود.از این روپیشنهاد شده است که در حیوانات دیابتی آزاد شـدن H_2O_2 از آنـدوتلیوم عـروق و افـزایش رادیکالهای آزاد و واکنش آنها با NO ، علاوه بر محدودیت عملکرد NO، حساسیت عروق را به NO کاهش می دهد(۲۸). از طرف دیگر در آئورت موش صحرایی، آگونیست های α_1 – آدرنو سپتور مانند فنیل افرین و نور آدرنالین عـلاوه بـر القای یک انقباض اولیه و کوتاه مدت موجب انقباض ثانویه تونیک نیز می شوند. انقباض اولیه با آزاد سازی کلـسیم از منابع داخل سلولی در ارتباط می باشد در حالیکه انقبـاض تونیک ثانویه وابسته به جریان رو بداخل کلسیم از طریـق کانال های کلسیمی وابسته به لیگاند است(۲۹). در مطالعه حاضر، نقش آزادسازی کلسیم از منابع داخل سلولی بر اثر وازودیلاتوری عصاره آبی گیاه درمنه بطور غیر مستقیم بـا ارزیابی اثر آن بر انقباض القاء شده بوسیله فنیل افـرین در کربس فاقد کلسیم در حضور EGTA مـورد بررسـی قـرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره این گیاه قادر است بطـور قابل توجهی پاسخ انقباضی اولیه به فنیل افرین را تخفیـف دهد. بنظر می رسد غلظت بکار گرفته شده از عصاره آبـی گیاه توانسته است موجب مهار آزادسازی کلسیم از منـابع داخل سلولی از قبیل رتیکولوم سارکوپلاسمیک شود.

با توجه بـه نتـایج بدسـت آمـده، از آنجـایی کـه اثـر وازودیلاتوری عصاره آبی گیاه درمنه با غلظت ۱۰۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن حتی پس از حذف آندوتلیوم نیز مشاهده شده است(۱۹)، بنابراین بخشی از اثر گشادکنندگی عصاره این گیاه مستقیم و غیر وابسته به آندوتلیوم است.

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 22:27 +0330 on Monday September 25th 2017

نتیجه نهائی :

در مجموع عصاره آبی گیاه درمنه می تواند هم در مراحل اولیه بیماری دیابت که هنوز آندوتلیوم عروق آسیب ندیده است و هم در مراحل پیشرفت بیماری که آندوتلیوم عروق از بین رفته است اثر وازودیلاتوری خود را بترتیب از طریق تولید وآزادسازی NO ، مهار آزادسازی کلسیم از منابع داخل سلولی و یا با اعمال اثر مستقیم خود بر عروق به انجام برساند. بدیهی است مطالعات بیشتر در این ارتباط می تواند سایر مکانیسمهای در گیر در اثرات عصاره گیاه درمنه را مشخص نماید.

سپاسگزاری :

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران که کلیه هزینه های مربوط به این طرح را تقبل نموده اند نهایت تشکر را دارد. همچنین نویسندگان این مقاله از همکاری صمیمانه ریاست مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی و پرسنل آن سپاسگزار می باشند.

منابع :

1. Beisswenger PG, Spiro RG. Human glomerular basement membrane: chemical alteration in diabetes mellitus, Science 1970, 168(931):596-8.
2. Bohlen HG, Niggl BA. Arteriolar anatomical and functional abnormalities in juvenile mice with genetic or streptozotocin-induced diabetes mellitus. Circ Res 1979, 45(3):390-6.
3. Hayos D, Zieglar T, Bruner HR, Ruise J. Diabetes mellitus and vascular lesions. Metabolism 1998;47(12): Suppl 1:16-19.
4. Durante W, Sen AK, Sunahara FA. Impairment of endothelium-dependent relaxation in aortae from spontaneously diabetic rats. Br J Pharmacol 1988, 94(2):463-8.
5. Pieper GM, Langenstroer P, Siebeneich W. Diabetic-induced endothelial dysfunction in rat aorta: role of hydroxyl radicals, Cardiovasc Res 1997;34(1):145-56.
6. Mashour NH, Lin GJ, Frishman WH. Herbal medicine for the treatment of cardiovascular disease. Arch Intern Med 1998;158(20): 2225-34.
7. Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Vaez-Mahdavi MR, Roghani-Dehkordi F. Mechanisms underlying quercetin-induced vasorelaxation in aorta of subchronic diabetic rats: an in vitro study. Vascul Pharmacol 2004; 42(1):31-5.
8. Tigno XT, Gumila E. In vivo microvascular actions of Artemisia vulgaris L. in a model of ischemia-reperfusion injury in the rat intestinal mesentery, Clin Hemorheol Microcirc 2000;23(2-4):159-65.
9. Kim DH, Na HK, Oh TY, Kim WB, Surh YJ. Eupatilin, a pharmacologically active flavone derived from Artemisia plants, induces cell cycle arrest in ras-transformed human mammary epithelial cells. Biochem Pharmacol 2004; 15;68(6):1081-7.
10. Foglio MA, Dias PC, Antonio MA, Possenti A, Rodrigues RA, da Silva EF, et al. Antiulcerogenic activity of some sesquiterp lactones isolated from Artemisia annua. Planta Med 2002, 68(6):515-8.
11. Tagawa C, Kagawa T, Nakazawa Y, Onizuka S, Nishibe S, Kawasaki H. Studies on antihypertensive effect of Luobuma (Apocynum venetum L.) leaf extract Yakugaku Zasshi 2004;124(11):851-6.
12. Kim KS, Lee S, Lee YS, Jung SH, Park Y, Shin KH, Kim BK. Antioxidant activities of the extracts from the herbs of Artemisia apiacea, J Ethnopharmacol 2003; 85(1): 69-72.
13. Mueller MS, Runyambo N, Wagner I, Borrmann S, Dietz K, Heide L. Randomized controlled trial of a traditional preparation of Artemisia annua L. (Annual Wormwood) in the treatment of malaria. Trans R Soc Trop Med Hyg 2004; 98(5): 318-21.
14. Gharzouli K, Khennouf S, Amira S, Gharzouli A. Effects of aqueous extracts from Quercus ilex L. root bark, Punica granatum L. fruit peel and Artemisia herba-alba Asso leaves on ethanol-induced gastric damage in rats. Phytother Res 1999; 13(1):42-5.
15. Pan SL, Huang YW, Guh JH, Chang YL, Peng CY, Teng CM. Esculetin inhibits Ras-mediated cell proliferation and attenuates vascular restenosis following angioplasty in rats. Biochem Pharmacol 2003;65(11): 1897-905.
16. Bergendorff O, Sterner O. Spasmolytic flavonols from Artemisia abrotanum. Planta Med 1995; 61(4): 370-1
17. Yu ZF, Wu XS. Ultrasonic studies of the effect of artemisia decoction on the volume and dynamics of gallbladder. Chin Med J (Engl) 1993;106(2):145-8.
18. Heo HJ, Yang HC, Cho HY, Hong B, Lim ST, Park HJ. Inhibitory effect of Artemisia asiatica alkaloids on acetylcholinesterase activity from rat PC12 cells. Mol Cells 2000; 10(3):253-62.
19. Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Zare N. Effect of subchronic administration of aqueous Artemisia annua extract on 1-adrenoceptor agonist-induced contraction of isolated aorta in rat. IBJ 2005;9(2): 57-62.

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 22:27 +0330 on Monday September 25th 2017

20. Peach MJ, Singer HA, Loeb AL. Mechanisms of endothelium-dependent vascular smooth muscle relaxation.Biochem Pharmacol 1985, 34(11):1867-74.
21. Konishi M, Su C. Role of endothelium in dilator responses of spontaneously hypertensive rat arteries.Hypertension 1983; 5(6): 881-6.
22. Perez-Vizcaino F, Ibarra M, Cogolludo AL, Duarte J, Zaragoza-Arnaez F, Moreno L, et al. Vasorelaxing activity of resveratrol and quercetin in isolated rat aorta. Gen Pharmacol 1996, 27(2):363-6.
23. Ajay M, Gilani AU, Mustafa MR. Effects of flavonoids on vascular smooth muscle of the isolated rat thoracic aorta. Life Sci 2003; 74(5):603-12.
24. Chan EC, Pannangpetch P, Woodman OL. Relaxation to flavones and flavonols in rat isolated thoracic aorta: mechanism of action and structure-activity relationships, J Cardiovasc Pharmacol 2000;35(2):326-33.
25. Ghayur MN, Gilani AH. Ginger lowers blood pressure through blockade of voltage-dependent calcium channels. J Cardiovasc Pharmacol 2005; 45(1): 74-80.
26. Kang DG, Yin MH, Oh H, Lee DH, Lee HS. Vasorelaxation by amentoflavone isolated from Selaginella tamariscina. Planta Med 2004; 70(8):718-22.
27. Kwan CY, Chen CX, Deyama T, Nishibe S. Endothelium-dependent vasorelaxant effects of the aqueous extracts of the Eucommia ulmoides Oliv leaf and bark: implications on their antihypertensive action. Vascul Pharmacol 2003;40(5):229-35.
28. Pieper GM, Mei DA, Langenstroer P, O'Rourke ST. Bioassay of endothelium-derived relaxing factor in diabetic rat aorta. Am J Physiol 1992; 263(3 Pt 2): H676-80.
29. Abebe W, Harris KH, MacLeod KM. Enhanced contractile responses of arteries from diabetic rats to alpha 1-adrenoceptor stimulation in the absence and presence of etracellular calcium. J Cardiovasc Pharmacol 1990;16(2):239-48.