

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 به نقش گیاهان حاوی فلاونوئید در برطرف نمودن عوارض عروقی دیابت و اثر حفاظتی عصاره آبی گیاه درمنه (*Artemisia annua*) بر پاسخ انقباضی حلقه های 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 کاملاً تصادفی به سه گروه سالم، 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 گذشت یک ماه، پاسخ انقباضی حلقه های 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 موشهای دیابتی درمان نشده و درمان شده، تفاوت معنی داری را نشان داد ($P < 0.05$). از طرف دیگر، مقایسه پاسخ انقباضی حلقه های 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 نهایی:** به طور کلی می توان گفت که اثر گشادکنندگی عروقی عصاره آبی درمنه در حیوانات دیابتی اثری وابسته به 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.

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

مقدمه:

بیماران دیابتی است. افزایش ضخامت غشاء پایه مویرگی (۱)، کاهش تراکم عروق کوچک (۲)، دژنره شدن سلولهای آندوتلیال عروقی (۳)، تغییر در پاسخهای وابسته به آندوتلیوم عروق (۴)، کاهش ظرفیت آندوتلیال برای تولید و آزاد سازی نیتریک اکساید (NO) و کاهش عملکرد NO

دیابت قندی (Diabetes Mellitus) یکی از شایعترین بیماریهای غدد درون ریز در ایران است. هیپرگلیسمی در دیابت موجب بروز عوارض متعددی از جمله اختلالات قلبی-عروقی می شود که علت اصلی مرگ و میر در

* 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

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 اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شده و تنها موشهایی که گلوکز سرم آنها کمتر از ۱۵۰ mg/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 ۱۰۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی گیاه درمنه دریافت می کردند (Extract-treated diabetic rats). موشها با تزریق داخل صفاقی ۶۰ 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 مقطر جوشیده 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 (w/w) ۶۲٪ در آید. سپس عصاره بدست آمده در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری و برای تهیه غلظتهای مورد نظر از سرم فیزیولوژی 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

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 حاضر استفاده 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 آرتیمیس 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 اسپاسمولیتیک بر انقباضات القاء شده بوسیله کارباکولین است (۱۶). مطالعات اولترا سونیک نشان داده است که تجویز داخل وریدی آرتیمیس دارای اثرات قابل ملاحظه ای بر انقباض کیسه صفرا می باشد (۱۷). در این گونه گیاهی آکالوئیدی 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 - آدرنژیک 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.

که بمدت یک ماه عصاره آبی *Artemisia annua* دریافت کرده اند وزن حیوانات افزایش معنی داری نشان می دهد ($P < 0.001$). از طرف دیگر مقایسه گلوکز سرم در حیوانات دیابتی درمان نشده و حیوانات دیابتی درمان شده با عصاره آبی این گیاه نشان می دهد که ۴ هفته تیمار حیوانات با عصاره آبی درمنه موجب کاهش معنی داری در میزان گلوکز سرم می شود ($P < 0.001$) (جدول ۱).

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

	وزن بدن (گرم)		گلوکز سرم (mg/dl)
	شروع آزمایش	انتهای آزمایش	
VT	۲۱۰/۵۵ ± ۵/۴۸	۲۳۰/۱۸ ± ۴/۲۵	۹۶/۸۹ ± ۱
VD	۲۲۷/۹۰ ± ۹/۳۳	۲۱۷/۵۳ ± ۲/۵۳	۵۶۰ ± ۴۰/۲۰*
ED	۲۲۰ ± ۴/۵۶	۲۶۰/۲ ± ۸/۳۰	۱۰۲/۰۱ ± ۳/۸۲

مقادیر بصورت Mean±SEM بیان شده اند. VT، VD و ED هر یک برترتیب معادل گروه های Vehicle-treated، Vehicle-treated و Extract-treated diabetic می باشند.

(مقایسه گلوکز سرم در دو گروه VD و ED) $P < 0.001$ *

(مقایسه وزن بدن در دو گروه VD و ED در انتهای آزمایش) $P < 0.001$ **

نقش NO بر پاسخ انقباضی آئورت در موش های صحرایی سالم: برای بررسی نقش NO بر پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی دارای آندوتلیوم، نتایج حاصل از تاثیر تجمعی فنیل افرین بر حلقه های آئورتی در غلظت های 10^{-9} تا 10^{-4} مولار قبل و بعد از اضافه کردن L-NAME بصورت نمودار Log غلظت فنیل افرین - پاسخ انقباضی آئورت ثبت شد. نتایج حاصل نشان داد که پس از اضافه کردن L-NAME به حمام بافت، افزایش قابل ملاحظه ای در پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی با آندوتلیوم در موشهای سالم ($P < 0.001$ - $P < 0.05$) بوجود می آید (نمودار A ۱).

نقش NO بر پاسخ انقباضی آئورت در موش های صحرایی دیابتی درمان نشده و دیابتی درمان شده: نتایج حاصل از تاثیر تجمعی فنیل افرین بر حلقه های آئورتی موش های صحرایی دیابتی درمان نشده و دیابتی درمان شده قبل و بعد از اضافه کردن L-NAME نشان داد که پس از اضافه کردن L-NAME به حمام بافت، افزایش قابل ملاحظه ای در پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی با آندوتلیوم موشهای دیابتی درمان نشده ($P < 0.001$ - $P < 0.05$) و درمان شده ($P < 0.001$ - $P < 0.001$) بوجود می پیوندد (نمودار B,C ۱).

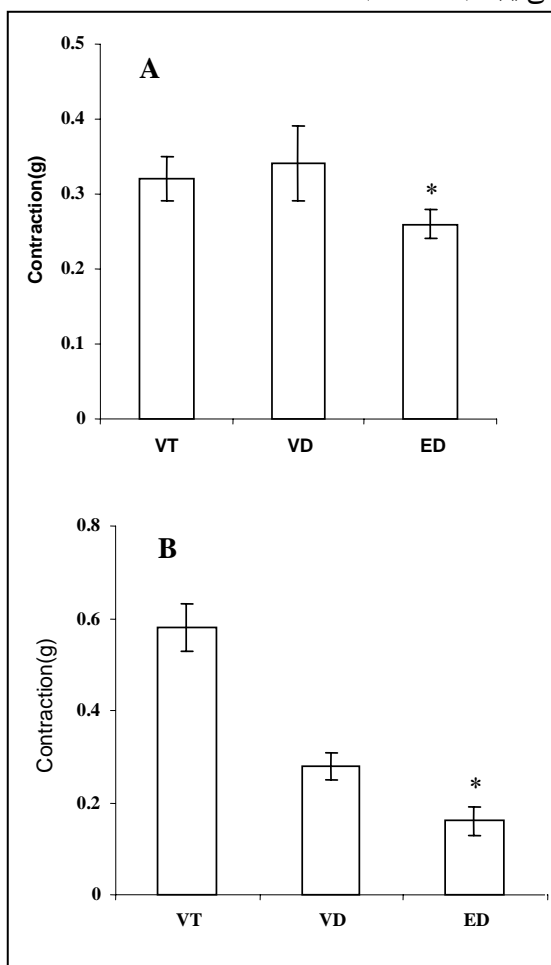
کریس (1.2 ; KH_2PO_4 , 1.2 ; $MgSO_4$, 1.2 ; KCl , 4.6 ; $NaCl$, 118 ; $Glucose$, 11.1 ; $NaHCO_3$, 27.2 ; گاز کربوژن (۹۵٪ اکسیژن + ۵٪ دی اکسید کربن) نیز بطور دائم بداخل آن دمیده می شد، قرار داده و آنرا به حلقه های ۳-۴ میلی متری تقسیم کرده و یک در میان آندوتلیوم حلقه ها را با استفاده از روش مکانیکی جدا می نمودیم. برای ثبت پاسخ انقباضی حلقه ها به فنیل افرین از ترانسدایوسر ایزوتونیک F60 استفاده شده و کشش استراحت اعمال شده ۲ گرم در نظر گرفته شد. نیم ساعت پس از ثبت پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی به فنیل افرین (با غلظت تجمعی 10^{-9} تا 10^{-4} میلی مول) و شستشوی حلقه های دارای آندوتلیوم، به حمام بافت ۳۰۰ میکرومول L-NAME (L-nitro Argenin methyl ester) جهت مهار آنزیم نیتریک اکساید سنتاز (NOS) اضافه نموده و مجدداً پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی را به فنیل افرین ثبت می کردیم. برای بررسی نقش ذخایر داخل سلولی کلسیم در اثر حفاظتی عصاره گیاه *Artemisia annua*، حلقه های آئورتی دارای آندوتلیوم و بدون آندوتلیوم را در محلول کریس فاقد کلسیم (Calcium-free PSS)؛ کلرید منیزیم جایگزین کلرید کلسیم می شد) قرار می دادیم و پس از ۴-۵ بار شستشوی حلقه ها، ۵۰ میکرومول EGTA (Ethylene glycol tetraacetic acid) جهت بافرینگ کلسیم به کریس فاقد کلسیم اضافه نموده و پس از آن پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی را به غلظت 10^{-6} مولار فنیل افرین ثبت می کردیم. استرپتوزوتوسین از هلال احمر، L-NAME و EGTA از سیگما و فنیل افرین هیدرو کلراید از شرکت داروسازی دارو پخش تهیه شد. تمامی مقادیر بدست آمده در این مطالعه بصورت Mean±S.E.M و پاسخ انقباضی به فنیل افرین بصورت Tension(g) بیان شده است.

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

نتایج:

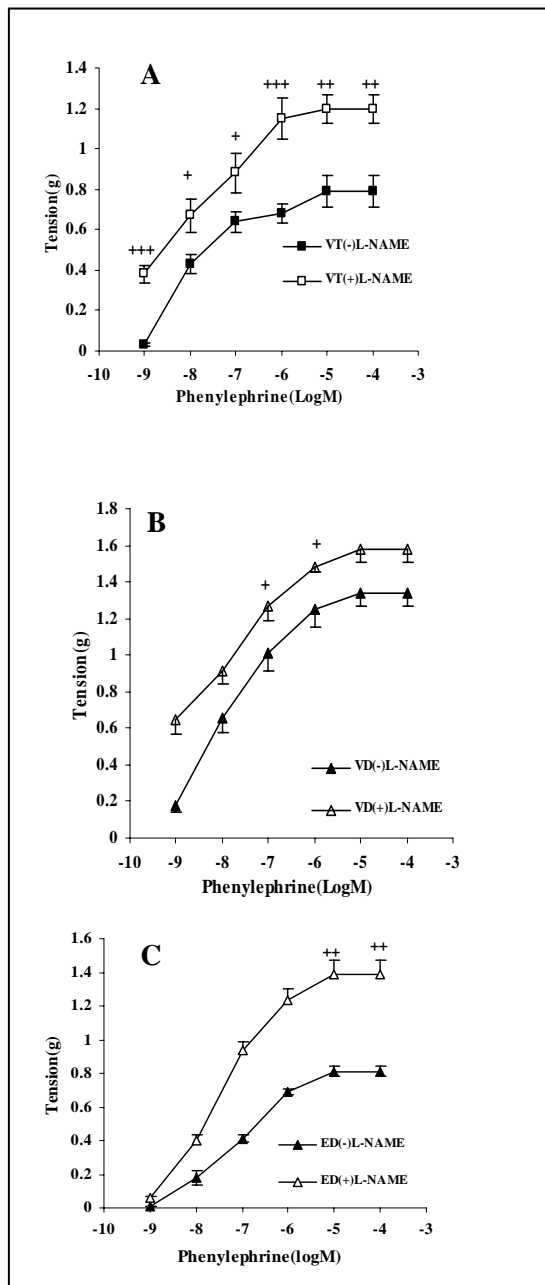
وزن بدن و گلوکز سرم: مقایسه نتایج حاصل از ثبت وزن و گلوکز سرم موش های صحرایی قبل و بعد از مدت آزمایش (۴ هفته) نشان داد که وزن موشهای دیابتی درمان نشده یک ماه پس از دیابتی شدن کاهش می یابد ($P < 0.001$) ولی در حیوانات دیابتی درمان شده

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 ($P < 0.05$).



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



نمودار ۳: 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). ED و VD و VT 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) * $P < 0.05$, * $P < 0.001$

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

کننده های آنزیم نیتریک اکساید سنتاز یعنی L-NNA انجام شده است نیز مؤید این یافته می باشد (۲۴). از این رو، بعید بنظر می رسد اثر گشادکنندگی این عصاره از طریق فعال نمودن مستقیم گوانیلات سیکلاز و یا مهار فسفودی استراز در عضلات صاف باشد. از آنجایی که در حیوانات دیابتی درمان نشده نیز L-NAME پاسخ انقباضی آئورت به فنیل افرین را کاهش داد بنابر این می توان نتیجه گرفت که مدت آزمایش یعنی یک ماه پس از دیابتی کردن حیوانات، برای تخریب آندوتلیوم آئورت کافی نبوده و NO کماکان از آن آزاد شده است. بعلاوه نتایج حاصل از مطالعات بیو آسای نشان داده است که میزان NO در سلول های آندوتلیال عروق حیوانات سالم و دیابتی همانندیکدیگر است و در حیوانات دیابتی هیچگونه کاهشی در فعالیت آنزیم نیتریک اکساید سنتاز آندوتلیومی دیده نمی شود. از این رو پیشنهاد شده است که در حیوانات دیابتی آزاد شدن H_2O_2 از آندوتلیوم عروق و افزایش 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 سبتور مانند فنیل افرین و نور آدرنالین علاوه بر القای یک انقباض اولیه و کوتاه مدت موجب انقباض ثانویه تونیک نیز می شوند. انقباض اولیه با آزاد سازی کلسیم از منابع داخل سلولی در ارتباط می باشد در حالیکه انقباض تونیک ثانویه وابسته به جریان رو بداخل کلسیم از طریق 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 با ارزیابی اثر آن بر انقباض القاء شده بوسیله فنیل افرین در کربس فاقد کلسیم در حضور EGTA مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره این گیاه قادر است بطور قابل توجهی پاسخ انقباضی اولیه به فنیل افرین را تخفیف دهد. بنظر می رسد غلظت بکار گرفته شده از عصاره آبی گیاه توانسته است موجب مهار آزادسازی کلسیم از منابع داخل سلولی از قبیل رتیلولوم سارکوپلاسمیک شود. با توجه به نتایج بدست آمده، از آنجایی که اثر 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.

حلقه های آئورتی بدون آندوتلیوم فنیل افرین در حضور EGTA در موشهای دیابتی درمان نشده و درمان شده نشان داد که پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی بدون آندوتلیوم نیز در حضور EGTA در موش های دیابتی درمان شده نسبت به موشهای دیابتی درمان نشده کاهش معنی داری می یابد ($P < 0.05$) (نمودار ۲B).

بحث:

در این مطالعه، نقش NO و ذخایر داخل سلولی کلسیم در اثر گشادکنندگی عروقی عصاره آبی گیاه درمنه مورد بررسی قرار گرفته است. برخی از مطالعات اخیر بدون اشاره به مکانیسم های درگیر نشان می دهند که در حیوانات سالم و دیابتی عصاره آبی گیاه درمنه موجب 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 و درمان شده با عصاره آبی گیاه درمنه افزایش می دهد. بعلاوه عصاره این گیاه پس از حذف کلسیم و اضافه نمودن EGTA به حمام بافت توانست تنها مرحله اول پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی به فنیل افرین را تا حد معنی داری کاهش دهد تاثیری بر مرحله دوم پاسخ انقباضی (انقباض ثانویه تونیک) آئورت به فنیل افرین 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 حاکی از وابسته بودن اثر گشادکنندگی عروقی بسیاری از گیاهان دارویی به آندوتلیوم است. تحقیقات نشان داده است که آندوتلیوم عروق با آزاد کردن NO از سلول های آندوتلیال نقش مهمی در کنترل تونسیته عروق دارد (۲۴-۲۰). چنانکه عصاره برگ گیاه لوبوما، فلاون مشتق از سلاجینلا، عصاره آبی ائوکومیا علاوه بر این که از طریق آزاد کردن عوامل هیپر پلازیم کننده مشتق از آندوتلیوم که منجر به فعال شدن کانالهای پتاسیم می شوند اثر وازودیلاتوری خود را اعمال می کنند، با تولید و آزاد کردن NO نیز این اثر را تشدید می نمایند (۲۷-۲۵). در این مطالعه اثر وازودیلاتوری القاء شده بوسیله عصاره آبی گیاه درمنه وابسته به وجود سلولهای آندوتلیال با عملکرد طبیعی می باشد چنانکه بعد از مهار آنزیم نیتریک اکساید سنتاز با استفاده از L-NAME، این اثر کاهش چشمگیری می یابد. مطالعات مشابه که با استفاده از یکی دیگر از مهار

circ 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 α 1-adrenoceptor agonist-induced contraction of isolated aorta in rat. *IBJ* 2005;9(2): 57-62.

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 و آزادسازی 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 درگیر 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, Niggel 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, Ziegler 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 Micro-*

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-Arnez 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 extracellular calcium. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990;16(2):239-48.