

مقاله پژوهشی

اثر شل کننده رگی عصاره آبی-الکلی کلپوره در آئورت ایزوله موش صحرایی

الله فریدونی^۱، سعید نیازمند^{۲*}، فاطمه هرنجیزاده^۳، سید محمود حسینی^۴، مریم محمود آبادی^۵

^۱دانشجویی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

^۲دانشیار گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

^۳کارشناس ارشد فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران

^۴دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

^۵استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

*نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

پست الکترونیک: niazmands@mums.ac.ir

وصول: ۱۳۹۰/۱۱/۲۹ اصلاح: ۱۳۹۱/۱/۱۷ پذیرش:

چکیده

زمینه و هدف: کلپوره (*Teucrium polium L.*) گیاهی دارویی است. گزارشاتی از اثرات قلبی عروقی این گیاه انتشار یافته است. در این تحقیق اثر عصاره کلپوره بر خاصیت انقباضی آئورت در موش صحرایی بررسی شده است.

مواد و روش کار: عصاره آبی-الکلی گیاه به روش خیساندن تهیه شد. مطالعه روی ۶۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار صورت گرفت. حیوانات به ۱ گروه ۱ تایی تقسیم شدند. ابتدا اثر غلاظتهاي تجمعی $1,2,4,8 \text{ mg/ml}$ عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین ($10 \mu\text{M}$) و کلور پتاسیم ($60 \mu\text{M}$) در رگ سالم و در رگی که اندوتلیوم آن تخریب شده بود، بررسی شدند. سپس اثر غلاظت عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین و کلور پتاسیم در حضور غلاظتهاي تجمعی کلسیم (از 10^5 M تا 10^2 M) بررسی شد. در گروههای آزمایشی دیگر اثر غلاظتهاي عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور *(L-NAME hydrochloride)* (*L-NAME methyl ester*, L-NAME) $10 \mu\text{M}$ و در حضور ایندوموتاسین $10 \mu\text{M}$ بررسی شد. نتایج با استفاده از نرم افزار *SPSS* و آزمون *t-test* تحلیل شده است.

یافته ها: عصاره انقباضات ناشی از کلورپتاسیم و فنیل افرین را به صورت وایسته به غلاظت بطور معنی داری کاهش داد. عصاره انقباض ناشی از فنیل افرین و کلور پتاسیم در حضور مقادیر تجمعی کلسیم را به طور معنی دار کاهش داد. عصاره انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور *L-NAME* را به جز در غلاظت 1 mg/ml به طور معنی دار مهار کرد. عصاره انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور ایندوموتاسین را به جز در غلاظت های 1 mg/ml و 2 mg/ml بطور معنی داری کاهش داد.

نتیجه گیری: نتایج نشان می دهد که عصاره کلپوره اثر مهاری بر انقباض ناشی از فنیل افرین و کلور پتاسیم دارد. این اثر عمده از طریق مهار جریان ورودی کلسیمی اعمال می شود. احتمالا در اثر مهاری عصاره در غلاظتهاي کم نیتریک اکساید و پروستاسیکلین دخالت دارند.

واژه های کلیدی: کلپوره، شل کننده رگی، آئورت ایزوله، اندوتلیوم، موش صحرایی

در نواحی مختلف شمال، غرب، جنوب و مرکز ایران و کوهستان های نیمه خشک پراکندگی دارد [۱]. مصرف دارویی آن به زمان بقراط و جالینوس بر می گردد و بخش دارویی آن سرشاخه های گلدار آن می باشد [۱]. اثر مقوی و ضد تشنج داشته و مصرف آن را برای درمان بیماری های دستگاه تناسلی-ادراری و تاخیر یا عدم وقوع قاعده ای مفید می دانند [۱]. در بررسی های انجام شده بر روی

مقدمه

کلپوره (*Teucrium polium L.*) از تیره نعناع (*Labiateae*) گیاهی علفی، پایا به ارتفاع 10 cm تا 30 cm دارای ظاهری سفید پنبه ای است که معمولا در نواحی سینگلاخی و ماسه زارهای نواحی مختلف اروپا، منطقه مدیترانه، شمال آفریقا و جنوب غربی آسیا از جمله ایران

گرم استفاده شد که بطور تصادفی به ۸ گروه ۸ تایی به صورت زیر تقسیم گردیدند: گروه اول، اثر غلظتهای تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین در آئورت سالم برسی گردید، گروه دوم، اثر غلظتهای تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین در عدم حضور اندوتلیوم برسی گردید، گروه سوم، اثر غلظتهای تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم در آئورت سالم برسی گردید، گروه چهارم، اثر غلظتهای تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم در عدم حضور اندوتلیوم در گروه ششم اثر عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور مقادیر تجمعی کلسیم برسی شد و در گروه هشتم اثر عصاره بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم در حضور مقادیر تجمعی کلسیم برسی شد. در گروه هفتم اثر عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور L-NAME (مهار کننده تولید نیتریک اکساید) برسی شد و در گروه هشتم اثر عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور ایندوموتاسین (مهار کننده تولید پروستاگلاندینها) برسی شد.

روش آزمایش: پس از بیوهشی حیوان با کتامین (mg/kg)، بلافصله پس از قطع سر، قفسه سینه باز شده و آئورت سینه‌ای جدا می‌گردید و در داخل محلول کربس حاوی مخلوط٪ ۹۵ اکسیژن و٪ ۵ گاز کربنیک قرار می‌گرفت. محلول کربس مورد استفاده حاوی ترکیبات زیر (برحسب میلی مولار) بود:

NaCl 118.5 ; KCl 4.74 ; MgSO₄ 1.18; NaHCO₃ 24.9 ; Glucose 10 در داخل محلول کربس، آئورت به دقت از بافت پیوندی متصل به آن پاک شده و به قطعاتی با طول تقریبی ۵ میلی متر تقسیم می‌گردید.

برای ثبت پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای، حلقه‌های آئورت در حمام بافت حاوی محلول کربس، با حرارت ۳۷ درجه و pH = 7.4 می‌گرفت که به طور مداوم در معرض مخلوط٪ ۹۵ اکسیژن و٪ ۵ گاز کربنیک قرار داشت. پس از اعمال کشش دو گرمی به آئورت، به مدت ۶۰ دقیقه به بافت اجازه داده می‌شد تا وضعیت ثابتی پیدا کند. انقباضات عضله صاف آئورت بوسیله ترانس دیوسرايزومتریک (AD instrument, Australia) که به Power Lab (AD instrument, Australia) دستگاه

گیاه کلپوره مشخص شده است که این گیاه حاوی مقادیری تانن، ترپنوفئیدها، ساپونین، استرون، فلاونوئید، گلیکوزید، آلفا و بتا پینن و لوکوآنتوسیانین است [۲,۳]. وجود ۱۰ ترکیب ترپنوفئیدی از جمله guaiol، cedrol و linalool در روغن آن مشخص شده است [۴]. تحقیقات علمی نشان داده اند که این گیاه دارای اثرات ضد دیابت [۵,۶]، کاهش دهنده کلسترول و تری گلیسرید سرم [۷]، ضد التهاب [۸]، آنتی اکسیدان [۹,۱۰]، ضد تب و ضد میکروب [۱۱] و ضد درد [۱۲] می‌باشد. اثر این گیاه بر ترشح اسید معده و نیز حرکات معده مورد برسی قرار گرفته است [۱۳,۱۴] که نشان دهنده اثر شل کننده این گیاه بر عضله صاف است. در مورد اثرات قلبی عروقی این گیاه گزارشاتی در دست است. در تحقیقی اثر اینوتروپیک و کرنوتروپیک مثبت این گیاه بر قلب ایزوله خوکچه هندی نشان داده شده است [۱۵]. در برسی دیگری اثر کاهش دهنده فشار خون و نیز اثر اینوتروپیک مثبت آن گزارش شده است [۱۶]. تاکنون مطالعه‌ای در مورد اثر این گیاه بر روی عضله صاف آئورت صورت نگرفته است. با توجه به اقبال عمومی در استفاده از گیاهان دارویی و فرآگیری بیماری پرفساری خون، تحقیق در مورد اثرات کاهش دهنده فشار خون گیاهان دارویی ضروری است. لذا در این پژوهش اثر عصاره کلپوره بر عضله صاف آئورت و نیز مکانیسم احتمالی این اثر مورد برسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

تهیه عصاره: ۵۰۰ گرم از سر شاخه‌های گلدار گیاه کلپوره جمع آوری شده از منطقه فردوس در خراسان جنوبی که توسط هرباریم دانشگاه فردوسی شناسایی علمی شده بود در مقدار ۲ لیتر الکل اتیلیک ۵۰ درجه و در دمای آزمایشگاه به مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد [۱۶]. سپس با استفاده از کاغذ صافی و اتمن شماره ۱ محلول صاف شد. جهت تهیه عصاره خشک، محلول بدست آمده به مدت ۳۶ ساعت در بن ماری ۴۰ درجه قرار گرفت. مقدار بازده عصاره٪ ۹ بود. غلظتهای مورد استفاده mg/ml (۱,۲,۴,۸) از این عصاره خشک تهیه می‌گردید.

گروه بندی حیوانات: این مطالعه یک برسی مداخله‌ای بوده که از ۶۴ سررت نر نژاد ویستار با وزن ۲۰۰-۲۵۰

تحلیل آماری داده‌ها: نتایج به صورت mean \pm SEM ارائه شده و داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS13 آزمونهای تی زوجی و تی غیر زوجی مقایسه گردید. $P < 0.05$ بعنوان سطح اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اثر عصاره گیاه کلپوره بر انقباضات ناشی از فنیل افرین در حضور و غیاب اندوتلیوم: انقباض عضله صاف آئورت ناشی از فنیل افرین با غلظت 10^{-6} مولار به وسیله عصاره کلپوره شود که انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور اندوتلیوم، به وسیله غلظت 8 mg/ml به میزان 56% مهار شد در حالیکه در غیاب اندوتلیوم پاسخ شل کنندگی $70/5\%$ بود. اثر شل کنندگی عصاره در غیاب اندوتلیوم در غلظتهاي 4 و 8 mg/ml بطور معنی‌داری بیشتر از وضعیت حضور اندوتلیوم بود.

اثر عصاره گیاه کلپوره بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم در حضور و غیاب اندوتلیوم: نمودار ۲ اثر غلظتهاي مختلف عصاره کلپوره را بر پاسخ انقباضی ناشی از کلرور پتاسیم را در حضور و غیاب اندوتلیوم در آئورت را نشان می‌دهد. عصاره بطور معنی‌داری پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم در حضور اندوتلیوم را مهار کرد. در غیاب اندوتلیوم عصاره به جز در غلظت 1 mg/ml بطور معنی‌داری این پاسخ انقباضی را مهار کرد. اثر عصاره وابسته به غلظت بود. اثر مهاری عصاره در غلظتهاي 1 و 2 mg/ml در شرایط حضور اندوتلیوم (77.7% و 28.9%) بطور معنی‌داری بیشتر از شرایط بدون اندوتلیوم (1.4% و 15.5%) بود. تفاوت معنی‌داری در غلظت 4 mg/ml در شرایط حضور (50.2%) و غیاب اندوتلیوم (49.9%) دیده نشد ولی در غلظت 8 mg/ml اثر مهاری عصاره در غیاب اندوتلیوم (68.2%) بطور معنی‌داری بیشتر از شرایط حضور اندوتلیوم (60.2%) بود. برای بررسی نقش جریان ورودی کلسیم بر این اثر مهاری، اثر غلظت 8 mg/ml عصاره کلپوره بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم در حضور غلظتهاي تجمعی کلسیم (10^{-4} تا 10^{-2} مولار) مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره کلپوره بطور

متصل بود ثبت می‌گردید. برای حذف اندوتلیوم، از یک میله نازک فلزی استفاده می‌شد که با مالش آرام میله به مدت 60 ثانیه در سطح داخلی حلقه‌های آئورت، اندوتلیوم تخریب می‌گردید. برای حصول اطمینان از تخریب اندوتلیوم آئورت، پس از ایجاد انقباض بوسیله غلظت 10^{-6} مولار فنیل افرین، استیل کولین با غلظت 10^{-5} مولار به حمام بافت اضافه می‌گردید، عدم مشاهده هر گونه اثر شل کنندگی در انقباض ناشی از فنیل افرین نشان دهنده تخریب کامل اندوتلیوم بود.

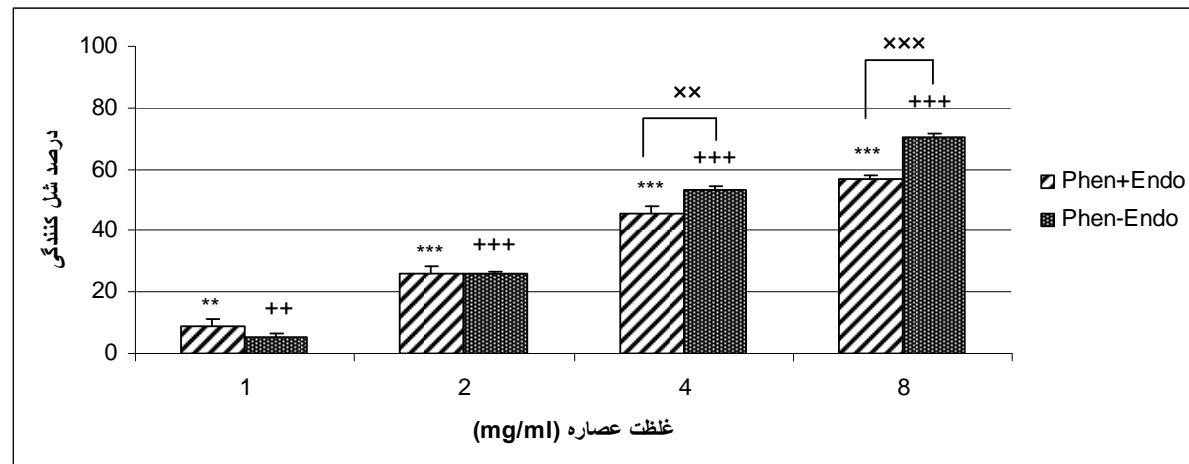
در گروههای اول و دوم، پس از اعمال کشش استراحت و تثبیت شرایط بافت، عضله صاف آئورت با استفاده از فنیل افرین (10^{-6} مولار) منقبض گردیده و سپس اثر غلظتهاي تجمعی عصاره ($1,2,4,8\text{ mg/ml}$) در حضور و غیاب اندوتلیوم بررسی گردید.

در گروه سوم و چهارم پس از اعمال کشش استراحت و تثبیت شرایط بافت، عضله صاف آئورت با استفاده از کلرور پتاسیم ($10^{-6} \times 6$ مولار) منقبض گردیده و سپس اثر غلظتهاي تجمعی عصاره ($1,2,4,8\text{ mg/ml}$) در حضور و غیاب اندوتلیوم بررسی گردید.

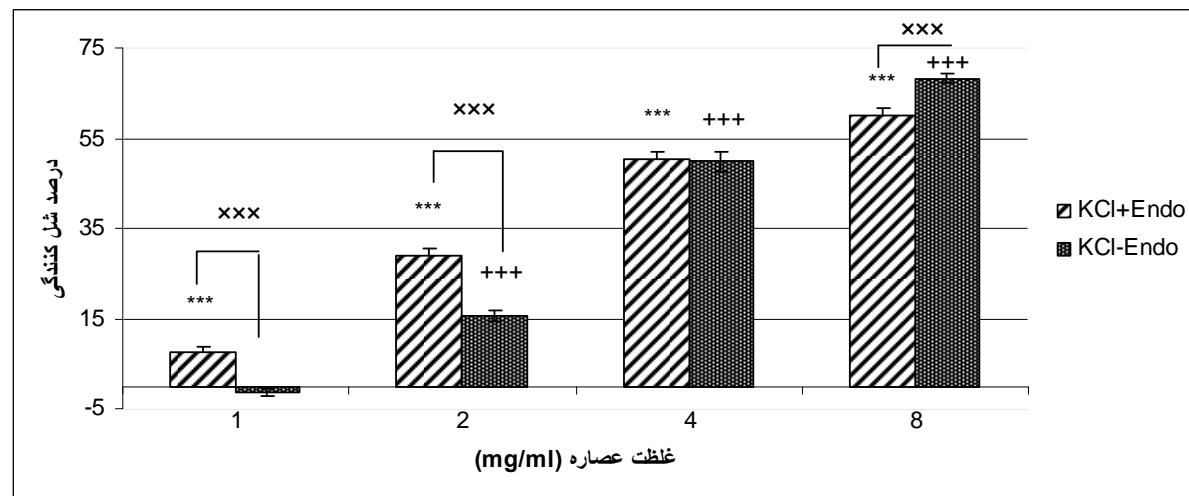
در گروههای پنجم و ششم، پس از اعمال کشش استراحت و تثبیت شرایط بافت در حضور کربس بدون کلسیم، عضله صاف آئورت با استفاده از فنیل افرین (10^{-6} مولار) و کلرور پتاسیم ($10^{-6} \times 6$ مولار) منقبض گردیده و سپس با اضافه کردن مقادیر تجمعی کلسیم (10^{-6} تا 10^{-3}) به بافت اثر غلظتهاي تجمعی کلسیم در حضور غلظت 8 mg/ml عصاره بررسی گردید.

در گروه هفتم، پس از اعمال کشش استراحت و تثبیت شرایط بافت، ابتدا بافت به مدت 30 دقیقه با L-NAMe ($10\text{ }\mu\text{M}$) انکوبه شده و سپس عضله صاف آئورت با استفاده از فنیل افرین (10^{-6} مولار) منقبض گردیده و اثر غلظتهاي تجمعی عصاره ($1,2,4,8\text{ mg/ml}$) بررسی گردید.

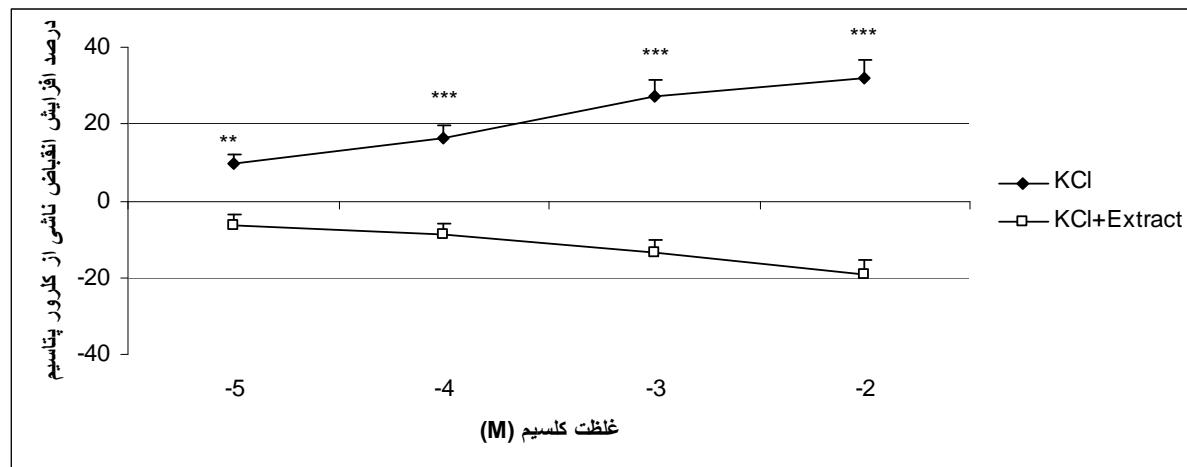
در گروه هشتم، پس از اعمال کشش استراحت و تثبیت شرایط بافت، ابتدا بافت به مدت 30 دقیقه با ایندومتاسین ($10\text{ }\mu\text{M}$) انکوبه شده و سپس عضله صاف آئورت با استفاده از فنیل افرین (10^{-6} مولار) منقبض گردیده و اثر غلظتهاي تجمعی عصاره ($1,2,4,8\text{ mg/ml}$) بررسی شد.



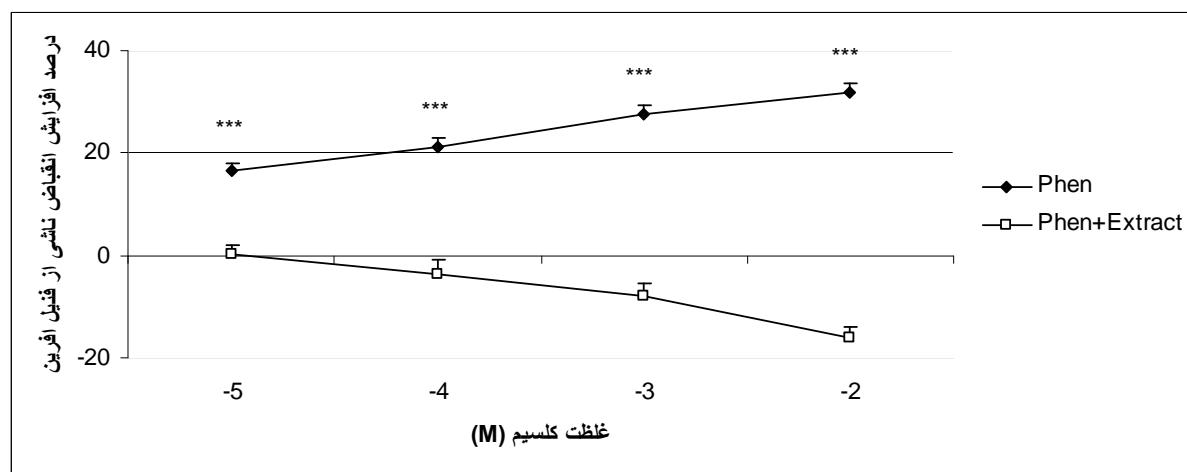
نمودار ۱: اثر شل کنندگی غلظتهای مختلف عصاره کلپوره بر آئورت ایزوله موش صحرایی منقبض شده با فنیل افرین (10^{-4} مولار) در حضور و غیاب اندولیوم. $**P<0.001$ ، $***P<0.001$ در مقایسه با مقدار پایه همان گروه؛ $++P<0.01$ ، $+++P<0.001$ در مقایسه با مقدار پایه همان گروه؛ $xx P<0.001$ ، $xxx P<0.001$ در مقایسه دو گروه با هم. (n=8 در هر گروه)



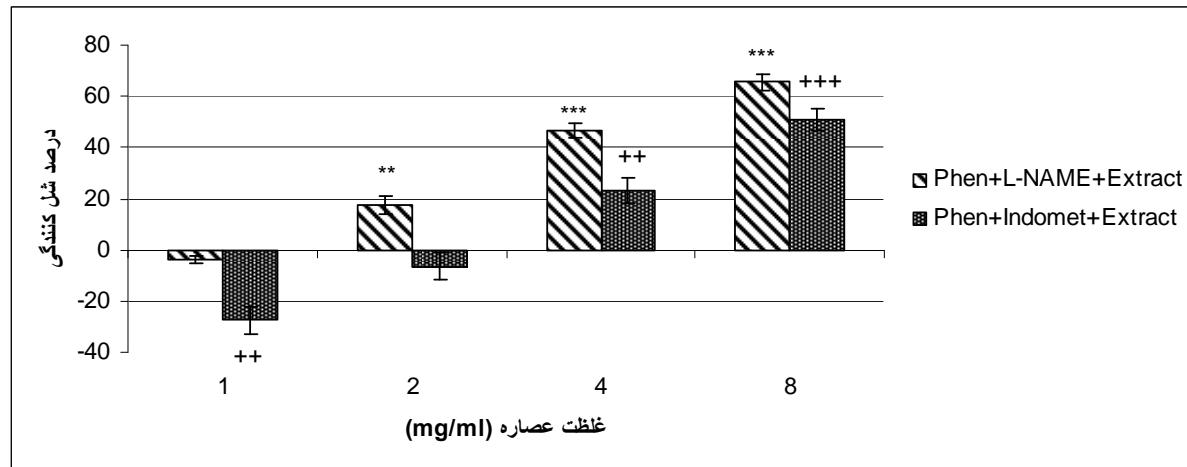
نمودار ۲: اثر شل کنندگی غلظت های مختلف عصاره کلپوره بر آئورت ایزوله موش صحرایی منقبض شده با کلرور پتابسیم (60 mM)، در حضور و غیاب اندولیوم. اثر عصاره در حضور و غیاب اندولیوم به جز غلظت 4 mg/ml تفاوت معنی داری نشان داد. $**P<0.001$ ، $***P<0.001$ در مقایسه با مقدار پایه همان گروه؛ $++P<0.001$ در مقایسه با مقدار پایه همان گروه؛ $xx P<0.001$ در مقایسه دو گروه با هم. (n=8 در هر گروه)



نمودار ۳: اثر انقباضی غلظت های تجمعی کلرورکلسیم بر آئورت منقبض شده به وسیله کلرورپتاسیم (60 mM) به تنها و در حضور غلظت 8 mg/ml عصاره کلپوره در موش صحرایی. عصاره بطور معنی داری انقباض ناشی از کلرور پتاسیم را مهار گرد.
** $P<0.01$
*** $P<0.001$ در مقایسه با حضور عصاره کلپوره. ($n=8$ در هر گروه).



نمودار ۴: اثر غلظت های تجمعی کلرورکلسیم بر آئورت منقبض شده به وسیله فنیل افرین 10^{-6} مولار به تنها و حضور غلظت 8 mg/ml عصاره کلپوره در موش صحرایی. عصاره بطور معنی داری انقباض ناشی از فنیل افرین را مهار گرد.
*** $P<0.001$ در مقایسه با حضور عصاره کلپوره. ($n=8$ در هر گروه).



نمودار ۵: اثر غلظت‌های مختلف عصاره کلپوره در حضور L-NAME (۱۰۰ μM) و ایندومتاسین (۱۰ μM) بر روی انقباض ناشی از فنیل افرین (۱۰ مولار) در آئورت موش صحرابی. عصاره در غلظت ۱ mg/ml اثر شل کنندگی بر انقباض ناشی از فنیل افرین نشان نداد ولی در بقیه غلظتها این اثر معنی دار بود. عصاره در غلظت‌های ۲ و ۴ اثر شل کنندگی بر انقباض ناشی از فنیل افرین نشان نداد و حتی در غلظت ۱ mg/ml موجب تشدید انقباض ناشی از فنیل افرین گردید. **P<0.01, ***P<0.001 در مقایسه با مقدار پایه همان گروه. (n=۸ در هر گروه) ++P<0.001, +++P<0.001

از فنیل افرین را بطور معنی داری مهار کرد (به ترتیب به میزان ۲۳.۱٪ و ۵۱٪) (نمودار ۵).

بحث

نتایج تجربه حاضر نشان داد که عصاره کلپوره انقباض عضله صاف آئورت ناشی از کلرورپتاسیم و فنیل افرین را کاهش می دهد. اندوتلیوم از طریق تولید و ترشح برخی مواد نظیر نیتریک اکساید (NO) و پروستاتیکلین می تواند موجب مهار و از طریق تولید و ترشح اندوتلین موجب انقباض عضله صاف جدار رگ گردد. تفاوت اثر عصاره بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم و فنیل افرین در شرایط حضور اندوتلیوم و بدون اندوتلیوم نشان می دهد که بخشی از اثر عصاره با واسطه اندوتلیوم اعمال می گردد و به نظر می رسد که فاکتورهای ترشح شده توسط اندوتلیوم که بر روی عروق موثرند، در اثر شل کنندگی عصاره حائز اهمیت باشند و عصاره علاوه بر عضله صاف جدار رگ، از طریق اندوتلیوم نیز اعمال اثر می کند. مقایسه نتایج حاصل از اثر عصاره شرایط حضور اندوتلیوم و بدون اندوتلیوم بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم و فنیل افرین این احتمال را مطرح می کند که اثر مهاری عصاره در غلظت‌های کمتر در غیاب اندوتلیوم کاهش می یابد ولی

معنی داری موجب مهار افزایش انقباض ناشی از غلظت‌های فزاینده کلسیم در حمام بافتی شد (نمودار ۳).

اثر غلظت ۸ mg/ml عصاره کلپوره بر انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور غلظت‌های تجمعی کلسیم (۱۰۰ مولار) بررسی شد. نتایج نشان داد که عصاره کلپوره بطور معنی داری مهار افزایش انقباض ناشی از غلظت‌های فزاینده کلسیم در حمام بافتی گردید (نمودار ۴).

برای بررسی نقش نیتریک اکساید (NO) در اثر عصاره، از L-NAME استفاده شد. نتایج نشان داد که عصاره در غلظت ۱ mg/ml اثری بر انقباض ناشی از فنیل افرین نداشت ولی در غلظت‌های بالاتر اثر انقباضی فنیل افرین را مهار کرد (نمودار ۵).

برای بررسی نقش پروستاگلاندین E₂ (PG E₂) در اثر عصاره، از ایندومتاسین استفاده شد. نتایج نشان داد که عصاره در غلظت‌های ۲ و ۴ اثر شل کنندگی بر انقباض ناشی از فنیل افرین نشان نداد و حتی در غلظت ۱ mg/ml سبب تشدید انقباض ناشی از فنیل افرین شد (به میزان ۲۷.۴٪) ولی در غلظت‌های بالاتر انقباض ناشی

تداخل بر جریان ورودی کلسیم از طریق کanal‌های کلسیمی وابسته به گیرنده اعمال می‌کند. نتایج حاصل از تحقیقات قبلی نشان داده است که انقباض ناشی از کلرور پتاسیم با دخالت کanal‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ صورت می‌گیرد، بنابراین موادی که بتوانند انقباض ناشی از کلرور پتاسیم را در عضله صاف مهار کنند اثر خود را از طریق انسداد این کanal‌ها اعمال می‌کنند [۲۰]. اثر شل کننده‌گی عصاره بر انقباض ماهیچه صاف ناشی از کلرور پتاسیم در حضور غلظت‌های تجمعی کلسیم تائید کننده این امر است که عصاره احتمالاً اثر مهار کننده‌گی خود را از طریق تداخل با جریان ورودی کلسیم از طریق کanal‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ اعمال کرده است.

عملکرد مهاری عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین، به جز در غلظت 1 mg/ml ، تحت تاثیر حضور L-NAME قرار نگرفت. همچنین حضور ایندومتاسین، موجب کاهش شدید عملکرد مهاری عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین در غلظت‌های 1 mg/ml و 2 mg/ml . اندوتلیوم می‌تواند در پاسخ‌های شل کننده‌گی و یا انقباضی عضله صاف رگ نقش داشته باشد. نیتریک اکساید (NO) و پروستاسیکلین، به عنوان فاکتورهای مهم شل کننده رگی منشاء گرفته از اندوتلیوم مطرح هستند [۲۴، ۲۵]. اثر شل کننده‌گی نیتریک اکساید به طور عمدۀ از طریق افزایش گوانوزین مونو فسفات حلقوی (cGMP) ناشی می‌شود. L-NAME به عنوان مهارکننده تولید نیتریک اکساید، اثر شل کننده‌گی ناشی از عصاره را در غلظت 1 mg/ml حذف کرد. این مطلب می‌تواند تائید کننده این موضوع باشد که اثر شل کننده‌گی عصاره در این غلظت، وابسته به مسیر نیتریک اکساید است. کاهش اثر مهاری عصاره بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم در غلظت‌های 1 mg/ml و 2 mg/ml در شرایط بدون اندوتلیوم در مقایسه با شرایط حضور اندوتلیوم نیز میتواند تائید کننده این امر باشد. ایندومتاسین، به عنوان مهارکننده آنزیم سیکلواکسیزناز، اثر شل کننده‌گی عصاره را بر انقباض ناشی از فنیل افرین را در غلظت‌های 1 mg/ml و 2 mg/ml حذف کرد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت اثر شل کننده‌گی عصاره در غلظت‌های کمتر عصاره وابستگی زیادی به پروستاسیکلین دارد. کاهش اثر مهاری عصاره بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم

در غلظت‌های بالاتر عصاره این اثر مهاری در غیاب اندوتلیوم افزایش می‌یابد.

کلسیم فاکتور اصلی در جفت شدن تحریک - انقباض در سلول‌های ماهیچه صاف است [۱۷، ۱۸]. مسیرهای شناخته شده افزایش کلسیم داخل سلولی از طریق کanal‌های کلسیمی عمل کننده توسط رسپتور Receptor-operated Ca²⁺ channels (ROCCs)، کanal‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ Voltage(-)-dependent Ca²⁺ channels (VDCCs) کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی به وسیله فعال‌سازی IP₃ و رسپتورهای ریانودینی است [۱۹] که منجر به افزایش کلسیم درون سلولی شده و منجر به انقباض ماهیچه می‌گردد.

کلرور پتاسیم، از طریق دیولاریزاسیون و باز شدن کanal‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ سبب شروع انقباض می‌شود و تداوم انقباض به طور عمدۀ وابسته به یون کلسیم خارج سلولی است [۲۰، ۲۱]. روند انقباض حاصل از ترکیباتی که از طریق گیرنده‌های متصل شونده به پروتئین G عمل می‌کنند (نظیر گیرنده‌های آلفا-۱‌آدرنرژیک)، غالباً با افزایش آزادی کلسیم از منابع داخلی شروع شده و در تداوم انقباض کanal‌های ROCCs نقش دارد، بعلاوه افزایش حساسیت پروتئین‌های انقباضی به یون کلسیم نیز مهم است [۲۲، ۲۳]. معمولاً پتاسیم کلراید در عروق ایزوله یک انقباض پایدار ایجاد می‌کند. عصاره کلپوره بر روی انقباض مزبور به صورت وابسته به غلظت اثر شل کننده‌گی نشان داد که میتواند به دلیل تاثیر عصاره بر کanal‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ (VDCCs) در غشاء سلولهای عضله صاف جدار رگ باشد. فنیل افرین آگونیست گیرنده‌های آلفا-۱‌آدرنرژیک است که باعث انقباض ماهیچه صاف آورت به وسیله جریان رو به داخل کلسیم از طریق کanal‌های کلسیمی وابسته به گیرنده می‌شود [۲۲]. اثر مهاری عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین میتواند نشان دهنده اثر عصاره بر کanal‌های کلسیمی وابسته به گیرنده (ROCCs) و یا مهار رهایش کلسیم از منابع داخل سلولی با واسطه IP₃ باشد. اثر شل کننده‌گی عصاره بر انقباض ماهیچه صاف ناشی از فنیل افرین در حضور غلظت‌های تجمعی کلسیم نیز تائید کننده این امر است که عصاره اثر مهارکننده‌گی خود را احتمالاً از طریق

نتیجه گیری

یافته های پژوهش حاضر نشان می دهد که عصاره آبی-الکلی کلپوره اثر شل کنندگی بر انقباض ناشی از فنیل افرين و كلور پتاسیم دارد. بنظر مiresd که این اثر حداقل در غلظتهاي كمتر عصاره وابسته به اندوتلیوم است. بخش مهمی از اثر شل کنندگی عصاره از طریق مهار جریان روبه داخل کلسيمی به انجام مiresد.

قدردانی و تشکر

این مقاله بر اساس نتایج حاصل از پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی نگارش شده است. نویسنده‌گان مقاله بر خود لازم می دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که با حمایت مالی خود انجام این پژوهش را ممکن ساختند تشکر و قدردانی نمایند.

در غلظتهاي ۲۰ mg/ml در شرایط بدون اندوتلیوم در مقایسه با شرایط حضور اندوتلیوم نیز میتواند تائید کننده این امر باشد. بنظر مiresd که وابستگی اثر مهاری عصاره به پروستاسیکلین بیشتر از نیتریک اکساید باشد زیرا L-NAME موجب کاهش اثر مهاری عصاره در غلظتهاي كمتر شد.

نتایج این پژوهش نشان می دهد که استفاده از کلپوره در طب سنتی برای درمان هایپرتانسیون میتواند مفید باشد. پیشنهاد می شود که برای درک بهتر این امر تاثیر عصاره کلپوره بر هایپرتانسیون و مکانیسم احتمالی این اثر مورد بررسی گردد.

References

- Zargari A, Medicinal Plants, Tehran University Press, 5th ed 1997, vol 4, pp: 130 -131.
- Oganesyan GB, Galstyan AM, Mnatsakanyan VA, Shashkov AS, Agababyan PV, Phenylpropanoid glycosides of *Teucrium polium*, *Chem Nat Compd* 1992; 27(2): 556-9.
- Aburjai T, Hudaib M, Cavrini V, Composition of the essential oil from Jordanian Germander (*Teucrium polium* L.), *J EOR* 2006; 68-72.
- Hassan MM, Muhtadi FJ, Al-Badr AA, GLC-mass spectrometry of *Teucrium polium* oil, *J Pharm Sci* 1979; 68:800-801.
- Mirghazanfari SM, Keshavarz M, Nabavizadeh F, Soltani N, Kamalinejad M, The effect of "Teucrium polium L." extracts on insulin release from in situ isolated perfused rat pancreas in a newly modified isolation method: the role of Ca^{2+} and K^+ channels, *Iran Biomed J* 2010;14(4):178-85[Persian].
- Esmaili MA, Yazdanparast R, Hypoglycaemic effect of *Teucrium polium*: studies with rat pancreatic islets, *J Ethnopharmacol* 2004; 95(1):27-30 [Persian].
- Rasekh HR, Khoshnood-Mansourkhani MJ, Kamalinejad M, Hypolipidemic effects of *Teucrium polium* in rats, *Fitoterapia* 2001;72:937-939 [Persian].
- Tariq M, Ageel AM, Al-Yahya MA, Mossa JS, Al-Said MS, Antiinflammatory activity of *Teucrium polium*, *Int J Tissue React* 1989;11:185-188.
- Esmaili MA, Zohari F, Sadeghi H, Antioxidant and protective effects of major flavonoids from *Teucrium polium* on beta-cell destruction in a model of streptozotocin-induced diabetes, *Planta Med* 2009;75(13):1418-20 [Persian].
- Ljubuncic P, Dakwar S, Portnaya I, Cogan U, Azaizeh H, Bomzon A, Aqueous extracts of *Teucrium polium* possess remarkable antioxidant activity in vitro, *Evid Based Complement Alternat Med* 2006;3(3):329-38
- Autore G, Capasso F, De Fusco R, Fasulo M. P, Lembo M, Mascolo N, Menghini A, 1984, Antipyretic and antibacterial actions of *Teucrium polium* (L) *Pharmacol, Res Commun* 1984;16:21-29.
- Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Roghani-Dehkordi F, Antinociceptive effect of *Teucrium polium* leaf extract in the diabetic rat formalin test, *J Ethnopharmacol* 2005;97(2):207-10
- Niazmand S, Hajzadeh M, Keshavarzi Z, The effects of aqueous extract from *Teucrium polium* L, on rat gastric acid secretion in basal, vagotomized and vagal stimulated conditions, *Journal of Babol University of Medical Sciences* 2007;9(13):7-12[Persian].
- Niazmand S, Hajzadeh M, Keshavarzi Z, The effects of aqueous extract from *Teucrium polium* L, on rat gastric motility in basal and vagal stimulated conditions, *Iranian J Basic Medical Sciences* 2007; 10(1): 60-5[Persian].
- Niazmand S, Erfanian Ahmadpoor M, Moosavian M, Derakhshan M: The positive inotropic and chronotropic effects of *Teucrium Polium* L, extract on guinea pig isolated heart, *Pharmacologyonline* 2008;2:588-594[Persian].
- Niazmand Seed, Esparham Maryam, Hassannia Tahereh, Derakhshan Mohammad, Cardiovascular effects of *Teucrium polium* L, extract in rabbit, *Pharmacognosy Magazine* 2011;7 (27):260-64[Persian].
- Wellman GC, Nelson MT, signaling between SR plasmalemma in smooth muscle: sparks and the activation of Ca^{2+} sensitive ion channels, *Cell Calcium* 2003; 34(3):211-229.
- Lohn M, Furstenau M, Sagach V , Elgar M, Schulze W, Luft FC, "et al", Ignition of calcium sparks in arterial and cardiac muscle through caveolae, *Circulation Research* 2000;87(11): 1034-1039.
- Karaki H, Calcium regulation of smooth muscle contractility, *Folia Pharmacol Japon* 1990; 96(6): 289-299.
- Kravtsov GM, Kwan CY,A revisit on the mechanism of action of KCl-induced the mechanism of action of KCl-induced vascular smooth muscle contraction: a key role of cation binding to the plasma membrane, *Biol Signals* 1995;4(3):160-7.
- Ratz PH, Berg KM, 2- Aminoethoxydiphenyl borate inhibits KCl induced vascular smooth muscle contraction, *Eur J Pharmacol* 2006; 541(3): 177-83.
- Hilgers RH, Webb RC, Molecular aspects of arterial smooth muscle contraction: focus on Rho, *Exp Biol Med* 2005;230(11): 829-35.
- Thorneloe KS, Nelson MT, Ion channels in smooth muscle: regulators of intracellular calcium and contractility, *Can J Physiol Pharmacol* 2005;83(3):215-242.
- Furchtgott R.F, Zawadzki J.V, The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine, *Nature* 1980;288(5789): 373-6.
- Palmer R.M, Ferrige A.G, Moncada S, Nitric oxide release accounts for the biological Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor, *Nature* 1987, 327(6122): 524-6.

Original Article

Vasorelaxant effect of hydroalcoholic extract of *Teucrium polium* L. on isolated rat aorta

Feridoni E¹, Niazmand S^{2}, Harandizade F³, Hosseini SM⁴, Mahmoodabadi M⁵*

¹M.Sc Student of Physiology, Department of Physiology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

²Associated professor, Research Center of Cardiovascular, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

³M.Sc of physiology, Department of Biology, Ferdosi University, Mashhad, Iran

⁴Associated professor of physiology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

⁵Assistant Professor, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

***Corresponding Author:**

Department of Physiology,
Mashhad University of Medical
Sciences, Mashhad, Iran

Email: niazmands@mums.ac.ir

Abstract

Background & Objectives: There are some reports on hypotensive and antispasmodic effects of *Teucrium polium*. The aim of this study was to investigate the vasorelaxant effect of *Teucrium polium* extract on rat thoracic aorta.

Materials & Methods: Sixty four male Wistar rats were divided randomly into 8 groups. The relaxant effects of cumulative concentrations of the extract (1, 2, 4 and 8 mg/ml) on phenylephrine (PE) and potassium chloride (KCl) induced contraction were evaluated in endothelium-intact and -denuded aortas. In another set of experiments the effect of extract (8 mg/ml) on PE and KCl induced contraction in the presence of cumulative calcium concentrations (from 10-5 to 10-2 M) were investigated. Then the effect of the extract on aorta precontracted by PE in the presence of L-NAME (L-NG-Nitroarginine methyl ester, hydrochloride) (100 μ M) and indomethacin (10 μ M) were studied.

Results: The cumulative concentrations of extract induced a concentration dependent relaxation in the aorta precontracted by PE and KCl. The extract reduced PE and KCl induced contraction in presence of cumulative calcium concentrations. All the extract concentrations (except 1 mg/ml) significantly relaxed PE induced contraction in the presence of L-NAME. The extract significantly relaxed the precontracted aorta by phenylephrine in the presence of indomethacin except by 1 and 2 mg/ml concentrations.

Conclusion: The results showed that the extract had vasorelaxant effect on aorta precontracted by PE and KCl. The relaxation mainly was mediated by inhibition calcium influx in vascular smooth muscle cells. It seems the vasorelaxant effect of extract at lower concentrations mediated by nitric oxide and prostacyclin.

Key words: *Teucrium polium*, isolated aorta, endothelium, vasorelaxant, rat

Submitted: 2011 Dec 29

Revised: 2012 Feb 18

Accepted: 5 Apr 2012