

اثر مصرف خوراکی سرشاخه زالزالک بر پاسخ انقباضی و رفع انقباضی وابسته به اندوتلیوم آنورت سینه‌ای در موش صحرایی دیابتی

مهرداد روغنی^{۱*}، توراندخت بلوچ‌نژادمجرد^۲، فرشاد روغنی‌دهکردی^۳

۱- دانشیار، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲- استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۳- دانشیار، گروه قلب و عروق، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

پذیرش مقاله: ۸۸/۰۷/۰۴

دریافت مقاله: ۸۸/۰۵/۲۵

چکیده

هدف: بیماری دیابت قندی با افزایش رخداد بیماری‌های قلبی-عروقی همراه است. شواهدی مبنی بر اثر ضد دیابتی و بهبود دهنده‌ی عملکرد سیستم قلب و گردش خون در مورد زالزالک وجود دارد، بنابراین در این تحقیق اثر مصرف خوراکی و وابسته به اندوتلیوم سرشاخه این گیاه به مدت ۶ هفته بر پاسخ انقباضی و رفع انقباضی آنورت سینه‌ای ایزوله در مدل تجربی دیابت در موش صحرایی نر بررسی شد.

مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی نر به پنج گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با گیاه، دیابتی، دیابتی تحت درمان با گیاه و دیابتی تحت درمان با گلین کلامید تقسیم شدند. دو گروه تحت تیمار با گیاه نیز پودر سرشاخه این گیاه که با غذای استاندارد موش مخلوط شده بود را با نسبت وزنی ۶/۲۵ درصد دریافت نمودند. میزان وزن و گلوکز قبل از کار و در هفته‌های ۳ و ۶ پس از کار تعیین شد. در انتها، پاسخ انقباضی حلقه‌های آنورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم و فنیل‌افرین و رفع انقباضی به استیل‌کولین و سدیم نیتروپروسید با استفاده از بساط بافت ایزوله ارزیابی شد.

نتایج: میزان گلوکز سرم در گروه دیابتی تحت تیمار به‌طور معنی‌دار کمتر از گروه دیابتی بود ($P < 0.01$). به‌علاوه، حداکثر پاسخ انقباضی آنورت سینه‌ای دارای اندوتلیوم در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه به کلرور پتاسیم و فنیل‌افرین به‌ترتیب به‌طور غیرمعنی‌دار و معنی‌دار ($P < 0.05$) کمتر از گروه دیابتی بود و با حذف اندوتلیوم این تفاوت معنی‌دار از بین رفت. به‌علاوه، پاسخ رفع انقباضی حلقه‌های آنورتی دارای اندوتلیوم به استیل‌کولین در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده بیشتر و معنی‌دار بود ($P < 0.05$). در ضمن، هیچ تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها از نظر پاسخ رفع انقباضی به سدیم نیتروپروسید مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: تجویز خوراکی و دراز مدت زالزالک از طریق اثرگذاری بر عوامل مرتبط با اندوتلیوم موجب کاهش پاسخ انقباضی و افزایش پاسخ رفع انقباضی در بافت آنورت موش صحرایی دیابتی می‌شود که این مطلب می‌تواند در جلوگیری از عوارض عروقی دیابت در دراز مدت سودمند باشد.

کلیدواژگان: زالزالک، دیابت قندی، اندوتلیوم، آنورت، پاسخ انقباضی

۱- مقدمه

دیابت قندی از نظر بالینی یکی از مهم‌ترین عوامل خطر برای برخی عوارض نظیر نفروپاتی (Nephropathy)، رتینوپاتی (Retinopathy)، نوروپاتی (Neuropathy) و بیماری‌های قلبی-عروقی محسوب می‌شود که براساس پیش‌بینی به‌عمل آمده، شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش خواهد یافت [۱]. کمبود یا کاهش نسبی میزان انسولین در این بیماری با عوارض متابولیکی حاد و مزمن همراه است [۲]. در بیماری دیابت قندی عوامل مختلف شامل افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن به‌علت افزایش سطح گلوکز خون و تشدید پراکسیداسیون لیپیدی موجب افزایش بروز آترواسکلروز (Atherosclerosis) و بیماری‌های قلبی-عروقی می‌شود. در همین ارتباط نتایج تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که پاسخ انقباضی برخی نواحی عروقی شامل آئورت سینه‌ای به نورآدرنالین و کلرور پتاسیم در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) به‌طور معنی‌داری نسبت به حیوانات سالم افزایش می‌یابد که در این افزایش پاسخ انقباضی عروق عوامل گوناگون از جمله تشدید تولید اندوتلین به‌عنوان یک منقبض‌کننده قوی عضلات صاف عروق، افزایش سنتز و ترشح برخی از پروستاگلندین‌های تنگ‌کننده عروقی، افزایش غلظت داخل سلولی دی‌آسیل گلیسرول و افزایش متعاقب کلسیم داخل سلولی به‌عنوان عامل محرک انقباض در عضله صاف عروقی و کاهش توانایی تولید فاکتورهای گشادکننده عروقی با منشأ اندوتلیال نظیر نیتریک اکسید می‌تواند مطرح باشد. همچنین پاسخ اتساعی سیستم عروقی دارای اندوتلیوم نظیر بافت آئورت در موش‌های صحرایی دیابتی به استیل کولین به‌طور محسوس کمتر از موش‌های صحرایی سالم است [۳، ۴].

هدف اصلی که از روش‌های درمانی دیابت قندی تعقیب می‌شود، برقراری میزان طبیعی قندخون و جلوگیری یا به تعویق انداختن ظهور عوارض آن است. با توجه به افزایش

دانش بشری در مورد تنوع این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات مؤثر با حداقل عوارض جانبی در درمان دیابت و اختلالات ناشی از آن شدیداً احساس می‌شود [۵].

از دیر باز گیاهان دارویی به‌علت سهولت دسترسی و در برخی موارد عوارض جانبی کمتر در صورت استفاده در محدوده اطمینان و رعایت ضوابط موجود پزشکی از جایگاه ویژه‌ای برای درمان بیماری‌های رایج بشری به‌ویژه آن دسته از امراض با ماهیت متابولیک نظیر دیابت قندی برخوردار بوده‌اند [۶]. همچنین طی سالیان اخیر هدف بسیاری از تحقیقات، بررسی اثربخشی مواد طبیعی با خاصیت هیپوگلیسمیک (Hypoglycemic) بر عوارض بافتی و ارگانیک ناشی از دیابت بوده است [۶]. با توجه به افزایش دانش بشری در مورد هتروژنیته این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات مؤثر با عوارض جانبی کمتر در جلوگیری یا درمان دیابت یا مشکلات ناشی از آن شدیداً احساس می‌شود [۷].

در این رابطه گیاه زالک با نام علمی *Crataegus spp* در خانواده روزاسه (Rosaceae) درختچه‌ای است با خارهای کوتاه یک سانتی‌متری و ارتفاع حدود ۳-۱۰ متر با برگ‌های بادبزنی شکل تخم‌مرغی که قسمت انتهایی آن (سرشاخه) معمولاً به قسمت‌های عمیقی تقسیم می‌شود و دندانه‌دار است. میوه آن گوشتی، گرد، زرد مایل به سرخ به قطر ۱/۵-۲ سانتی‌متر، دارای چندین هسته است و طمع ترش و شیرین دارد [۸]. این گیاه دارای سطح بالا از مواد آنتی‌اکسیدانت در گروه فلاونوئیدها است [۹]. به‌علاوه تجویز عصاره آن با اعمال یک اثر حفاظتی در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن موجب بهبودی عملکرد قلب و کاهش وسعت منطقه انفارکتوس در مدل تجربی ایسکمی رپرفیوژن (Reperfusion Ischemia) در موش صحرایی می‌شود [۱۰]. همچنین برخی گیاهان این خانواده سطح لیپیدهای خون در موجودات آزمایشگاهی را کاهش می‌دهند [۱۱]. در یک مطالعه روی گیاهان دارویی مورد استفاده توسط

مردم در کشور مکزیک روی خرگوش‌های سالم مشخص شد که تجویز خوراکی یکی از گیاهان هم جنس زالزالک قبل از القای هیپرگلیسمی (Hyperglycemia) (توسط تزریق زیرجلدی محلول ۵۰ درصد دکستروز) موجب کاهش معنی‌دار و بارز قندخون می‌شود [۱۲]. در مطالعه دیگر توسط جوآد (Jouad) و همکاران (۲۰۰۳) روی یکی از گیاهان هم جنس زالزالک مشخص شد که تجویز ۹ روز عصاره آبی برگ آن به موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین به‌صورت وابسته به دوز موجب کاهش بارز و معنی‌دار سطح گلوکز خون می‌شود و در این ارتباط سطح پایه انسولین خون تغییر معنی‌داری نشان نداد [۱۳].

بنابراین با توجه به افزایش پاسخ سیستم عروقی به عوامل تنگ‌کننده و کاهش پاسخ‌گویی به عوامل گشادکننده عروقی در حالت دیابت [۳] و اهمیت گیاهان دارویی در درمان عوارض بیماری‌های متابولیک [۶]، در بررسی حاضر اثر وابسته به اندوتلیوم مصرف خوراکی و مزمن زالزالک بر پاسخ انقباضی و رفع انقباضی آنورت سینه‌ای موش صحرایی نر بررسی شد.

۲- مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۴۰ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (Wistar) (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی ۲۶۵-۳۱۵ گرم استفاده شد. تمام حیوانات در دمای ۲۱-۲۳ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوانات آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) یا غذای مخلوط شده با پودر سرشاخه زالزالک (خشک شده در سایه) به نسبت ۶/۲۵ درصد به مدت ۶ هفته دسترسی داشتند [۱۴، ۱۵]. برای تهیه غذا، پس از تأیید علمی، پودر به‌دست آمده از آسیاب نمودن سرشاخه تازه گیاه (بدون میوه) با غذای پودر شده و استاندارد موش مخلوط و مجدداً غذای حیوان تولید شد. در این بررسی از آن دسته موش‌های صحرایی نر استفاده شد که در شرایط

طبیعی بدون برقراری حالت روزه‌داری، میزان گلوکز سرم آن‌ها کمتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود [۱۶]. در این خصوص از شبکه رترواوربیتال (Retroorbital) و لوله موئینه برای خون‌گیری استفاده شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به ۵ گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با گیاه، دیابتی، دیابتی تحت تیمار با گیاه و دیابتی تحت تیمار با گلین کلامید (کنترل مثبت) تقسیم شدند. تیمار با دارو یا گیاه به مدت ۸ هفته ادامه یافت. برای دیابتی نمودن موش‌ها از داروی استرپتوزوتوسین به‌صورت تک‌دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. داروی کاهنده قندخون (گلین کلامید) نیز به میزان ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم در روز تجویز شد. یک هفته پس از تزریق، برای اطمینان از دیابتی بودن حیوانات، قند ادرار به روش نوار ادراری (شرکت گلوکویاب، تهران) کنترل شد و فقط حیوانات قطعاً دیابتی شده به مرحله بعدی برای ادامه کار یا شروع تیمار راه یافتند. در روزهای بعد، علایم شایع دیابت نظیر پرخوری، پرنوشتی، افزایش دفع ادرار و کاهش وزن نیز دیده شد که خود تأیید دیگری بر حالت دیابت است. میزان وزن حیوانات و گلوکز سرم [روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست‌شیمی، تهران)] قبل از انجام کار و طی هفته‌های ۳ و ۶ پس از بررسی براساس دستورالعمل کیت با استفاده از اسپکتروفتومتر (اسپکترونیک ۲۰، آمریکا) اندازه‌گیری شد.

۲-۱- اندازه‌گیری پاسخ انقباضی و رفع

انقباضی آنورت سینه‌ای

در پایان کار، موش‌ها با استفاده از اتر بیهوش و با باز کردن قفسه سینه آنورت سینه‌ای جدا شد؛ در داخل محلول کربس (Krebs' solution) سرد (که به‌طور مداوم به داخل آن گاز کربون (Carbogen gas) دمیده می‌شد) قرار داده شد. ترکیب شیمیایی محلول کربس مورد استفاده در تمام آزمایش‌ها به قرار زیر بود (بر حسب میلی‌مولار):

NaCl: ۱۱۸/۵، KCl: ۴/۷۴، CaCl₂: ۵/۲، MgSO₄: ۱/۱۸،
NaHCO₃: ۲۴/۹، KH₂PO₄: ۱/۱۸، گلوکز: ۱۰

در داخل محلول کربس سرد (به منظور کاهش دادن متابولیسم بافت و کاهش مرگ و میر سلولی)، آنورت به دقت از بافت پیوندی اطراف پاک شده، سپس به حلقه‌هایی به طول حدوداً ۴ (۳-۵) میلی‌متر تقسیم شد. برای حصول اطمینان از سلامت اندوتلیوم، پس از ایجاد انقباض با غلظت ۱۰^{-۶} مولار فنیل افرین، استیل کولین با غلظت ۱۰^{-۵} مولار به حمام بافت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد اضافه شد. مشاهده پاسخ شل‌شدگی بیشتر از ۳۰-۴۰ درصد در حلقه‌های آنورت به عنوان ملاک سالم بودن اندوتلیوم در نظر گرفته شد. برای ثبت پاسخ حلقه‌های آنورتی، آن‌ها به کمک سیم‌های پلاتینی L شکل که به موازات هم قرار داشتند، از یک طرف به قلاب فلزی و از طرف دیگر به مبدل نیروی ایزومتریک F-60 متصل شدند. در این بررسی کشش اولیه اعمال شده به حلقه‌های آنورتی ۱/۵ گرم بود. پس از اعمال این کشش، ۶۰ تا ۹۰ دقیقه به بافت اجازه داده شد تا وضعیت ثابت پیدا کند. محلول کربس داخل حمام بافت هم هر ۳۰ دقیقه تعویض شد. پس از حصول حالت تعادل، بافت به ترتیب در معرض غلظت‌های افزایش یابنده کلرور پتاسیم (۱۰ تا ۵۰ میلی‌مولار) (برای اطمینان از سلامت بافت) و فنیل افرین (۱۰^{-۹} تا ۱۰^{-۵} مولار) قرار گرفت. برای ثبت پاسخ رفع انقباضی در حالت دارای اندوتلیوم، حلقه‌های آنورتی در ابتدا در معرض غلظتی از فنیل افرین که حدود ۸۰ درصد حداکثر پاسخ را ایجاد نمود قرار گرفته و سپس در معرض غلظت‌های افزایش یابنده استیل کولین (۱۰^{-۹} تا ۱۰^{-۵} مولار) قرار گرفتند. برای ثبت پاسخ رفع انقباضی در حالت بدون اندوتلیوم، در ابتدا اندوتلیوم با چرخاندن یک لوله موئینه در داخل لومن رگ تخریب شده و سپس حلقه‌های آنورتی در ابتدا در معرض غلظتی از فنیل افرین که حدود ۸۰ درصد حداکثر پاسخ را ایجاد نمود قرار گرفته و سپس در معرض غلظت‌های افزایش یابنده سدیم نیتروپروسید (۱۰^{-۹} تا ۱۰^{-۵} مولار) قرار گرفت. عدم مشاهده پاسخ شل‌شدگی در حلقه‌های پیش‌منقبض شده با فنیل افرین در حضور استیل کولین (۱۰^{-۵} مولار) تاییدکننده

فقدان اندوتلیوم در چنین حلقه‌هایی در نظر گرفته شد. برای ثبت و آنالیز داده‌ها نیز از نرم‌افزار فیزیوگراف ۱ (شرکت بهینه آرمان، تهران) استفاده شد. پاسخ انقباضی در تمامی بررسی‌ها به صورت گرم و در مورد پاسخ رفع انقباضی به صورت درصد بیان شد.

۲-۲- آنالیز آماری

تمام نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده است. در مورد وزن و میزان گلوکز سرم حیوانات در هفته‌های مختلف از آزمون آنووا (ANOVA) با اندازه‌گیری مکرر و در مورد نتایج عروقی و برای مقایسه بین گروهی آن‌ها از آزمون آنوای یکطرفه (One-way ANOVA) و آزمون توکی (Tukey) استفاده شد. به علاوه، سطح معنی‌دار در تمام آنالیزها، $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

۳- نتایج

از نظر وزن، هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها در هفته قبل از کار (سطح پایه) مشاهده نشد. گروه کنترل تحت تیمار مشابه با گروه کنترل یک افزایش طبیعی وزن را در پایان هفته ششم نشان داد، هر چند این افزایش وزن در مقایسه با گروه کنترل کمتر بود. در گروه دیابتی در هفته ششم یک کاهش بارز و معنی‌دار در مقایسه با هفته قبل بررسی ($P < 0.005$) مشاهده شد. از طرف دیگر، تفاوت موجود بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت درمان با گیاه در هفته ششم در حد معنی‌دار بود ($P < 0.05$) و میزان وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با گیاه کاهش کمتری نشان داد. به علاوه، کاهش وزن در گروه دیابتی تحت درمان با گلین کلامید نیز کمتر بود و وزن در هفته ششم به طور معنی‌داری بیشتر از گروه دیابتی درمان نشده بود ($P < 0.01$) (نمودار ۱). در خصوص میزان گلوکز سرم، در هفته قبل از بررسی تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت نشد، در هفته‌های ۳ و ۶ میزان گلوکز سرم در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با گیاه در حد معنی‌دار ($P < 0.005$ تا $P < 0.005$) بیشتر از گروه کنترل بود؛ هر چند

۳-۱- پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم

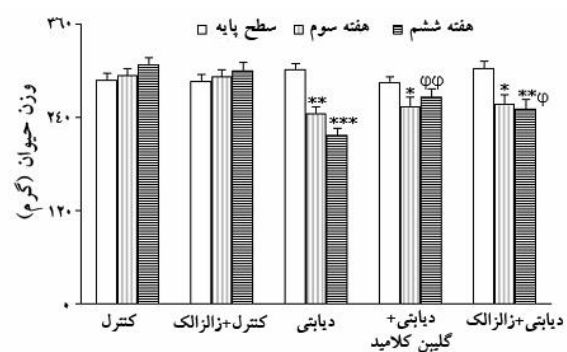
نمودار ۳، پاسخ انقباضی حلقه‌های دارا و فاقد اندوتلیوم را به غلظت‌های افزایش‌یافته کلرور پتاسیم در گروه‌های کنترل، کنترل تحت تیمار با گیاه، دیابتی، دیابتی تحت تیمار با گیاه و دیابتی تحت درمان با گلیبن کلامید نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم در مورد این گروه‌ها از یک طرح وابسته به غلظت تبعیت نموده است و حالت دیابت موجب افزایش پاسخ‌گویی حلقه‌های آئورتی به کلرور پتاسیم از غلظت ۴۰ میلی‌مولار و بالاتر در مورد حلقه‌های دارا و فاقد اندوتلیوم به‌طور معنی‌دار شده است ($P < 0.05$). به‌علاوه حذف اندوتلیوم موجب افزایش غیرمعنی‌دار پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم در تمام گروه‌ها شد. همچنین درمان موش‌های دیابتی با گیاه در مورد حلقه‌های دارا و فاقد اندوتلیوم موجب کاهش معنی‌دار حداکثر پاسخ انقباضی ناشی از کلرور پتاسیم نشد؛ هر چند تفاوت موجود بین این دو گروه با حذف اندوتلیوم کاهش یافت که خود تا حدودی وابستگی چنین پاسخی را به عوامل مشتق از اندوتلیوم نشان می‌دهد. در مورد گروه کنترل تیمار شده با گیاه نیز یک کاهش کم و غیرمعنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل از غلظت ۱۰ میلی‌مولار به بعد به‌ویژه در مورد نمونه‌های دارای اندوتلیوم مشاهده شد.

۳-۲- پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای به

فنیل افرین

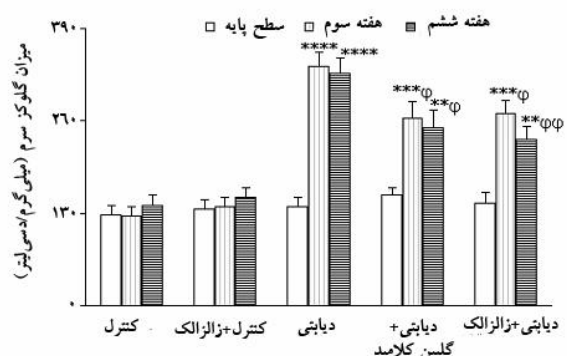
نمودار ۴، پاسخ انقباضی حلقه‌های دارا و فاقد اندوتلیوم را به غلظت‌های افزایش‌یافته فنیل افرین در گروه‌های کنترل، کنترل تحت تیمار با گیاه، دیابتی، دیابتی تحت تیمار با گیاه و دیابتی تحت درمان با گلیبن کلامید نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است پاسخ انقباضی به فنیل افرین در مورد این گروه‌ها با و بدون اندوتلیوم از یک طرح وابسته به غلظت تبعیت نموده است و دیابت موجب افزایش بارز و معنی‌دار

که در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه میزان گلوکز سرم به‌طور معنی‌دار در هفته‌های ۳ و ۶ کمتر از گروه دیابتی درمان نشده بود ($P < 0.05$). به‌علاوه، گروه کنترل تحت تیمار کاهش این پارامتر را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد (نمودار ۲). درمان گروه دیابتی با گلیبن کلامید نیز یک کاهش بارز و معنی‌دار در گلوکز سرم در هفته ششم در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده ایجاد نمود ($P < 0.05$).



نمودار ۱ تغییرات وزن در هفته‌های مختلف در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.005$ (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)، ϕ : $P < 0.05$, $\phi\phi$: $P < 0.01$ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)

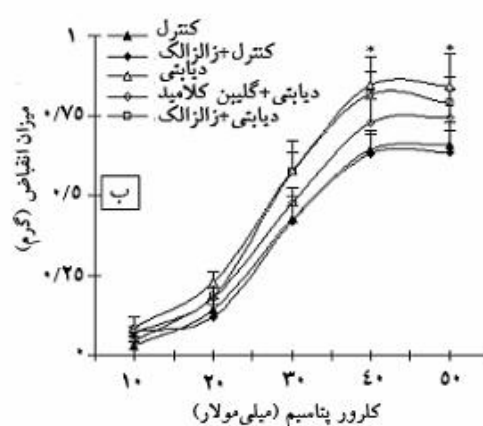
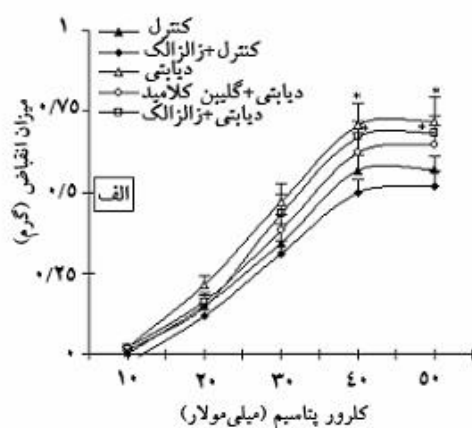


نمودار ۲ تغییرات گلوکز سرم در هفته‌های مختلف در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار

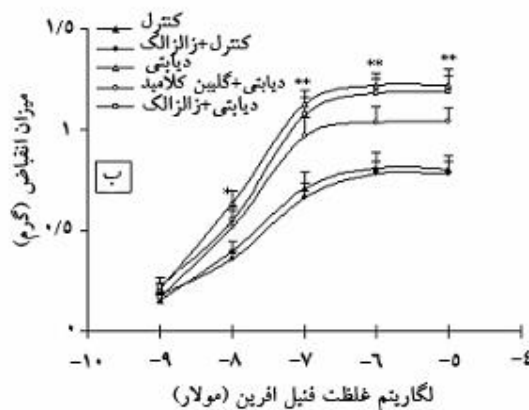
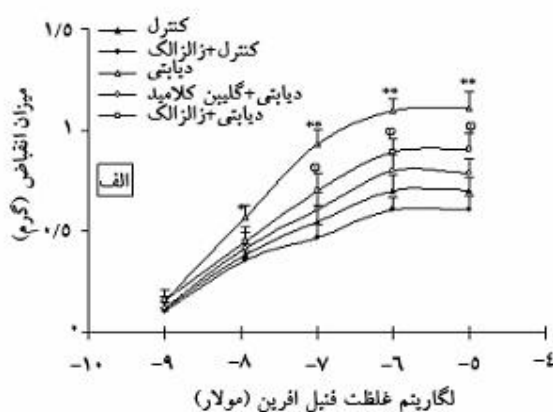
*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.005$ (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)، ϕ : $P < 0.05$, $\phi\phi$: $P < 0.01$ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)

مورد گروه کنترل تیمار شده با گیاه نیز یک کاهش کم و غیرمعنی دار در مقایسه با گروه کنترل به ویژه در مورد نمونه‌های دارای اندوتلیوم مشاهده شد. درمان موش‌های دیابتی با گلین کلامید نیز موجب کاهش بارز و معنی‌دار پاسخ انقباضی در حلقه‌های دارا و فاقد اندوتلیوم از غلظت 10^{-7} مولار به بعد شد ($P < 0.05-0.01$).

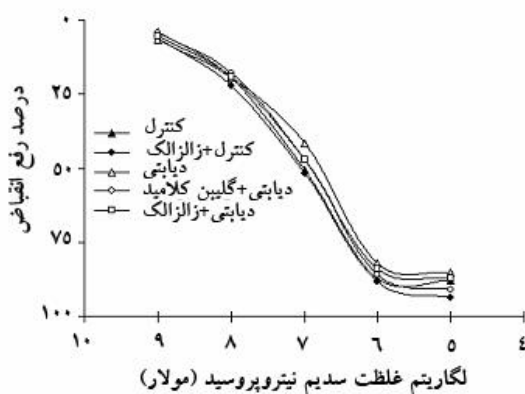
پاسخ حلقه‌های آنورتی به فنیل افرین از غلظت 10^{-8} مولار به بعد شده است ($P < 0.05-0.01$). همچنین درمان موش‌های دیابتی با گیاه موجب کاهش معنی‌دار در پاسخ انقباضی به فنیل افرین از غلظت 10^{-7} مولار به بعد در مقایسه با گروه دیابتی در حلقه‌های دارای اندوتلیوم شده است ($P < 0.05$) و حذف اندوتلیوم موجب حذف این تفاوت شد. در



نمودار ۳ پاسخ انقباضی آنورت سینه‌ای به غلظت‌های افزایش یابنده کلور پتاسیم در گروه‌های مختلف در دو حالت دارای اندوتلیوم (الف) و بدون اندوتلیوم (ب) ($P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل)



نمودار ۴ پاسخ انقباضی آنورت سینه‌ای به غلظت‌های افزایش یابنده فنیل افرین در گروه‌های مختلف در دو حالت دارای اندوتلیوم (الف) و بدون اندوتلیوم (ب)؛ $P < 0.05$: **، $P < 0.01$: *، $P < 0.05$: *p (در مقایسه با گروه دیابتی)



نمودار ۳ پاسخ رفع انقباضی به سدیم نیتروپرووسید (به صورت تجمعی و وابسته به غلظت) در حلقه‌های آنورتی پیش منقبض شده با فینیل افرین در گروه‌های مختلف پس از گذشت ۶ هفته

۴- بحث

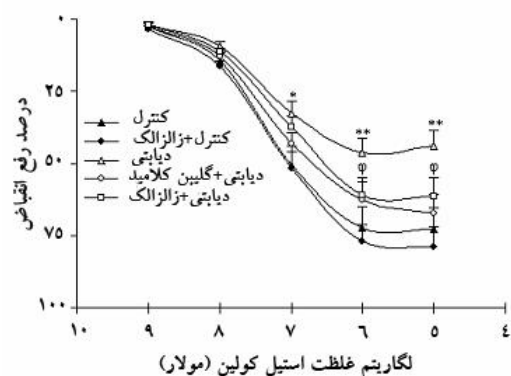
نتایج این بررسی نشان داد که تجویز خوراکی و دراز مدت سرشاخه زالزالک با یک نسبت وزنی ۶/۲۵ درصد به مدت ۶ هفته در موش‌های دیابتی موجب کاهش معنی‌دار میزان گلوکز سرم می‌شود، حداکثر پاسخ انقباضی آنورت سینه‌ای دارای اندوتلیوم در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه به کلرور پتاسیم و فینیل افرین به ترتیب به طور غیرمعنی‌دار و معنی‌دار کمتر از گروه دیابتی بود و با حذف اندوتلیوم این تفاوت معنی‌دار از بین رفت. به علاوه، پاسخ رفع انقباضی حلقه‌های آنورتی دارای اندوتلیوم به استیل کولین در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده بیشتر و معنی‌دار بود. همچنین، هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها از نظر پاسخ شل‌شدگی به سدیم نیتروپرووسید مشاهده نشد.

مکانیسم‌های متفاوتی در ایجاد اختلال در ساختمان و عملکرد عروق خونی در دیابت قندی دخالت دارند. در این ارتباط ظرفیت اندوتلیوم عروق در سنتز گشادکننده‌های عروقی مانند پروستاگلندین (Prostacyclin) و نیتریک اکسید کم شده و تنگ‌کننده‌های عروقی مانند اندوتلین به مقدار زیادی تولید می‌شوند. هر چند که در مورد نقش هیپرگلیسمی مزمن

۳-۳- پاسخ رفع انقباضی آنورت سینه‌ای به

استیل کولین و نیتروپرووسید

از نظر پاسخ رفع انقباضی حلقه‌های آنورتی پیش منقبض شده با فینیل افرین و دارای اندوتلیوم، با اضافه شدن دوزهای تجمعی استیل کولین، یک پاسخ گشادشدگی وابسته به غلظت در تمام گروه‌ها مشاهده شد (نمودار ۵). در این خصوص معلوم شد که گروه دیابتی یک کاهش معنی‌دار در میزان پاسخ شل‌شدگی در مقایسه با گروه کنترل از غلظت ۰/۱ میکرومولار به بعد نشان می‌دهد ($P < 0.05$ - $P < 0.01$). همچنین، پاسخ شل‌شدگی در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه از غلظت ۱ میکرومولار به بعد در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده بیشتر و معنی‌دار بود ($P < 0.05$). در مورد گروه دیابتی تحت درمان با گلپین کلامید نیز چنین وضعیتی مشاهده شد. از طرف دیگر، گروه کنترل تحت تیمار نیز کاهش معنی‌دار این پاسخ را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. در خصوص پاسخ رفع انقباضی حلقه‌های آنورتی پیش منقبض شده با فینیل افرین و بدون اندوتلیوم، اگرچه با اضافه شدن دوزهای تجمعی سدیم نیتروپرووسید، یک پاسخ گشادشدگی وابسته به غلظت در تمام گروه‌ها مشاهده شد (نمودار ۶) ولی هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها از این نظر مشاهده نشد.



نمودار ۵ پاسخ رفع انقباضی به استیل کولین (به صورت تجمعی و وابسته به غلظت) در حلقه‌های آنورتی پیش منقبض شده با فینیل افرین در گروه‌های مختلف پس از گذشت ۶ هفته
 $P < 0.05$ **, $P < 0.01$ (در مقایسه با گروه کنترل), $P < 0.05$ φ (در مقایسه با گروه دیابتی)

در بروز عوارض عروق بزرگ در حالت دیابت قندی شواهد قطعی وجود ندارد، ولی برخی از نتایج به دست آمده خود هیپرگلیسمی و تشدید استرس اکسیداتیو ناشی از آن را دلیل بروز این عوارض می‌دانند [۳]. نتیجه یکی از مطالعات نشان می‌دهد که در دیابت قندی اختلال متابولیسم گلوکز و گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها نقش مهمی در ایجاد آتروسکلروز و افزایش نفوذپذیری و اسکلروز (Sclerosis) عروق خونی دارند. به علاوه در بیماران دیابتی تولید رادیکال‌های آزاد از طریق اتواکسیداسیون (Autoxidation) گلوکز افزایش می‌یابد [۱۷]. نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که پاسخ انقباضی حلقه‌های آنورتی دارای اندوتلیوم به فنیل آفرین و کلرور پتاسیم در موش‌های صحرایی نر دیابتی به‌طور معنی‌داری نسبت به حیوانات سالم افزایش یافته است که این یافته‌ها با نتایج مطالعه آبیپ (Abebe) و همکاران مطابقت دارد [۴]. به علاوه، با حذف اندوتلیوم به دلیل حذف عوامل گشادکننده عروقی نظیر نیتریک اکسید پاسخ انقباضی تشدید می‌شود که این نیز در بررسی حاضر به دست آمد.

تجویز دراز مدت زالزالک در این مطالعه موجب کاهش پاسخ‌گویی آنورت به عوامل منقبض‌کننده شامل کلرور پتاسیم و فنیل آفرین و تشدید پاسخ رفع انقباضی به استیل کولین شد و با حذف اندوتلیوم این آثار تا حدود زیادی از بین رفت که خود حکایت از نقش مهم اندوتلیوم و عوامل شیمیایی مرتبط با آن نظیر سیستم نیتریک اکسید و پروستاگلندین‌ها در بروز آثار سودمند این گیاه در بررسی حاضر دارد. در این رابطه، نتایج مطالعه واکر (Walker) و همکاران (۲۰۰۶) نشان می‌دهد که تجویز روزانه عصاره زالزالک به مدت ۴ ماه به افراد مبتلا به دیابت قندی نوع ۲ موجب کاهش فشارخون شریانی و بهبود عملکرد سیستم قلب و گردش خون می‌شود که بخش اعظم اثر را نیز به میزان بالای پلی‌فنل‌های موجود در گیاه با خاصیت کاهش‌دهندگی خواص انقباضی و تشدید آزاد شدن عوامل گشادکنندگی عروقی نظیر نیتریک اکسید آزاد شده از اندوتلیوم عروقی نسبت دادند [۱۸]. همچنین مطالعه چنگ (Chang) و

همکاران (۲۰۰۵) نشان می‌دهد که زالزالک نقش مهمی در جلوگیری از بیماری‌های قلب و گردش خون نظیر حالت فشارخون بالا و درمان آن‌ها دارد. در این رابطه مشخص شد که تجویز این گیاه موجب کاهش آسیب بافتی ناشی از برقراری مجدد جریان به دنبال ایسکمی و کاهش فشارخون می‌شود و تغییرات سیستم گشادکننده عروقی نیتریک اکسید و پروستاگلندین‌ها برای بروز این آثار ضروری به نظر می‌آید [۱۹]. همچنین با آنالیز مواد مؤثر در گیاه مشخص نمودند که بخش اعظم آثار عروقی گیاه به دلیل وجود فلاونوئیدها با خاصیت آنتی‌اکسیدانت است [۱۹]. در یک مطالعه دیگر توسط ژنگ (Zhang) و همکاران (۲۰۰۱) مشخص شد که برخی فلاونوئیدها با خاصیت محافظت‌کننده و آنتی‌اکسیدانت نظیر کوئرستین (Quercetin) به مقدار زیاد در زالزالک یافت می‌شوند [۲۰]. نتایج مطالعات قبلی در مورد کوئرستین به خوبی تأییدکننده آثار ضد دیابتی و کاهش‌دهندگی انقباض و افزایش‌دهندگی پاسخ گشادشدگی عروقی این فلاونوئید است [۲۱]. در این مورد کوئرستین موجب افزایش آزادسازی ماده گشادکننده عروقی نیتریک اکسید و افزایش در دسترس بودن آن شده و برای بروز آثار آن به وجود اندوتلیوم نیاز است [۲۱] که این با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. بخش دیگری از اثرهای سودمند این گیاه در تحقیق حاضر را می‌توان به کاهش دادن پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو در بافت عروقی نسبت داد [۱۰]. در این‌باره مشخص شده زالزالک دارای خواص جمع‌کنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن نظیر سوپر اکسید، محافظت سلول در برابر آسیب‌های شیمیایی شامل سموم محیطی، کاهش دادن پراکسیداسیون لیپیدی در نواحی بافتی مختلف و محافظت بافت‌هایی نظیر کبد در برابر انواع استرس‌های شیمیایی است که علت اصلی آن وجود سطح بالا از مواد آنتی‌اکسیدانت نظیر فلاونوئیدها در این گیاه است [۹].

در مطالعه حاضر تجویز دراز مدت زالزالک دارای اثر کاهش‌دهندگی قندخون نیز بود. در این‌باره مشخص شده که

همه حیوانات به یک میزان از غذای حاوی گیاه مصرف کنند و مقدار مصرف غذا در واقع به میزان تمایل حیوان برای مصرف بستگی دارد که در این خصوص مقالات متعدد طی سالیان اخیر یافت می‌شود. به عبارت دیگر هدف از این‌گونه تحقیقات این است که گفته شود اگر در جامعه انسانی یک رژیم غذایی حاوی یک گیاه خاص بیشتر استفاده شود (که در این جا مقدار مصرف به عوامل فیزیولوژیک متعدد بستگی دارد)، احتمال بروز عوارض بیماری می‌تواند کمتر شود.

تجویز خوراکی و دراز مدت سرشاخه زالزالک از طریق اثرگذاری بر عوامل مرتبط با اندوتلیوم موجب کاهش پاسخ انقباضی و افزایش پاسخ رفع انقباضی در بافت آئورت موش صحرایی دیابتی می‌شود و می‌تواند در جلوگیری از عوارض عروقی دیابت در دراز مدت سودمند باشد.

۵- تشکر و قدردانی

بخشی از پژوهش حاضر با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد (تهران) در سال ۱۳۸۷ به انجام رسیده است که بدین وسیله از ایشان سپاسگزاری می‌نماییم.

فلاونوئیدهای کوئرستین و رزوراترول (Resveratrol) که به میزان زیاد در چنین گیاهانی یافت می‌شوند دارای خاصیت ضد دیابتی و اثر شبه انسولینی هستند [۲۲، ۲۳]. همچنین، تجویز برخی فلاونوئیدها به روش داخل صفاقی در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین، موجب کاهش معنی‌دار سطح گلوکز سرم به صورت وابسته به دوز می‌شود؛ در حالی که همین فلاونوئیدها اثر محسوسی بر غلظت گلوکز خون در حیوانات سالم ندارند [۲۲]. از طرف دیگر؛ برخی از فلاونوئیدهای موجود در گیاهان دارویی به عنوان ماده آنتی‌اکسیدانت با خاصیت شبه انسولینی شناخته می‌شوند و از این طریق قادر به کاهش دادن علائم دیابت قندی و برگرداندن سطح برخی پارامترها به حد طبیعی هستند [۲۳].

از جمله محدودیت‌های بررسی حاضر و مطالعات مشابه آن است که غذای تهیه شده حاوی گیاه به‌طور آزاد و بدون اعمال محدودیت در اختیار حیوانات تحت درمان قرار می‌گیرد. بنابراین این احتمال وجود دارد که تمام حیوانات به یک میزان از گیاه استفاده نکرده باشند و این می‌تواند تفاوت‌های کمتر بین گروه‌های مورد مطالعه و پراکنش بیشتر داده را در چنین مطالعاتی توجیه کند. البته هدف اصلی کار این نبوده است که

۶- منابع

- [1] Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit* 2006; 12(7): RA130-47.
- [2] Wändell PE. Quality of life of patients with diabetes mellitus. An overview of research in primary health care in the Nordic countries. *Scand J Prim Health Care* 2005; 23(2): 68-74.
- [3] Mori S, Takemoto M, Yokote K, Asaumi S, Saito Y. Hyperglycemia-induced alteration of vascular smooth muscle phenotype. *J Diabetes Complications* 2002; 16(1): 65-8.
- [4] Abebe W, Harris KH, MacLeod KM. E Enhanced contractile responses of arteries from diabetic rats to alpha 1-adrenoceptor stimulation in the absence and presence of extracellular calcium. *J Cardiovas Pharmacol* 1990; 16(2): 239-48.
- [5] Suji G, Sivakami S. Approaches to the treatment of diabetes mellitus: an overview. *Cell Mol Biol* 2003; 49(4): 635-9.
- [6] Grover JK, Yadav S, Vats V. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *J*

- Ethnopharmacol 2002; 81(1): 81-100.
- [7] Dey L, Attele AS, Yuan CS. Alternative therapies for type 2 diabetes. *Altern Med Rev* 2002; 7(1): 45-58.
- [8] Mirheydar H. Medicinal plant science: Application of plants in prevention and treatment of diseases. 1996; p: 127.
- [9] Peschel W, Bohr C, Plescher A. Variability of total flavonoids in *Crataegus*--factor evaluation for the monitored production of industrial starting material. *Fitoterapia* 2008; 79(1): 6-9.
- [10] Veveris M, Koch E, Chatterjee SS. *Crataegus* special extract WS 1442 improves cardiac function and reduces infarct size in a rat model of prolonged coronary ischemia and reperfusion. *Life Sci* 2004; 74(15): 1945-55.
- [11] Li HB, Fang KY, Lü CT, Li XE. [Study on lipid-regulating function for the extracts and their prescriptions from *Semen Cassiae* and *fructus crataegi*]. *Zhong Yao Cai* 2007; 30(5): 573-5.
- [12] Román Ramos R, Alarcón-Aguilar F, Lara-Lemus A, Flores-Saenz JL. Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. *Arch Med Res* 1992; 23(1): 59-64.
- [13] Jouad H, Lemhadri A, Maghrani M, Burcelin R, Eddouks M. Hawthorn evokes a potent anti-hyperglycemic capacity in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Herb Pharmacother* 2003; 3(2): 19-29.
- [14] Swanson-Flatt SK, Day C, Bailey CJ, Flatt PR. Evaluation of traditional plant treatments for diabetes: studies in streptozotocin diabetic mice. *Acta Diabetol Lat* 1989; 26(1): 51-5.
- [15] Sedaqat R, Roghani M, Zarei M. The effect of feeding of *Crataegus* spp branchlet on serum concentration of glucose and lipid and protection of beta cells in diabetic rats. *J Endocrinol Metab* 2009; in press
- [16] Nitta A, Murai R, Suzuki N, Ito H, Nomoto H, Katoh G, Furukawa Y, Furukawa S. Diabetic neuropathies in brain are induced by deficiency of BDNF. *Neurotoxicol Teratol* 2002; 24(5): 695-701.
- [17] Yildirim O, Buyukbingol Z. Effect of cobalt on the oxidative status in heart and aorta of streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochem Funct* 2003; 21(1): 27-33.
- [18] Walker AF, Marakis G, Simpson E, Hope JL, Robinson PA, Hassanein M, Simpson HC. Hypotensive effects of hawthorn for patients with diabetes taking prescription drugs: a randomised controlled trial. *Br J Gen Pract* 2006; 56(527): 437-43.
- [19] Chang WT, Dao J, Shao ZH. Hawthorn: potential roles in cardiovascular disease. *Am J Chin Med* 2005; 33(1): 1-10.
- [20] Zhang Z, Chang Q, Zhu M, Huang Y, Ho WK, Chen Z. Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits. *J Nutr Biochem* 2001; 12(3): 144-52.
- [21] Machha A, Achike FI, Mustafa AM, Mustafa MR. Quercetin, a flavonoid antioxidant, modulates endothelium-derived nitric oxide bioavailability in diabetic rat aortas. *Nitric Oxide* 2007; 16(4): 442-7.
- [22] Vessal M, Hemmati M, Vasei M. Antidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced

- diabetic rats. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2003; 135C(3): 357-64.
- [23] Su HC, Hung LM, Chen JK. Resveratrol, a red wine antioxidant, possesses an insulin-like effect in streptozotocin-induced diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290(6): E1339-46.