اثر بلوک کانال های کلسیمی بر اتساع رگی ناشی از عصاره گیاه سیاه دانه در آئورت ایزوله موش صحرایی

الهه فریدونی*[۱]، سعید نیازمند[۲]، سید مجتبی موسوی[۳]

۱. گروه هوشبری، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

۲. مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

۳. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

***عهده دار مکاتبات:** کرمانشاه- دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، دانشکده پیراپزشکی، گروه هوشبری.

Email: efereidouni2009@yahoo.com

چکیده

زمینه: سیاه دانه (*Nigella sativa*) گیاهی است که بطور سنتی در درمان بسیاری از بیماری ها از جمله سردرد، برونشیت، اگزما و آنفلوانزا استفاده می شد و دارای خواص فارماکولوژیکی زیادی مانند اثر ضد دیابتی، ضد التهابی، آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد سرطان می باشد. گزارشات متعددی از اثرات قلبی عروقی سیاه دانه از قبیل اثرات ضد فشارخونی و نیز اثرات کاهنده ضربان قلب این گیاه وجود دارد. هدف از این مطالعه، بررسی نقش احتمالی کانال های کلسیمی در حضور بلوک کننده های کانال های کلسیمی بر اثر گشاد کنندگی عصاره می باشد.

روش ها: در این مطالعه تجربی، ۲۸ سر رت نر نژاد ویستار بطور تصادفی به ۴ گروه ۷ تایی تقسیم گردیدند. درگروه های اول و دوم اثر غلظت های تجمعی عصاره (۲۰،۱۰،۵ mg/ml) بر انقباض ناشی از فنیل افرین (10^{-6}مولار) در حضور و غیاب اندوتلیوم، در گروه سوم اثر غلظت های تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور دیلتیازم (10^{-5} مولار) و در گروه چهارم اثر غلظت های تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور هپارین (۵۰ mg/ml) بررسی گردید. به منظور تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS نسخه ۱۳ و آزمون های تحلیل واریانس و تی استفاده شد.

یافته ها: عصاره انقباضات ناشی از فنیل افرین را در حضور و غیاب اندوتلیوم به صورت وابسته به غلظت بطور معنی داری کاهش داد (P< ۰/۰۰۱، P= ۰/۰۰۲). غلظت های تجمعی عصاره انقباض القا شده فنیل افرین را در حضور دیلتیازم و هپارین بطور معنی داری مهار کرد (P< ۰/۰۱، P< ۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: سیاه دانه دارای اثر شل کنندگی بر عضله صاف عروق است، بنظر میرسد بخشی از این اثر از طریق مهار جریان روبه داخل کلسیمی از طریق کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ و وابسته به گیرنده و بخش دیگر نیز از طریق مهار رهایش کلسیم از منابع داخل سلولی به انجام می رسد.

کلید واژه ها: سیاه دانه، آئورت، اندوتلیوم، کانال های کلسیمی، موش صحرایی

مقدمه:

شیوع بیماری های قلبی- عروقی در جوامع انسانی امروزی بسیار بالاست و پیشگیری و درمان این بیماری ها جز اولویت های بهداشتی کشور ها به شمار میرود [۱]. در سال های اخیر گرایش به مصرف داروهای گیاهی در درمان و پیشگیری از بیماری ها در سطح جهان بطور چشمگیری افزایش یافته است. یکی از گیاهان تاثیرگذار بر سیستم قلبی عروقی، سیاه دانه است. سیاه دانه (*Nigella sativa*) متعلق به شاخه گیاهان گلدار، رده دولپه ای ها (*Dicotyledoneae*)، راسته آلاله ها (*Ranales*)، تیره آلاله (*Ranunculaceae*) و تبار خربق (*Helleboreae*) می باشد [۲]. این گیاه نسبتا کوچک، علفی و یکساله [۲،۳] به ارتفاع ۶۰ سانتیمتر، دارای گل های آبی و سفید با ۱۰-۵ گلبرگ و برگ های منقسم می باشد، میوه بزرگ و دارای کپسول متورم است که از ۷-۳ فولیکول (برگه) تشکیل شده و هر یک حاوی دانه های بسیاری است [۴]. این گیاه بومی آسیای جنوب غربی است و بخصوص در کشورهای مدیترانه شرقی، هند و پاکستان بطور

SID.ir

گسترده کشت می شود [۵،۶]. مصرف دارویی آن به زمان دیسوقوریدوس و پلینی بر می گردد و بخش دارویی این گیاه دانه های آن می باشد [۷-۹]. در بررسی های انجام شده بر روی گیاه سیاه دانه مشخص شده است که اجزاء فعال دانه های سیاه دانه، تیموکینون، دی تیموکینون، تیموهیدروکینون و تیمول می باشند [۱۰]. علاوه بر این دانه های سیاه دانه محتوی پروتئین، عناصر معدنی، ویتامین و کربوهیدرات هستند [۱۱-۱۴]. تحقیقات علمی نشان داده اند که این گیاه دارای اثرات کاهنده قندخون [۱۵،۱۶]، آنتی اکسیدان [۱۷]، ضد زخم ۱۸، ضد سرطان و ضد جهش [۱۹-۲۲]، ضد درد و ضد التهاب [۱۱،۲۳،۲۴] و ضد میکروب [۲۵-۲۷] می باشد. سایر اثرات فارماکولوژیکی سیاه دانه شامل اثرات شل کننده عضله صاف [۲۸]، آنتی کولینرژیک [۲۹]، افزایش دهنده ترشح صفرا [۳۰]، ضد تشنج [۳۱] و پایین آورنده کلسترول خون [۳۲] می باشد. در مورد اثرات قلبی عروقی این گیاه گزارشاتی در دست است. در تحقیقی اثرات کاهنده فشار خون و ضربان قلب عصاره این گیاه در موش های صحرایی گزارش شده است [۳۳-۳۵]. در پژوهشی دیگر، اثر گشادکنندگی عصاره آبی الکلی سیاه دانه بر آئورت جدا شده موش صحرایی بررسی شده است [۳۶]. در مطالعه حاضر اثر گشاد کنندگی عروقی عصاره آبی الکلی سیاه دانه در حضور بلوک کننده های کانال های کلسیمی بر آئورت ایزوله موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها:

الف) تهیه عصاره: عصاره سیاه دانه به روش خیساندن تهیه شد. دانه های گیاه سیاه دانه، تهیه شده از فروشگاه گیاهان دارویی در مشهد، بعد از شناسایی علمی توسط مرکز تحقیقات فارماکولوژیک گیاهان دارویی مستقر در بخش فارماکولوژی دانشکده پزشکی مشهد، آسیاب شده و بصورت پودر ریز درآمد و در مقدار کافی الکل اتیلیک ۵۰٪، در دمای آزمایشگاه به مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد. سپس محلول بدست آمده با استفاده از کاغذ صافی، صاف گردید. جهت تهیه عصاره خشک، محلول بدست آمده به مدت ۷۲ ساعت در بن ماری ۴۰ درجه قرار گرفت. مقدار بازده عصاره ۹٪ بود. غلظتهای مورد استفاده (۵،۱۰،۲۰mg/ml) از این عصاره خشک تهیه گردید.

ب) حیوانات و آماده سازی آئورت: مطالعه به روش تجربی و بر روی رت های نر بالغ صورت گرفت. موش های صحرایی بالغ نر از نژاد ویستار (با محدوده وزنی ۲۰۰- ۲۵۰ گرم) تهیه شده از حیوان خانه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، در قفس های پلی کربنات بصورت چهارتایی و در دمای ۲۰-۲۴ درجه سانتیگراد و سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. موش ها دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. موش ها با دی اتیل اتر بیهوش شده، قفسه سینه باز شد و از آئورت سینه ای حدود ۲ سانتیمتر جدا گردید و بلافاصله در محلول سرد و اکسیژنه کربس- هانسلیت قرار داده و بافت های پیوندی با دقت از آن جدا گردید. آئورت به چند قطعه به طول ۵ میلیمتر تقسیم شد. در تمام مراحل آماده سازی آئورت، دقت فراوان گردید تا به لایه آندوتلیال آن آسیب وارد نشود. در گروه های فاقد آندوتلیوم، برای حذف اندوتلیوم، از یک میله نازک فلزی استفاده می‌شد که با مالش آرام میله به مدت ۶۰ ثانیه در سطح داخلی حلقه های آئورت، اندوتلیوم تخریب می‌گردید. برای حصول اطمینان از تخریب اندوتلیوم آئورت، پس از ایجاد انقباض به وسیله غلظت 10^{-6} مولار فنیل افرین، استیل کولین با غلظت 10^{-5} مولار به حمام بافت اضافه می‌گردید، این دارو در صورت وجود اندوتلیوم موجب انبساط آئورت می گردد. عدم مشاهده هر گونه اثر شل کنندگی در انقباض ناشی از فنیل افرین نشان دهنده تخریب کامل اندوتلیوم بود. قطعه آئورت آماده شده بلافاصله به درون حمام بافت (۵۰ میلی لیتر) و بین دو میله افقی از جنس استیل زنگ نزن قرار داده شد که یکی بصورت ثابت در در ته حمام بافت قرار داشت و دیگری از طریق نخ به ترانسدیوسرایزومتریک (AD instrument, Australia) متصل شده بود و انقباضات آئورت به وسیله دستگاه ثبات (Power Lab) بر روی کاغذ ثبت گردید. محلول کربس- هانسلیت حمام ۳۷ درجه سانتیگراد، pH برابر ۷/۴ و ترکیب آن (بر حسب میلی مولار) به قرار زیر بود:

$NaCl$ 118.5; KCl 4.74; $CaCl_2$ 2.5; $MgSO_4$ 1.18; $NaHCO_3$ 24.9; Glucose 10

Archive of SID

SID.ir

جریان دائم حباب های اکسیژن از ته حمام برقرار بود. میزان کشش اولیه ۲ گرم و مدت دوره سازگاری ۶۰ دقیقه بود که طی این مدت هر ۱۵ دقیقه محلول حمام تعویض می گردید.

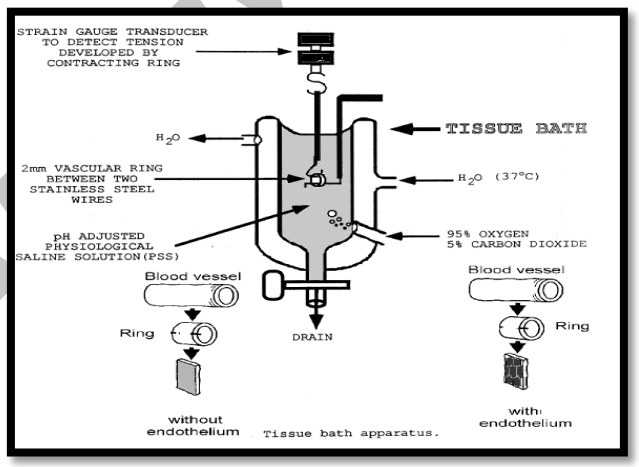
ج) روش کار: در گروه اول، پس ازاعمال کشش، استراحت و تثبیت شرایط بافت، عضله صاف آئورت با استفاده از فنیل افرین (10^{-6} مولار) منقبض گردیده و سپس اثر غلظتهای تجمعی عصاره (۵mg/ml، ۱۰، ۲۰) در حضور اندوتلیوم بررسی گردید (n=۷).

در گروه دوم، پس ازاعمال کشش، استراحت و تثبیت شرایط بافت، عضله صاف آئورت با استفاده از فنیل افرین (10^{-6} مولار) منقبض گردیده و سپس اثر غلظتهای تجمعی عصاره (۵mg/ml، ۱۰، ۲۰) در غیاب اندوتلیوم بررسی گردید (n=۷).

در گروه سوم، پس ازاعمال کشش، استراحت و تثبیت شرایط بافت، ابتدا بافت به مدت ۳۰ دقیقه با دیلتیازم (10^{-5} مولار) انکوبه شده و سپس عضله صاف آئورت با استفاده از فنیل افرین (10^{-6} مولار) منقبض گردیده و اثر غلظت های تجمعی عصاره (۵ mg/ml، ۱۰، ۲۰) بررسی گردید (n=۷).

در گروه چهارم، پس ازاعمال کشش، استراحت و تثبیت شرایط بافت، ابتدا بافت به مدت ۳۰ دقیقه با هپارین (۵۰ mg/ml) انکوبه شده و سپس عضله صاف آئورت با استفاده از فنیل افرین (10^{-6} مولار) منقبض گردیده و اثر غلظتهای تجمعی عصاره (۵mg/ml، ۱۰، ۲۰) بررسی شد (n=۷).

د) تحلیل آماری داده‌ها: نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شد و داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۳ تحلیل یافت. برای مقایسه نتایج هر متغیر در هر یک از گروه ها قبل و بعد از هر بررسی از آزمون تی زوجی و برای مقایسه گروه ها با هم با توجه به توزیع نرمال داده ها با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و مقایسات پسین (توکی) استفاده و P< ۰/۰۵ بعنوان سطح اختلاف معنی‌داری در نظر گرفته شد.



شکل ۱. ساختمان حمام بافت[۳۶]

یافته ها:

اثر عصاره سیاه دانه بر انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور و غیاب اندوتلیوم:

عصاره سیاه دانه اثر شل کنندگی معنی داری بر انقباض ناشی از فنیل افرین در شرایط حضور و غیاب اندوتلیوم نشان داد. در شرایط حضور و غیاب اندوتلیوم تفاوت معنی داری در اثر شل کنندگی عصاره در تمامی غلظت ها جز غلظت ۵mg/ml، وجود داشت (P<۰/۰۰۱، P= ۰/۰۰۲). همچنین در مقایسه این دو گروه با هم، تفاوت معنی داری در اثر شل کنندگی عصاره بین دو گروه دارای اندوتلیوم و فاقد اندوتلیوم مشاهده نشد (نمودار ۱).

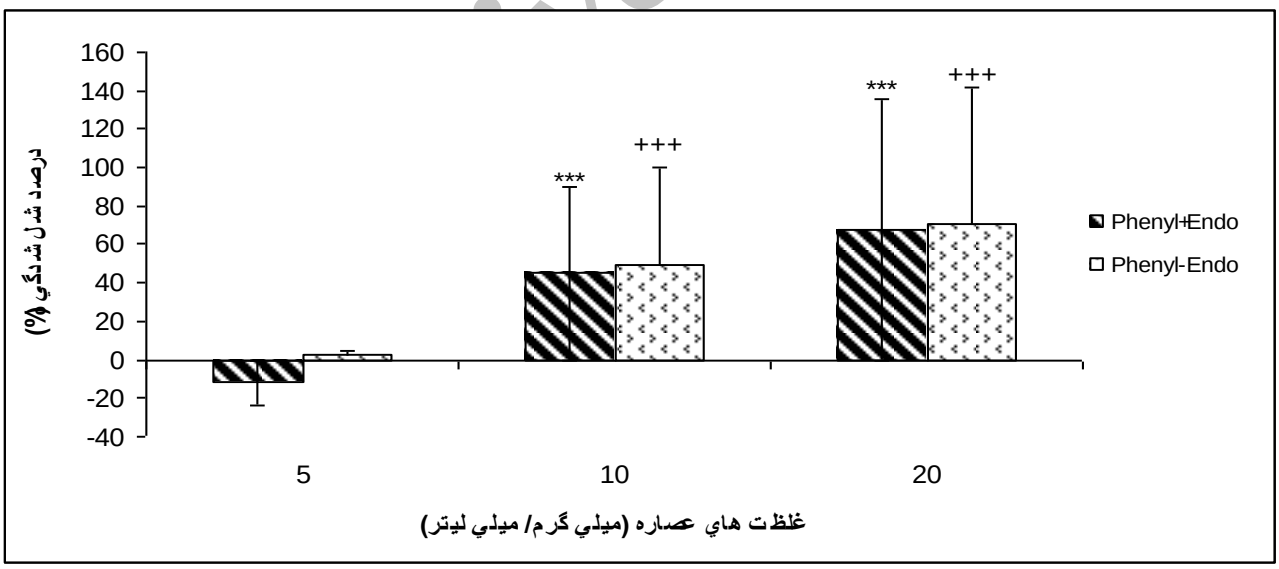
SID.ir
Archive of SID

اثر عصاره سیاه دانه بر انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور دیلتیازم:

به منظور تائید بیشتر این امر که عصاره اثر شل کنندگی خود را از طریق مهار جریان ورودی کلسیمی توسط کانال های کلسیمی اعمال می کند، اثر عصاره در حضور یک مهار کننده کانال های کلسیمی نوع L (دیلتیازم) در غیاب اندوتلیوم بررسی شد. عصاره سیاه دانه در غلظت ۵mg/ml، اثر شل کنندگی بر انقباض ناشی از فنیل افرین نشان نداد و حتی سبب تشدید انقباض شد. همچنین اثر شل کنندگی معنی داری بر انقباض ناشی از فنیل افرین در غلظت های ۱۰mg/ml و ۲۰ نسبت به غلظت پایه مشاهده گردید (P< ۰/۰۰۱). در مقایسه دو گروه دیلتیازم با گروه فنیل افرین در غیاب اندوتلیوم، تفاوت معنی داری در اثر شل کنندگی عصاره در همه غلظت ها مشاهده شد (P=۰/۰۲، P= ۰/۰۰۶، P<۰/۰۰۱)، (نمودار ۲ و ۴).

اثر عصاره سیاه دانه بر انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور هپارین:

برای بررسی اثر عصاره بر رهایش کلسیم از منابع داخل سلولی با واسطه اینوزیتول تری فسفات (IP_3)، پاسخ های انقباضی حلقه های آئورتی فاقد اندوتلیوم به فنیل افرین در حضور هپارین، بلوک کننده اثر IP_3 بر کانال های کلسیمی وابسته به IP_3 مورد بررسی قرار گرفت. عصاره سیاه دانه اثر شل کنندگی معنی داری بر انقباض ناشی از فنیل افرین در شرایط حضور هپارین در غلظت های ۲۰mg/ml و۱۰ نشان داد (P<۰/۰۰۱، P<۰/۰۱)، در مقایسه دو گروه هپارین با گروه فنیل افرین در غیاب اندوتلیوم، تفاوت معنی داری در اثر شل کنندگی عصاره در همه غلظت ها مشاهده شد (P<۰/۰۰۱)، (نمودار ۳ و ۴).

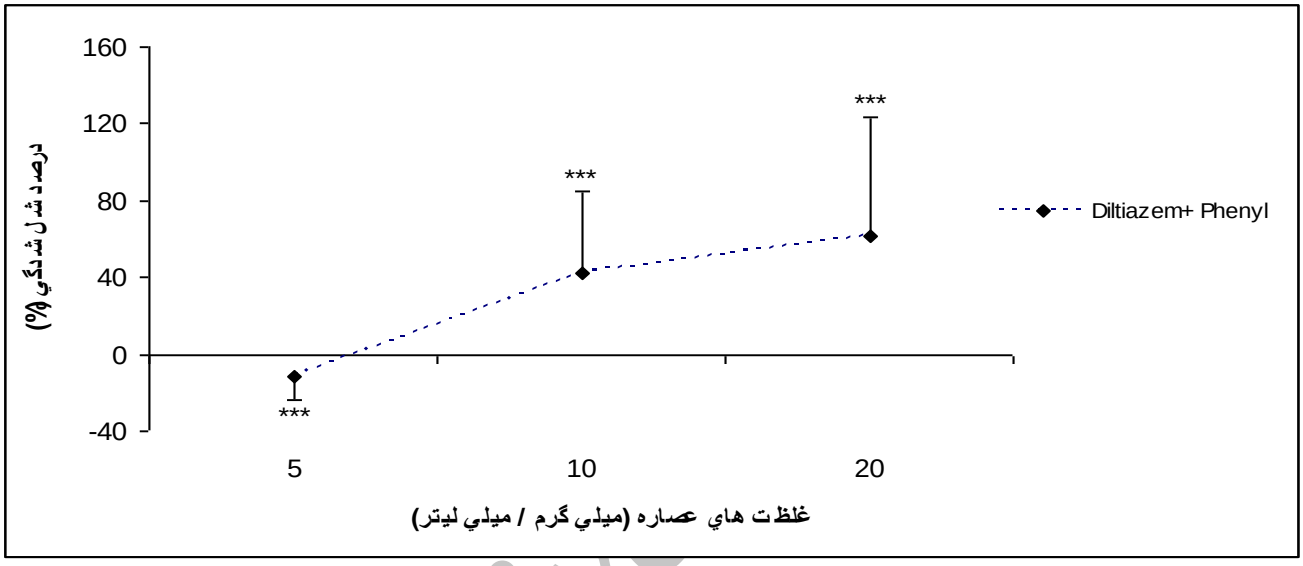


نمودار ۱. مقایسه اثر شل کنندگی غلظت های تجمعی عصاره سیاه دانه بر آئورت ایزوله موش صحرایی منقبض شده با فنیل افرین (10^{-6} مولار) در حضور و غیاب اندوتلیوم. با انجام آزمون unpaired t-test مشخص گردید که تفاوت معنی داری در اثر شل کنندگی رگی بین دو گروه دارا و فاقد اندوتلیوم وجود ندارد. $P<0.001^{***}$ در مقایسه با مقدار پایه در حضور اندوتلیوم، $P<0.001^{+++}$ در مقایسه با مقدار پایه در غیاب اندوتلیوم (n=۷ در هر گروه). نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار (mean±SEM) ارائه شده است.

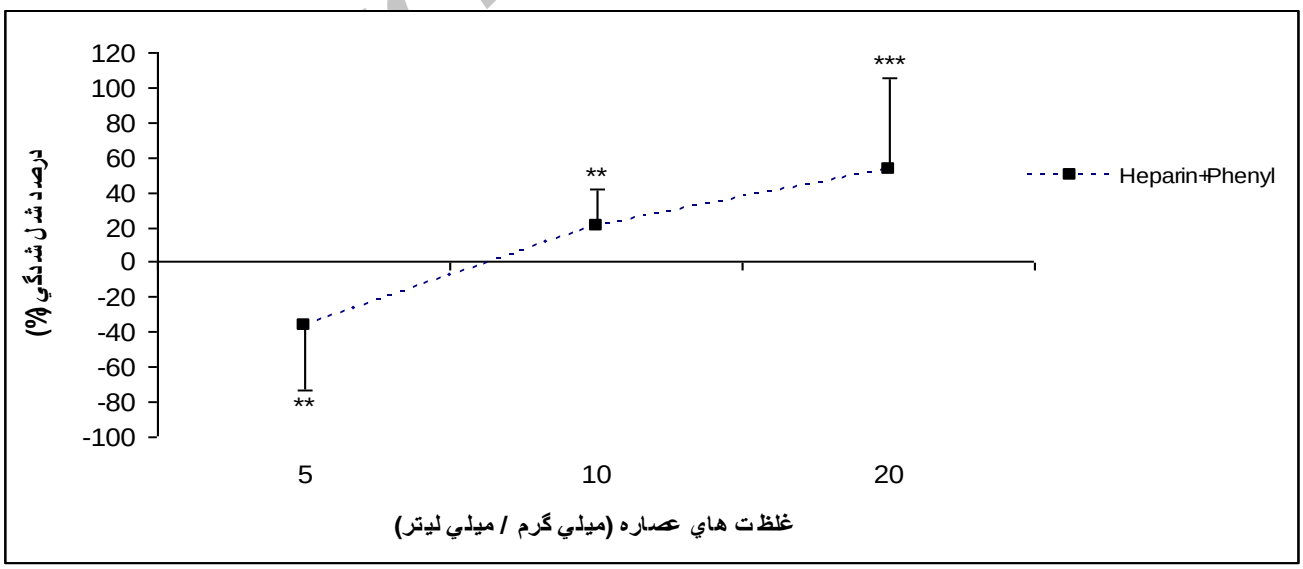
SID.ir

مقایسه بین گروه های فاقد اندوتلیوم منقبض شده با فنیل افرین و گروه های انکوبه شده با هپارین و دیلتیازم منقبض شده با فنیل افرین:

تفاوت معنی داری در غلظت های ۲۰mg/ml و ۱۰، ۵ بین سه گروه فاقد اندوتلیوم منقبض شده با فنیل افرین، گروه هپارین و دیلتیازم مشاهده شد (P= ۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱). همچنین بین گروه فاقد اندوتلیوم منقبض شده با فنیل افرین با گروه های هپارین (برای غلظت های mg/ml ۱۰و۵، P <۰/۰۰۱ و برای غلظت mg/ml ۲۰، P =۰/۰۰۲) و دیلتیازم (برای غلظت های mg/ml ۵، P <۰/۰۰۱ و برای غلظت های mg/ml ۲۰ و ۱۰، P=۰/۰۵) اختلاف معنی دار وجود داشت (نمودار ۴).

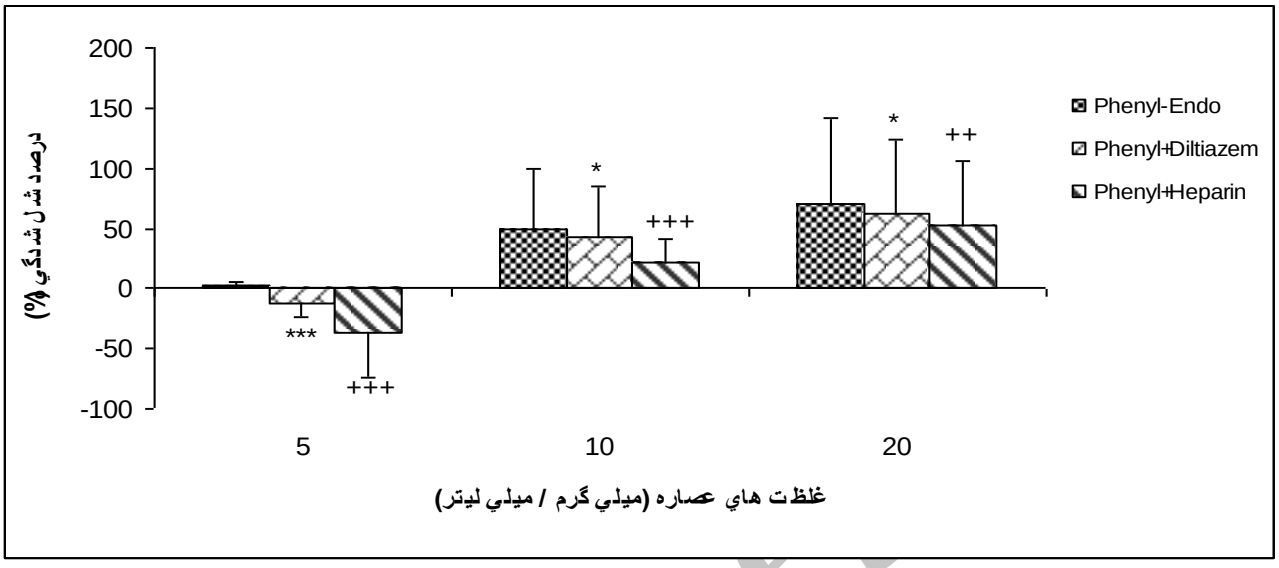


نمودار ۲. اثر شل کنندگی غلظت های تجمعی عصاره سیاه دانه در حضور دیلتیازم بر انقباض ناشی از فنیل افرین (10^{-6} مولار) در آئورت موش صحرایی. با انجام آزمون paired t-test مشخص گردید که عصاره در غلظت ۵mg/ml، اثر شل کنندگی بر انقباض ناشی از فنیل افرین نشان نداد. ۰/۰۰۱ >P*** در مقایسه با مقدار پایه در حضور دیلتیازم، (n=۷ در هر گروه). نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار (SEM±mean) ارائه شده است.



نمودار ۳. اثر شل کنندگی غلظت های تجمعی عصاره سیاه دانه در حضور هپارین بر انقباض ناشی از فنیل افرین (10^{-6} مولار) در آئورت موش صحرایی. با انجام آزمون paired t-test مشخص گردید که عصاره در غلظت ۵mg/ml، اثر شل کنندگی بر انقباض ناشی از فنیل افرین نشان نداد. ۰/۰۱ >P** ، ۰/۰۰۱ >P*** در مقایسه با مقدار پایه در حضور هپارین، (n=۷ در هر گروه). نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار (SEM±mean) ارائه شده است.

SID.ir



نمودار٤. نمودار ستونی اثر شل کنندگی تیمار های مختلف در سه غلظت مورد بررسی به همراه نتایج معنی داری حاصل از مقایسه میانگین به روش توکی. تفاوت معنی داری بین گروه فاقد اندوتلیوم منقبض شده با فنیل افرین و گروه های هپارین، دیلتیازم وجود دارد. ۰/۰۱ >P ++ ، ۰/۰۰۱>P+++ اثر شل کنندگی عصاره در حضور هپارین در مقایسه با نمونه های فاقد اندوتلیوم منقبض شده با فنیل افرین.۰/۰۵ >P*، ۰/۰۰۱ >P*** اثر شل کنندگی عصاره در حضور دیلتیازم در مقایسه با نمونه های فاقد اندوتلیوم منقبض شده با فنیل افرین (۷= n در هر گروه).

بحث:

نتایج تجربه حاضر نشان داد که عصاره سیاه دانه انقباض ناشی از فنیل افرین را در عضله صاف آئورت کاهش می دهد. کلسیم فاکتور اصلی در جفت شدن تحریک – انقباض در سلول‌های عضله صاف است[۳۷،۳۸]. مسیرهای شناخته شده افزایش کلسیم داخل سلولی از طریق کانال های کلسیمی عمل کننده توسط رسپتور Receptor-Operated Ca^{+2} ($ROCC_S$) Channels، کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ $Receptor- Operated\ Ca^{+2}$ Channels ($VDCC_S$)، آزاد شدن کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی به وسیله فعال‌سازی IP_3و رسپتورهای رایانودینی است[۳۹] که باعث افزایش کلسیم درون سلولی شده و منجر به انقباض عضله صاف می‌گردد.

فنیل افرین آگونیست گیرنده های α_1 آدرنرژیک است که باعث انقباض عضله صاف آئورت به وسیله جریان رو به داخل کلسیم از طریق کانال‌های کلسیمی وابسته به گیرنده[۴۰] ، کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ[۴۱،۴۲] و نیز ترشح کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی با اتصال IP_3 به گیرنده های IP_3 در شبکه سارکوپلاسمی می شود [۴۰-۴۳]. روند انقباض حاصل از ترکیباتی که از طریق گیرنده های متصل شونده به پروتئین G عمل می کنند (نظیر گیرنده های آلفا-۱ آدرنرژیک)، غالبا با افزایش آزاد سازی کلسیم از منابع داخلی شروع شده و در تداوم انقباض، کانال های ROCCs نقش دارند، بعلاوه افزایش حساسیت پروتئین های انقباضی به یون کلسیم نیز مهم است [۴۴،۴۵]. بنابراین احتمالا اثر شل کنندگی عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین با تداخل در جریان ورودی کلسیم از طریق این کانال ها اعمال می گردد. نتایج حاصل از اثر عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین به تنهایی و در حضور دیلتیازم به خوبی نشان می دهد که عصاره بخش مهمی از اثر شل کنندگی خود را از طریق مهار جریان روبه داخل کلسیمی با واسطه کانال های کلسیمی نوع L به انجام می رساند. بنابراین عصاره آبی الکلی سیاه دانه توانسته است در رقابت با دیلتیازم اثر بلوک کنندگی کانال های کلسیمی نوع L را در غلظت های بالاتر حذف کرده و اثر اتساعی را بطور معنی داری افزایش دهد. عصاره بخشی از مکانیسم عمل خود را از طریق مهار رهایش کلسیم از منابع داخل سلولی اعمال می کند. در انقباض عضله

Archive of SID

صاف جدار رگ مسیر های سیگنالینگ دیگری نیز می تواند به کار گرفته شود. تحریک گیرنده های آلفا می تواند سبب فعال شدن فسفولیپاز C و در نتیجه باعث تولید دی اسیل گلیسرول و IP_3 شود که متعاقبا دی اسیل گلیسرول، زنجیره سبک میوزین را از طریق فعالسازی پروتئین کیناز C فعال می کند و IP_3 آزاد شدن کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی را از طریق اتصال به رسپتور های IP_3 در شبکه سارکوپلاسمی القا میکند [۴۰-۴۳]. بنابراین این احتمال نیز وجود دارد که بخشی از اثر عصاره از طریق تداخل با این مسیر های سیگنالینگ، موجب بروز اثر شل کنندگی خود گردد. مقایسه نتایج حاصل از اثر شرایط حضور هپارین و دیلتیازم در غیاب اندوتلیوم بر انقباض ناشی از فنیل افرین نشان داد که کاهش اثر گشادکنندگی عصاره در تمامی غلظت ها در شرایط حضور هپارین بیشتر از دیلتیازم می باشد و این احتمال را مطرح می کند که کاهش اثر مهاری عصاره در غلظت های کمتر در شرایط حضور هپارین در غیاب اندوتلیوم، علاوه بر وابستگی اثر عصاره به اندوتلیوم در این غلظت ها به تاثیر هرچه بیشتر رهایش کلسیم از منابع داخل سلولی و کانال های کلسیمی وابسته به IP_3 مربوط می گردد. بنظر می رسد که در غلظت های بالاتر عصاره، اثر مهاری عصاره بر جریان رو به داخل کلسیمی نقش مهمتری بر شل کنندگی آن دارد. یافته ها نشان می دهد که برخی از ترکیبات موجود در عصاره سیاه دانه نظیر نیژلون (پلیمر کربونیل تیموکینون) [۴۶] دارای اثر شل کنندگی بر عضله صاف عروق است. بنابراین می توان نتیجه گرفت که بخشی از اثرات مشاهده شده می تواند مربوط به حضور این ترکیب در عصاره سیاه دانه باشد.

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

نتیجه گیری:

یافته های پژوهش حاضر نشان می دهد که عصاره آبی الکلی سیاه دانه اثر شل کنندگی بر انقباض ناشی از فنیل افرین دارد. بخش مهمی از اثر شل کنندگی عصاره از طریق مهار جریان رو به داخل کلسیمی از طریق کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ و وابسته به گیرنده به انجام می رسد. بعلاوه عصاره سیاه دانه بخش دیگری از اثر خود را با مهار رهایش کلسیم از منابع داخل سلولی از طریق IP_3 اعمال می کند.

تقدیر و تشکر:

این مقاله از نتایج طرح تحقیقاتی مصوب در دانشگاه علوم پزشکی مشهد به شماره ۹۰۰۸۴۰ استخراج شده است. بدین وسیله نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که با حمایت مالی خود انجام این پژوهش را میسر ساختند، تشکر و قدردانی نمایند.

References:

1. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser S, Longo DL, Jameson JL, et al. Harrison's principles of internal medicine, 17th ed. New York: McGraw-Hill Inc; 2008, pp. 1-22, 50-57.

2. Randhawa MA. Black seed, Nigella sativa, deserves more attention. J Ayub Med Coll Abbottabad 2008; 20(2):1-2.

3. Nickavar B, Mojab F, Javidnia K, Amoli MA. Chemical composition of the fixed and volatile oils of Nigella sativa L. from Iran. Z Naturforsch C 2003; 58(9-10): 629-31.

4. Khan MA. Chemical composition and medicinal properties of Nigella sativa Linn. Inflammopharmacology 1999; 7(1): 15-35.

5. Nergiz C, Otles S. Chemical composition of Nigella sativa L. seeds. Food Chem 1993; 48(3): 259-61.

6. Kaskoos RA. Fatty acid composition of black cumin oil from Iraq. Res J Med Plant 2011; 5(1): 85-9.

7. El-Kadi A, Kandil O. Effect of Nigella sativa (the black seed) on immunity. Bull Islamic Med 1986; 4: 344-8.

8. Worthen DR, Ghosheh OA, Crooks P. The in vitro anti-tumor activity of some crude and purified components of blackseed, Nigella sativa L. Anticancer Res 1998; 18(3A): 1527-32.

9. Al-Jassir MS. Chemical composition and microflora of black cumin (Nigella sativa L.) seeds growing in Saudi Arabia. Food Chem 1992; 45(4): 239-42.

10. Ramadan MF. Nutritional value, functional properties and nutraceutical applications of black cumin (Nigella sativa L.): an overview. Int J food Sci Technol 2007; 42(10): 1208-18.

Archive of SID

SID.ir

11. Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. seed. Int J Immunopharmacolology 2005; 5(13-14): 1749-70.

12. Gad A, El-Dakhakhany M, Hassan M. Studies on the chemical constitution of Egyptian Nigella sativa L oil. Planta Med 1963; 11(2): 134-8.

13. Al Gaby A. Amino acid composition and biological effects of supplementing broad bean and corn proteins with Nigella sativa (black cumin) cake protein. Nahrung 1998; 42(05): 290-4.

14. RB S. Sterols in the seed oil of Nigella sativa. Planta Med 1973; 24: 375-7.

15. Al-Hader A, Aqel M, Hasan Z. Hypoglycemic effects of the volatile oil of Nigella sativa seeds. Pharm Biol 1993; 31(2): 96-100.

16. El-Zawahrawy B, Al-Zahraa FAH. Effect of Nigella sativa on blood level and structure of liver and pancreas in adult male albino rats. Al-Azhar Med J 1998; 27: 479–83.

17. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. Phytother Res 2000; 14(5): 323-8.

18. Akhtar A, Ahmad K, Gilani S, Nazir A. Antiulcer effects of aqueous extracts of Nigella sativa and Pongamia pinnata in rats. Phytother 1996; 67(3): 195-9.

19. Salomi N, Nair S, Jayawardhanan K, Varghese C, Panikkar K. Antitumour principles from Nigella sativa seeds. Cancer Lett 1992; 63(1): 41-6.

20. Badary OA, El-Din AMG. Inhibitory effects of thymoquinone against 20-methylcholanthrene-induced fibrosarcoma tumorigenesis. Cancer Detect Prev 2001; 25(4): 362-8.

21. Rooney S, Ryan M. Effects of alpha-hederin and thymoquinone, constituents of Nigella sativa, on human cancer cell lines. Anticancer Res 2005; 25(3B): 2199-204.

22. Kumara S, Hauat B. Extraction, isolation and characterization of antitumor principle, a-hederin, from the seeds of Nigella sativa. Planta Med 2001; 67: 29-32.

23. Khanna T, Zaidi F, Dandiya P. CNS and analgesic studies on Nigella sativa. Phytother 1993; 64(5): 407-10.

24. Houghton PJ, Zarka R, de las Heras B, Hoult J. Fixed oil of Nigella sativa and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. Planta Med 1995; 61(1): 33-6.

25. Agarwal R, Kharya M, Shrivastava R. Antimicrobial & anthelmintic activities of the essential oil of Nigella sativa Linn. Indian J Exp Biol 1979; 17(11): 1264-5.

26. Salem ML, Hossain MS. Protective effect of black seed oil from Nigella sativa against murine cytomegalovirus infection. Int J Immunopharmacology 2000; 22(9): 729-40.

27. Mahmoud M, El-Abhar H, Saleh S. The effect of Nigella sativa oil against the liver damage induced by Schistosoma mansoni infection in mice. J Ethnopharmacol 2002; 79(1): 1-11.

28. Aqel M, Shaheen R. Effects of the volatile oil of Nigella sativa seeds on the uterine smooth muscle of rat and guinea pig. J Ethnopharmacol 1996; 52(1): 23-6.

29. Boskabady MH, Shahabi M. Bronchodilatory and anticholinergic effects of Nigella sativa on isolated guinea pig tracheal chain. Iran J Med Sci 1997; 22(3-4): 127-33.

30. El-Dakhakhany M. Studies on the Egyptian Nigella sativa L: some pharmacological properties of its seed active principle in comparison to its dihidro-compound and its polymer. Arzneim Forsch Drug Res 1965; 15: 1227-9.

31. Ilhan A, Gurel A, Armutcu F, Kamisli S, Iraz M. Antiepileptogenic and antioxidant effects of Nigella sativa oil against pentylenetetrazol-induced kindling in mice. Neuropharmacol 2005; 49(4): 456-64.

32. Bamosa AO, Ali B, Sowayan S. Effect of Oral Ingestion Nigella Sativa Seeds on Some Blood Parameters. Saudi Pharm J 1997; 5: 126-9.

33. El Tahir KEH, Ashour M, Al-Harbi MM. The cardiovascular actions of the volatile oil of the black seed (Nigella sativa) in rats: elucidation of the mechanism of action. General Pharmacology: The Vascular System 1993; 24(5): 1123-31.

34. Zaoui A, Cherrah Y, Lacaille-Dubois M, Settaf A, Amarouch H, Hassar M. Diuretic and hypotensive effects of Nigella sativa in the spontaneously hypertensive rat. Therapie 2000; 55(3): 379-86.

35. Enomoto S, Asano R, Iwahori Y, Narui T, Okada Y, Singab ANB, et al. Hematological studies on black cumin oil from the seeds of Nigella sativa L. Biol Pharm Bull 2001; 24(3): 307-10.

36. Fereidouni E, Niazmand S, Harandizadeh F, Hosseini SM, Mahmoudabadi M. Vasorelaxant effect of hydroalcoholic extract of Teucrium polium on isolated rat aorta. J North Khorasan Univ Med Sci 2012; 4(1): 35-43.

37. Wellman GC, Nelson MT. Signaling between SR and plasma lemma in smooth muscle: sparks and the activation of Ca^{+2} sensitive ion channels. Cell Calcium 2003; 34(3): 211-229.

38. 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.

39. Imtiaz MS, Katnik CP, Smith DW, Van Helden DF. Biophysical Journal 2006; 90(1): 1-23.

40. Thorneloe KS, Nelson MT. Ion channels in smooth muscle: regulators of intracellular calcium

Archive of SID

SID.ir

and contractility. Canadian Journal of Physiology and pharmacology 2005; 83(3): 215-242.

41. Ko FN, Wu TS, Lu ST, Wu YC, Hung TF, Teng CM. Ca^{+2} channel blockade in rat thoracic aorta by protopine isolated from corydalis tubers. Pharmacol Japanese Journal of Pharmacology 1992; 58(1): 1-9.

42. Karaki H. Calcium regulation of smooth muscle contractility. Nihon Yakurigaku Zasshi 1990; 96(6): 289-299.

43. McCarron JG, Bradley KN, MacMillan D, Muir TC. Sarcolemma agonist induced interactions between IP3 and ryanodine receptors in Ca^{+2} oscillations and waves in smooth muscle. Biochem Soc Trans 2003; 31(pt5): 920-924.

44. Ratz PH, Berg KM. 2-Aminoethoxydiphenyl borate inhibits KCl induced vascular smooth muscle contraction. Eur J Pharmacol 2006; 541(3): 177-183.

45. Hilgers RH, Webb RC. Molecular aspects of arterial smooth muscle contraction: focus on Rho. Exp Biol Med (Maywood) 2005; 230(11): 829-835.

46. Chakravarty N. Inhibition of histamine release from mast cells by nigellone. Ann Allergy 1993; 70(3): 237-42.

Archive of SID

SID.ir

JCRPS Journal of Clinical Research in Paramedical Sciences, Vol 3, No 3, Autumn 2014 Original Article

The effect of calcium blocker activity on vasorelaxant of *Nigella sativa* extract on rat isolated aorta

Elahe Fereidouni* [1], Saeed Niazmand[2], Seyed Mojtaba Mousavi[3]

1. Department of Anesthesia, School of Paramedicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

2. Cardiovascular Research Center, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

3. Department of Physiology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

***Corresponding Author:**
Kermanshah, Kermanshah University of Medical Sciences, School of Paramedicine, Department of Anesthesia.

Email: efereidouni2009@yahoo.com

Abstract

Background: Nigella sativa (NS) is a plant that has been used as a natural remedy for number of illnesses such as headache, bronchitis, exema and influenza. NS has also been studied for its pharmacologic effects such as anti-diabetic, anti-inflammatory, anti-oxidant, anti-microbial and anti-cancer activities. There are some reports of cardiovascular effects of NS such as hypotensive and also negative inotropic effects. The aim of this study was to investigate the activity of calcium channels on vasorelaxant extract of NS on isolated rat aorta.

Methods: In this experimental study, 28 male Wistar rats randomly divided into 4 groups (n= 7). In groups 1 and 2 the effect of the extract (5, 10 and 20 mg/ml) on contracted aorta by PE, (10^{-6} M) in intact and denuded endothelium were investigated. In groups 3 the effect of the extract on contracted aorta by PE in the presence of Diltiazem (Dil), (10^{-5} M) and In group 4 the effect of the extract on contracted aorta by PE in the presence of Heparin (Hep), (50 mg/ml) were investigated. Statistical analysis was carried out by SPSS software version 13 and the results were analyzed by student t-test and ANOVA.

Results: The extract significantly relaxed the contracted aorta by PE in both intact and denuded endothelium in concentration dependent manner ($P<0.001$ ،$P=0.002$). All the extract concentrations significantly relaxed PE induced contraction in the presence of Dil and Hep ($P<0.001$, $P<0.01$).

Conclusion: The extract of NS have the relaxation effect on vascular smooth muscle. It seems, the relaxation was mediated by inhibition of voltage-and receptor-dependent Ca^{+2}channels and may partly by inhibition the release of calcium from intracellular stores in vascular smooth muscle cells.

Key words: Nigella sativa, Aorta, Endothelium, Calcium channels, Rat.

How to cite this article

Fereidouni E, Niazmand S, Mousavi SM. The effect of calcium blocker activity on vasorelaxant of *Nigella sativa* extract on rat isolated aorta. J Clin Res Paramed Sci 2014; 3(3):144-153.

SID.ir