Archive of SID

اثر ضد انقباضی عصاره آبی ـ الکلی برگ مو بر مجرای دفران جدا شده موش صحرایی

دکتر محمد کاظم غریب ناصری* ؛ گلاره وکیل زاده**

چکیده :

سابقه و هدف : *تاکنون گزارش‌هایی در باره اثر آنتی اکسیدانی، کاهش فشار خون و اثر اتساعی عروقی عصاره دانه انگور و پوست میوه آن ارائه شده است. تأثیرات شل‌کننده برگ انگور در انقباض ایلئوم، رحم و آئورت موش صحرایی و تأثیرات کاهنده نیروی انقباضی و ضربان قلب قورباغه نیز گزارش شده است؛ لذا در این تحقیق اثر عصاره آبی- الکلی برگ مو (Vitis vinifera) بر فعالیت انقباضی مجرای دفران موش صحرایی بررسی شد.*

مواد و روش‌ها : *مجرای دفران از موش‌های صحرایی بالغ نر (Sprague Dalwey) جدا گردید و درحمام بافت حاوی محلول تایرود (pH=۷/٤ و ۳۰°C) قرار داده‌شد و حباب‌های هوا به حمام دمیده می‌شد و انقباضات آن تحت ۱ گرم کشش اولیه به روش ایزومتریک اندازه‌گیری شد.*

یافته‌ها : *عصاره آبی- الکلی برگ مو(۱، ۲، ٤و۸ mg/ml) انقباض ناشی از کلرورپتاسیم(۸۰mM) را در مجرای دفران به‌صورت وابسته به غلظت کاهش داد (P< ۰/۰۰۰۱). انقباض ناشی از آدرنالین (۲μg/ml) نیز توسط عصاره(۱، ۲ و ٤ mg/ml) در این بافت به‌صورت وابسته به غلظت کاهش یافت (P< ۰/۰۰۰۱). در محلول تایرود فاقد کلسیم، انقباض نرمال ناشی از کلرورپتاسیم (۸۰mM) مشروط به اضافه‌کردن کلسیم (۱/۷۷mM) به محیط بود. در تکرار همین مرحله با حضور عصاره (۳mg/ml) انقباض ناشی از کلسیم کاهش یافت (P< ۰/۰۲). حضور پروپرانولول (۱μM به مدت ۵ دقیقه) و حضور L-NAME(۳۰۰μM) به مدت ۱۰ دقیقه) اثری بر عملکرد مهاری عصاره نداشت.*

بحث : *از اساس نتایج به‌دست آمده به نظر می‌رسد که اثر ضد انقباضی عصاره آبی- الکلی برگ مو بر مجرای دفران موش صحرایی عمدتاً ناشی از انسداد کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ بوده است و رسپتورهای بتا آدرنرژیک و NO در این عملکرد مهاری دخالتی ندارند. همچنین عملکرد مهاری عصاره نیازمند به حضور کلسیم در مایع خارج سلولی است.*

کلیدواژه‌ها: *برگ مو (Vitis vinifera)، مجرای دفران، موش صحرایی، کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ.*

« دریافت: ۱۳۸۳/٤/۱۷ پذیرش: بهار ۱۳۸٤»

* دانشیار گروه فیزیولوژی ، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز.

** دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز.

***عهده‌دار مکاتبات:** اهواز، دانشگاه علوم پزشکی اهواز، دانشکده پزشکی، صندوق پستی ۱۸۹، کد پستی ٦۱۳۳۵، تلفن: ۳۳۳۰۰۷٤-۰٦۱۱، نمابر: ۳۳۳۲۰۳٦-۰٦۱۱، پست الکترونیک : gharibnaseri_m@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه:

انگـور (Vitis vinifera) گیـاهی اسـت از خـانواده Vitaceae که منشأ آن‌را آسیای صغیر مـی‌داننـد(۱). برگ انگور در بعضی از کشورها از جمله ایـران بـه مقدار کم در رژیم غذایی (دلمه برگ مـو) مصـرف می‌شود. در کتب گیاهان دارویی در مـورد تـأثیرات ضداسهال، ضد استفراغ و ضد واریس برگ مو اشاره شده است (۲). از جمله ترکیبات مهم شناخته شـده در انگور، فلاوونوئیدها (ماننـد آنتوسـیانیدین‌هـا) از گروه پلی فنل‌ها می‌باشند(۱). عصـاره دانـه انگـور سبب کاهش غلظت لیپیدهای خـون خرگـوش‌هـای مبتلا به هیپرلیپیدیمیا شده است(۳). بـا وجـود ایـن، مصرف طولانی‌مدت این عصاره اثر سمی ندارد (٤). اخیراً نشان داده شده که پروسـیانیدین‌هـا(از انـواع دیگر پلی فنـل‌هـا) موجـود در دانـه انگـور سـبب شل‌شدن وابسته بـه انـدوتلیال در شـریان جداشـده انسان گردیده (۵) و گزارش شده است که این اثر از طریق NO و با افزایش cGMP انجام شده (٦ و ۷) و احتمال داده شده است که پروسیانیدین‌ها از طریـق بازکردن کانال‌های پتاسیمی حسـاس بـه تتـرا اتیـل آمونیوم موجب این عمـل مـی‌شـوند (۷). تـأثیرات حفـاظتی پروسـیانیدین‌هـای دانـه انگـور در برابـر کاتاراکت (۸)، سرطان پستان و کولون (۹) و نیز اثر افزایش قـدرت آنتـی‌اکسـیدانی پلاسـما(۱۰) ذکـر شده‌اند. تأثیرات مهاری عصاره آبی- الکلی برگ مو در انقباضـات ایلئـوم ناشـی از کلـرورپتاسـیم و استیل‌کولین (۱۱) و انقباضات ناشی از اکسی‌توسین در رحم در موش صحرایی (۱۲) و اثـر مهـاری بـر نیروی انقباضی و ضربان قلب جداشده قورباغه (۱۳) نیز گزارش شده است، ولی اثر عصاره بر قلب ناشی از عملکرد کولینرژیکی عصاره نبوده است. با توجـه به تأثیرات ضد انقباضی عصاره برگ مو بـر آئـورت (١٤) و رحم جدا شده موش صحرایی و بـه منظـور افزایش اطلاعات اثرهای فارماکولوژیکی برگ مو، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیرات عصاره آبـی - الکلی برگ مو در یکی از عضـلات صـاف دسـتگاه جنسی موش صحرایی نر (مجـرای دفـران) طراحـی گردید.

مواد و روش‌ها :

● روش تهیه عصاره:

برگ‌های انگور در فروردین ماه پس از خشک‌کـردن در سایه، آسیاب شد و به‌صورت پودر ریـز درآمـد. پودر برگ به مدت ۷۲ سـاعت در الکـل ۷۰درصـد خیسانده شد (۱۵) و هر روز در چند نوبـت مخلـوط به‌هم زده شد. سپس، مخلوط از کاغذ صافی واتمـن شماره ۱ عبور داده و حلال عصـاره در دمـای اتـاق تبخیر شد. پودر عصاره تـا زمـان اسـتفاده در دمـای ٤°C نگه‌داری گردید. نسبت استخراج عصاره از پودر برگ مو ۱۹درصد بود.

● حیوانات و آماده سازی مجرای دفران:

موش‌هـای صـحرایی نـر از نـژاد Sprague Dalwey (۹/٦ ±۱۸۸/۹ گـرم) از اتـاق حیوانـات دانشـکده پزشـکی اهـواز تهیـه و در دمـای۲۰ تـا ۲٤درجـه سانتی‌گراد و سیکل روشنایی ـ تـاریکی ۱۲ سـاعته نگه‌داری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. موش‌ها با تزریـق کتـامین(ip، ۵۰ mg/kg) بیهـوش شدند، شکم باز شد و از مجـاری دفـران از سـمت

www.SID.ir

Archive of SID

پروستات، قطعاتی به‌طول حدود mm ۱۵ جدا شد و بلافاصله در محلول سرد و اکسیژنه تایرود بافت‌های پیوندی آن با دقت جدا گردید و فوراً به درون حمام بافت (۱۰ml) و بین دو قلاب ازجنس استیل زنگ‌نزن قرار داده شد که یکی به‌طور ثابت در ته حمام بافت قرار داشت و دیگری از طریق نخ به ترانسدیوسر ایزومتریک(UF1 Harvard Transducer) متصل بود. پاسخ انقباضی به‌وسیله دستگاه ثبات (Universal Harvard Osilloghraph) در روی کاغذ با سرعت ۰/۱ mm/s ثبت گردید. محلول تایرود حمام ۳۰°C و pH برابر ۷/٤ داشت و ترکیب آن (برحسب mM) به قرار زیر بود (۱٦): NaCl (۱۳٦)، KCl(۵/٦)، $CaCl_2$ (۱/۷۷)، NaH_2PO_4(۳/٦)، $NaHCO_3$ (۱۵) و گلوکز (۵/۵). جریان دایم حباب‌های کوچک هوا از ته حمام برقرار بود. میزان کشش اولیه ۱ گرم و مدت دوره سازگاری ۳۰ دقیقه بود (۱٦) که طی این مدت هر۱۰ دقیقه محلول حمام تعویض می‌گردید. در این تجربه از دمای ۳۰ °C استفاده شد؛ زیرا در دمای کمتر از ۳۷°C انقباضات خودبه‌خودی مجرای دفران کاهش می‌یابد(۱۷) و لذا تأثیرات منقبض‌کننده با انقباضات خودبه‌خودی آن مخلوط نمی‌شود.

● روش کار:

ابتدا، طی دو مرحله جداگانه پاسخ انقباضی مجرای دفران به کلرورپتاسیم ثبت شد تا از تکرارپذیربودن پاسخ انقباضی بافت اطمینان حاصل شود. پس از سه بار تعویض محلول حمام با تایرود تازه و حداقل ۱۰ دقیقه استراحت و یا برگشت تون بافت به حالت پایه، غلظت نهایی ۱mg/ml عصاره به مدت ۳ دقیقه در حمام ایجاد شد و سپس کلرورپتاسیم با غلظت قبلی اضافه شد. در مراحل بعد نیز به همین ترتیب از غلظت‌های بیشتر عصاره(۲، ٤ و ۸میلی‌گرم در میلی‌لیتر) استفاده شد. قبل از استفاده از هر غلظت عصاره، یک مرحله کنترل با کلرورپتاسیم به تنهایی استفاده شد تا قابلیت انقباضی بافت ارزیابی شود. تفاوت بین پاسخ‌های انقباضی به کلرورپتاسیم در غیاب و در حضور عصاره به‌عنوان میزان مهار انقباض توسط عصاره تعیین گردید. در آزمایش‌های دیگر، برای انقباض مجران دفران از آدرنالین (µg/ml ۲) استفاده شد و غلظت‌های مختلف عصاره (۱، ۲ و ٤ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در حالتی که انقباض ناشی از آدرنالین به مرحله کفه رسیده به حمام بافت اضافه شد. جهت بررسی نقش نیتریک اکساید (NO) بر عملکرد عصاره ، ابتدا شلی ناشی از غلظت۳ mg/ml عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم (۸۰ mM) ثبت گردید و همین مراحل پس از ۱۰ دقیقه حضور مهارکننده نیتریک اکساید سنتاز (L-NAME) با غلظت µM ۳۰۰ (۱۸) تکرار شد. به منظور بررسی خاصیت آدرنرژیکی عصاره، ابتدا اثر غلظت mg/ml ۳ عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم ثبت شد و پس از شستشو و استراحت بافت، در حضور پروپرانولول (µM ۳ به مدت ۵ دقیقه) مشابه مرحله قبل، از کلرورپتاسیم و عصاره استفاده شد. در پایان آزمایش‌ها، مجرای دفران پس از جذب آب اضافی به دقت توزین می‌شد. بعد از به‌کاربردن هر غلظت عصاره و ثبت نتایج آن، محلول حمام بافت سه بار تعویض می‌گردید و حداقل ۱۰ تا ۱۵ دقیقه به بافت فرصت داده می‌شد. در هرصورت شروع مرحله بعدی

www.SID.ir

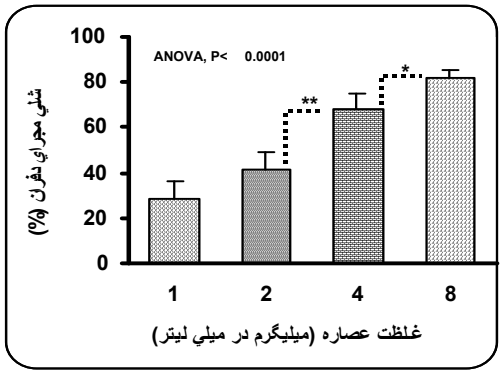
Archive of SID

مشروط به بازگشت تون اولیه بافت بود. در هر گروه، نیروی انقباضی (گرم به ازای ۱۰۰mgبافت) و یا درصد تغییرات نیروی انقباضی به‌صورت mean ± SEM محاسبه شدند. برای محاسبه تغییرات نیروی انقباضی بافت، ارتفاع حداکثر انقباض ناشی از محرک به‌تنهایی با حداکثر ارتفاع انقباض ناشی از محرک در حضور عصاره به‌صورت درصد تغییرات بیان گردید. به منظور مقایسه آماری اثر غلظت‌های مختلف عصاره از آزمون ANOVA یک‌طرفه و برای مقایسه دو میانگین از آزمون آماری تی استفاده شد و چنانچه مقادیر P کوچک‌تر از ۰/۰۵ بود، تفاوت قابل‌ملاحظه تلقی گردید. کلیه نمک‌ها محصول شرکت مرک (آلمان) بود. پروپرانولول و L-NAME از شرکت سیگما (امریکا) و آدرنالین از شرکت داروپخش تهیه شدند. حلال عصاره و کلیه مواد، محلول تایرود بود.

یافته‌ها :

● اثر عصاره بر انقباض مجرای دفران ناشی از کلرورپتاسیم:

کلرورپتاسیم با غلظت mM ۸۰ (۱۹) سبب انقباض مجرای دفران گردید و سه دقیقه حضور اولیه عصاره برگ مو (۱، ۲، ٤و۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به‌صورت وابسته به غلظت، انقباض ناشی از کلرورپتاسیم را کاهش داد (تعداد = ۷ و۰/۰۰۰۱ >P). درنمودار۱ نتایج این مرحله از تحقیق و در نمودار ٦A نمونه‌ای از ثبت حقیقی تأثیر بعضی از غلظت‌های عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم در مجرای دفران مشاهده می‌شوند. فاصله زمانی بین تکرار پروتکل‌ها حداقل ۱۰ دقیقه بود. مقایسه نیروی انقباضی (برحسب گرم به ازای ۱۰۰ میلی‌گرم بافت) ناشی از چهار بار استفاده از کلرورپتاسیم قبل از به‌کاربردن غلظت‌های مختلف عصاره (به ترتیب ۸/۷۱±۱/۵ ، ۸/۹۲±۱/۵۸ ، ۹/۲۳±۱/٦ و ۸/۷٦±۱/۸) نشان داد که این انقباضات اختلاف معناداری باهم ندارند (مقدار P بین ۰/٤۱ تا ۰/٤۹)؛ بنابراین می‌توان گفت که اثر مهاری عصاره، برگشت‌پذیر می‌باشد و لذا با شستشو و تعویض محلول حمام بافت این اثر مهاری برطرف می‌گردید. همچنین، تأثیرات مهاری مشاهده‌شده نتیجه خستگی بافت ناشی از انقباضات مکرر بافت نبوده است. در نمودار ۱ مقایسه آماری (t-test) بین اثر غلظت‌های مختلف عصاره نشان داده شده است.



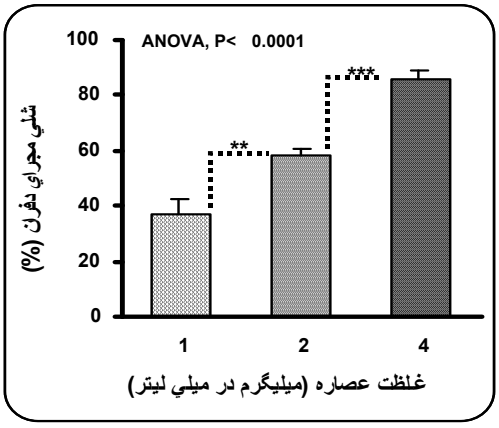
نمودار ۱- مقایسه درصد اثر مهاری غلظت‌های مختلف عصاره آبی- الکلی برگ مو بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم در مجرای دفران موش صحرایی (n = ۷). رابطه بین غلظت و پاسخ مهاری عصاره (ANOVA یک‌طرفه) با مقدار P کمتر از ۰/۰۰۰۱ معنادار می‌باشد. مقایسه آماری (t-test) اثر غلظت‌های ۲ و ٤میلی‌گرم در میلی‌لیتر با P کمتر از ۰/۰۱ (**) و غلظت‌های ٤ و ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر با P کمتر از ۰/۰۵ (*) اختلاف معنادار را نشان می‌دهند.

www.SID.ir

Archive of SID

● اثر عصاره بر انقباض مجرای دفران ناشی از آدرنالین:

ابتدا طی دو مرحله جداگانه، از تکرار پذیربودن پاسخ انقباضی مجرای دفران به آدرنالین (۲ µg/ml) اطمینان حاصل شد. پس ازتعویض محلول حمام و برگشت تون اولیه بافت، آدرنالین با غلظت ۲ µg/ml (۲۰) در حمام بافت ایجاد شد که موجب انقباض مجرای دفران گردید. در حالت کفه انقباض، طی مراحل جداگانه (غیرتجمعی) عصاره با غلظت‌های مختلف(۱، ۲ و ٤میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به حمام بافت اضافه‌شد که به‌صورت وابسته به غلظت سبب کاهش انقباض‌ناشی‌از آدرنالین‌گردید(تعداد=۷ و P<۰/۰۰۰۱). در نمودار۲ نتایج این مرحله و نیز



نمودار ۲- مقایسه درصد اثر مهاری غلظت‌های مختلف عصاره آبی- الکلی برگ مو بر انقباض ناشی از آدرنالین در مجرای دفران موش صحرایی (n = ۷). رابطه بین غلظت و پاسخ مهاری عصاره (ANOVA یک‌طرفه) با مقدار P کمتر از ۰/۰۰۰۱ معنادار می‌باشد. مقایسه آماری (t-test) اثر غلظت‌های ۱ و۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (P<۰/۰۱ **) و غلظت‌های ٤ و ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (P<۰/۰۰۰۱ ***) اختلاف معنادار را نشان می‌دهند.

مقایسه آماری اثر غلظت‌های مختلف نشان داده شده است و نمودار٦B، نمونه ثبت حقیقی از تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره را دراین مرحله نشان می‌دهد.

● اثر حذف کلسیم بر تأثیر انقباضی کلرورپتاسیم و عملکرد مهاری عصاره:

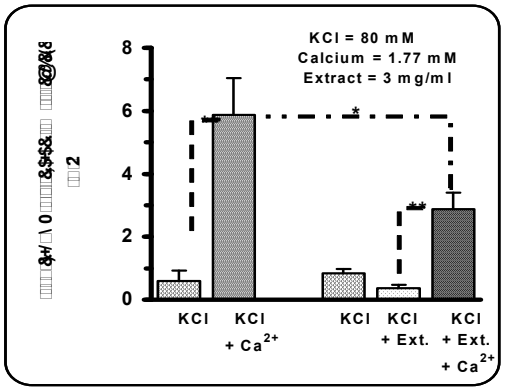
اضافه‌کردن کلرورپتاسیم (۸۰mM) به حمام بافت حاوی محلول تایرود فاقد کلسیم سبب انقباض ضعیفی در مجرای دفران گردید، ولی اضافه‌کردن کلرورکلسیم با غلظت نرمال در محلول تایرود (۱/۷۷mM) سبب انقباض قوی بافت گردید (تعداد =۸ و P<۰/۰۰۱). در تکرار این مرحله، قبل از افزودن کلرورکلسیم از غلظت نهایی ۳mg/ml عصاره به مدت ۳ دقیقه استفاده شد. اضافه‌کردن کلرورکلسیم در این مرحله اگرچه سبب انقباض مجرای دفران گردید (P<۰/۰۰۱)، ولی این پاسخ کمتر از پاسخ انقباضی بافت بدون حضور عصاره بود (P<۰/۰۲). در نمودار ۳ نتایج این مرحله و در نمودار ٦ C نمونه ثبت حقیقی این مرحله نشان داده شده است.

● تأثیر مهار سنتز اکسید نیتریک بر شلی ناشی از عصاره:

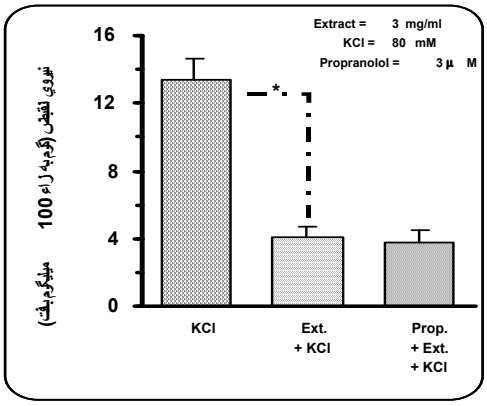
به منظور تعیین دخالت NO بر عملکرد مهاری عصاره، ابتدا مجرای دفران به‌وسیله کلرورپتاسیم (۸۰ mM) منقبض گردید و سپس عصاره (۳ mg/ml) به حمام اضافه شد وشلی ناشی از عصاره ثبت گردید. در مرحله بعد ابتدا L-NAME با غلظت ۳۰۰ µM (۱۸) به حمام اضافه شد و پس از ۱۰ دقیقه کلرورپتاسیم و عصاره با همان غلظت قبلی اضافه گردید. همان‌طوری‌که در نمودار ٤ و ثبت

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۳- اثر حضور عصاره آبی - الکلی برگ مو بر عملکرد انقباضی کلسیم (۱/۷۷ mM) پس از دپولاریزاسیون ناشی از کلرورپتاسیم (n = ۷). اضافه‌کردن کلسیم بدون حضور عصاره موجب انقباض قابل‌توجهی گردیده، ولی در حضور عصاره انقباض ناشی از کلرورپتاسیم کاهش قابل‌ملاحظه یافته است. مقایسه آماری (t-test) در نمودار نشان داده شده‌اند: P< ۰/۰۲ * و P<۰/۰۰۱ **.

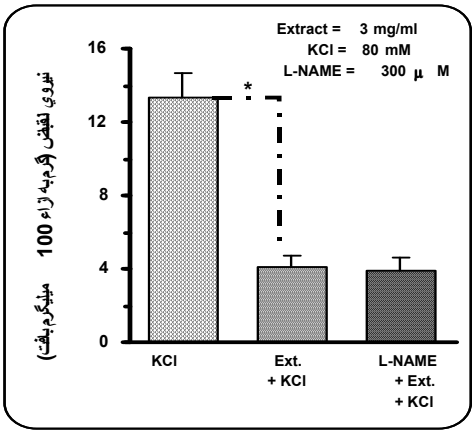


نمودار ۴- اثر مهاری عصاره آبی- الکلی برگ مو بر نیروی انقباضی ناشی از کلرورپتاسیم در غیاب و در حضور پروپرانولول (n = ۸) در مجرای دفران موش صحرایی. مشاهده می‌شود که پروپرانولول تأثیری در عملکرد مهاری عصاره نداشته است. مقایسه آماری (t-test) بین اثر کلرورپتاسیم در غیاب و در حضور عصاره معنادار می‌باشد (* P<۰/۰۰۱).

حقیقی D ٦ مشاهده می‌شود، حضور L-NAME تأثیری در پاسخ انقباضی مجرای دفران و عملکرد مهاری عصاره نداشته است (تعداد=۷).

● تأثیر مهار رسپتورهای بتا آدرنرژیک در عملکرد مهاری عصاره:

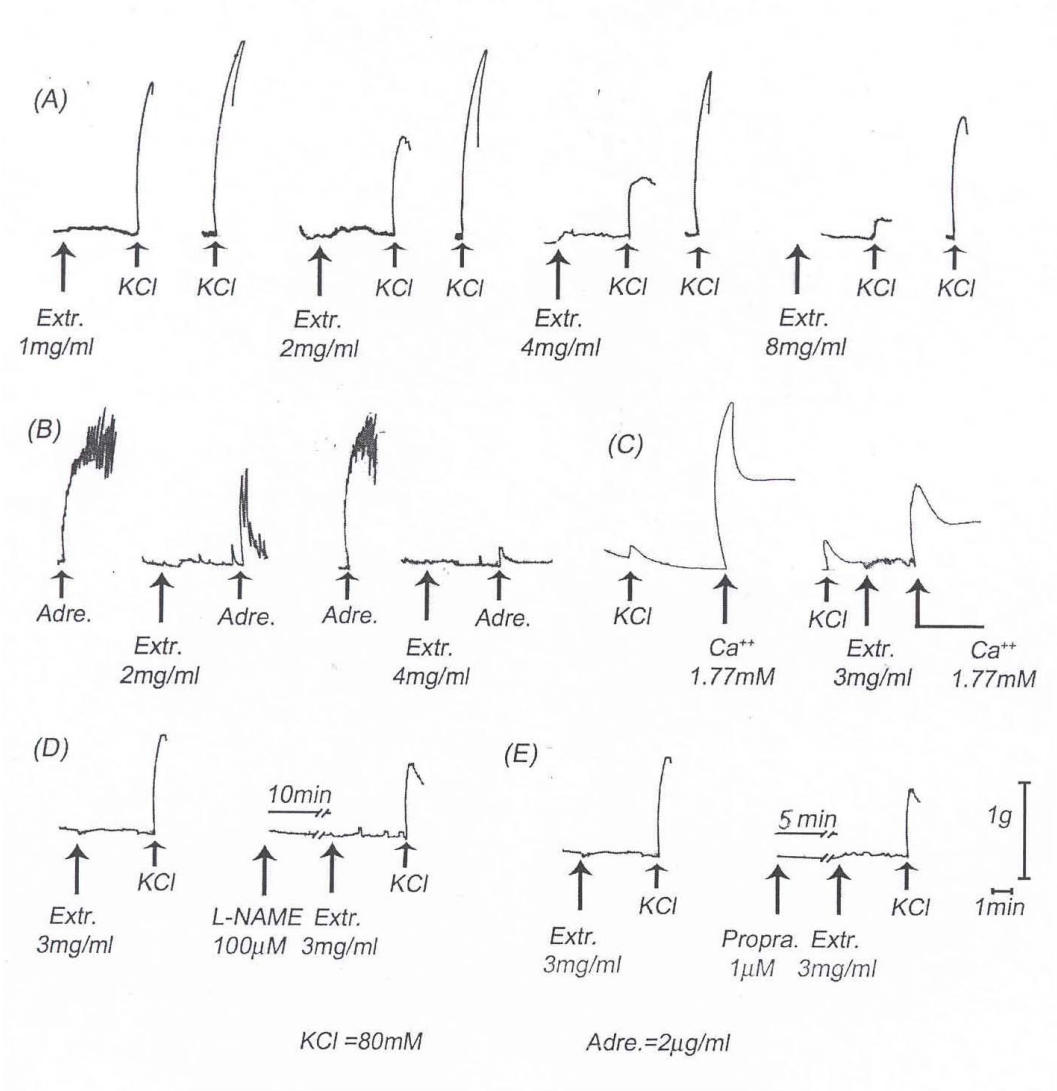
بلوکرهای آدرنرژیک سبب شلی مجرای دفران می‌گردند، لذا به منظور بررسی وجود خاصیت آنتاگونیستی عصاره، پس از ثبت اثر انقباضی ناشی از کلرورپتاسیم (۸۰ mM) و شلی ناشی از غلظت ۳ mg/ml عصاره و شستشو و استراحت بافت ، ابتدا در حمام بافت غلظت ۳ µM پروپرانولول (به مدت ۵ دقیقه) ایجاد و مجدداً مرحله قبل تکرار شد (۲۱). نمودار ۵ و نمونه ثبت حقیقی E ٦ نشان می‌دهند که



نمودار ۵- اثر مهاری عصاره آبی- الکلی برگ مو برنیروی انقباضی ناشی از کلرورپتاسیم در غیاب و در حضور L-NAME (مهارکننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز) در مجرای دفران موش صحرایی (n = ۸). مقایسه آماری (t-test) بین اثر کلرورپتاسیم در غیاب و در حضور عصاره معنادار می‌باشد (*P<۰/۰۰۱)، ولی حضور L-NAME تأثیری در عملکرد مهاری عصاره نداشته است.

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۶- نمونه‌های ثبت حقیقی از مراحل مختلف این تحقیق از (A) تا (E) نشان داده شده‌اند.

حضور پروپرانولول (آنتاگونیست بتا- آدرنوسپتور) تأثیری در انقباض ناشی از کلرورپتاسیم و عملکرد مهاری عصاره ندارد (تعداد =۷).

بحث :

در تجربه حاضر، عصاره آبی- الکلی برگ مو انقباض ناشی از کلرورپتاسیم و آدرنالین را در مجرای دفران جداشده موش صحرایی به‌صورت وابسته به غلظت کاهش داد. نقش افزایش پتاسیم خارج سلولی در بروز دپولاریزاسیون سلول‌های عضلانی صاف و بازکردن کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ مشخص گردیده است (۲۲ و ۲۳) و موادی که بتوانند انقباض ناشی از کلرورپتاسیم را مهار کنند، به‌عنوان مسدودکننده کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ معرفی می‌گردند(۲٤). همچنین وجود کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ نوع L درمجرای دفران موش

www.SID.ir

Archive of SID

صحرایی گزارش شده است (۱۶ و ۲۳). اگرچه بخش‌های اپیدیدیمال، میانی و پروستاتیک مجرای دفران تا حدودی در انجام انقباض با هم مختلفند، ولی در این سه بخش، مکانیسم انقباض به TTX حساس نبوده و انقباضات آن‌ها با افزایش کلسیم درون سلولی همراه است (۲۵). با وجود این تشابه، در تجربه حاضر فقط از بخش پروستاتیک مجرای دفران استفاده شد. بنا به یک گزارش، انقباض ناشی از کلرورپتاسیم و نورآدرنالین با افزایش cGMP درون سلولی انجام می‌شود (۲۶). از طرف دیگر آدرنالین به عنوان آگونیست غیرانتخابی رسپتورهای آدرنرژیک بوده (۲۷)، ولی بر رسپتورهای β2 اثر بیشتری دارد (۲۸). گزارش شده است که تحریک رسپتورهای آدرنرژیک با افزایش رهایش کلسیم از منابع درون سلولی و افزایش اینوزیتول تری فسفات سبب انقباض مجرای دفران در موش صحرایی می‌گردد (۲۹)؛ لذا به نظر می‌رسد عصاره برگ مو به طریقی از رهایش کلسیم از منابع درون سلولی جلوگیری کرده باشد. از طرف دیگر، نتایج حاصل از تأثیر عصاره در انقباض ناشی از کلرورپتاسیم و در قسمت محلول تایرود فاقد کلسیم نیز کاهش عملکرد کلسیم اضافه شده، احتمال عملکرد عصاره را از طریق انسداد کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ مطرح می‌سازد. این نتایج با گزارش اثر مهاری همین عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم و استیل‌کولین در ایلئوم (۱۱) و انقباض کلرورپتاسیم و اکسی‌توسین در رحم (۱۲) موش صحرایی سازگاری دارد، اما در نمودار ۳ دیده می‌شود که حضور عصاره نتوانسته است مانع از انقباض ناشی از اضافه‌نمودن کلسیم گردد که البته مشابه عملکرد تقریبی غلظت ۳mg/ml بوده و انقباض ناشی از حضور توأم کلسیم و کلرور پتاسیم را حدود ۵۰درصد کاهش داده است. گزارش شده است که همین عصاره نیروی انقباضی و ضربان قلب پرفیوزشده قورباغه را نیز کاهش داده، ولی آتروپین به‌رغم کاهش اثر استیل‌کولین بر قلب قادر به کاهش عملکرد مهاری عصاره بر قلب نبوده است؛ لذا به نظر نمی‌رسد که عصاره حاوی مواد آنتی‌کولینرژیک باشد (۱۳). از سوی دیگر، عصاره برگ مو اثر تحریکی آدرنالین بر قلب پرفیوزشده قورباغه را کاهش داده (۱۳) که خاصیت آنتاگونیستی آدرنرژیک در عصاره را پیشنهاد می‌کند، ولی با توجه به اینکه آگونیست‌های بتاـ آدرنوسپتور سبب شلی مجرای دفران شده (۳۰) و در تجربه حاضر پروپرانولول (آنتاگونیست غیرانتخابی بتا رسپتور) تأثیری در عملکرد مهاری عصاره نداشته، لذا می‌توان نتیجه گرفت که بتا آدرنوسپتورها در عملکرد مهاری عصاره دخالتی ندارند. انقباض ضعیف ناشی از آدرنالین در تایرود بدون کلسیم مشابه گزارش ارائه‌شده در مورد انقباض ناشی از نورآدرنالین در کربس بدون کلسیم می‌باشد (۳۱). بنا به این گزارش، ظاهراً نورآدرنالین از طریق فعال‌کردن پروتئین‌کیناز C موجب رهایش کلسیم از منابع کلسیم داخل سلولی شده و لذا ممکن است همین مکانیسم نیز در مورد اثر مشاهده‌شده صادق باشد، اما حتی در این حالت نیز تصور نمی‌شود که عصاره مستقیماً و در درون عضله صاف تأثیر کرده باشد؛ زیرا در بخش نتایج اشاره شد که اثر مهاری عصاره با تعویض محلول حمام برطرف

www.SID.ir

Archive of SID

می‌شد. گزارش شده است که عصاره آبی- الکلی برگ مو انقباض ناشی از فنیل افرین و کلرورپتاسیم را در آئورت موش صحرایی کاهش داده (١٤) و این اثر توسط L-NAME کاهش یافته است؛ لذا افزایش رهایش NO ناشی از عملکرد فلاوونوئیدهای برگ مو(۳۲) را موجب این اثر مهاری می‌دانند در تجربه حاضر، عدم تأثیر L-NAME نشان‌دهنده عدم دخالت NO در عملکرد ضدانقباضی عصاره در مورد عضله صاف مجرای دفران می‌باشد؛ لذا به نظر می‌رسد که مسیر اصلی عملکرد مهاری عصاره حاضر احتمالاً، انسداد کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ بوده و بخش دیگری از عملکرد عصاره نتیجه جلوگیری از رهایش کلسیم از منابع درون سلولی باشد. پاسخ‌های سریع مهاری، حذف تأثیر مهاری عصاره با خارج‌کردن آن از حمام بافت و برگشت تحریک‌پذیری بافت به کلرورپتاسیم و آدرنالین نشان می‌دهد که عملکرد عصاره احتمالاً از سطح خارج غشای سلول‌ها بوده است. در عین حال، عدم دخالت نیتریک اکساید و نیز رسپتورهای بتا - آدرنرژیک روشن گردید. برای روشن‌ترشدن مکانیسم اثر می‌توان پیشنهاد نمود که از آنتاگونیست‌های دیگر استفاده گردد و نیز با روش‌های ویژه مواد مؤثره این عصاره استخراج و تأثیر آن‌ها در عضله صاف دفران بررسی گردد. اگرچه نتایج حاصل از این تحقیق مؤثربودن عصاره برگ مو را بر اسپاسم مجرای دفران نشان داد، ولی تأثیر این عصاره در عملکرد فیزیولوژیک مجرای دفران در انتقال اسپرم و مؤثربودن آن بر فعالیت جنسی موش نر قابل بررسی می‌باشد.

تشکر و قدردانی :

هزینه اجرای این پژوهش از سوی حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تأمین گردیده است و لذا، نویسندگان از مسئولان ذیربط صمیمانه تشکر می‌نمایند.

References:

1. Bombardelli E, Morazzoni P. Vitis Vinifera L. Fitoterapia 1995; 66(4): 291-317.

۲- زرگری ع. گیاهان دارویی. جلد اول، انتشارات دانشگاه تهران، سال ۱۳۷۱، صفحات ۳٦٥-۳٦۲.

3. Yu H, Zhao X, XU G, Wang SE. Effect of grape seed extracts on blood lipids in rabbits model with hyperlipidemia. Wei Sheng Yan Jiu 2002; 31(2): 114-116.

4. Rays S, Bagchi D, Lim PM, Bagchi M, Gross SM, Kothari SC, et al. Acute and long-term safety evaluation of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract. Res Commun Mol Pathol Pharmacol 2001; 109(3-4): 165-197.

5. Aldini G, Carini M, Piccoli A, Rossoni G, Maffei Facino R. Procyanidins from grape seeds protect endothelial cells from peroxynitrite damage and enhance endothelium-dependent relaxation in human artery: new evidences for cardio-protection. Life Sci 2003; 73(22): 2883-2898.

www.SID.ir

Archive of SID

6. Fitzpatrick DF, Bing B, Maggi DA, Fleming RC, O'Malley RM. Vasodilating procyanidins derived from grape seed. Ann N Y Acad Sci 2002; 957: 78-89.

7. Kim SH, Kang KW, Kim KW, Kim ND. Procyanidins in crataegus extract evoke endothelium-dependent vasorelaxation in rat aorta. Life Sci 2000; 67(2): 121-131.

8. Yamakoshi J, Saito M, Kataoka S, Tokutake S. Procyanidin-rich extract from grape seeds prevents cataract formation in hereditary cataractous (ICR/f) rats. J Agric Food Chem 2002; 50(17): 4983-4988.

9. Singletary KW, Meline B. Effect of grape seed proanthocyanidins on colon aberrant crypts and breast tumors in a rat dual-organ tumor model. Nutr Cancer 2001; 39(2): 252-258.

10. Koga T, Moro K, Nakamori K, Yamakoshi J, Hosoyama H, Kataoka S, Arigo T. Increase of antioxidative potential of rat plasma by oral administration of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. J Agric Food Chem 1999; 47(5): 1892-1897.

۱۱- غریب ناصری م ک،نجفی اردکانی ذلیخا ، اعتمادنـدا ، اثـر عصـاره آبـی الکلـی بـرگ مـو Vitis vinifera **برفعالیت مکانیکی ایلئوم موش صحرایی.**
مجله علمی پژوهشی شهید صدوقی یزد سال ۱۲ دوازدهم شماره ۳ پائیز ۱۳۸۳ صفحات ٤١-٣٥.

۱۲- غریب ناصری م ک و احسانی پ. اثر عصاره آبی الکلی برگ مو (Vitis vinifera L.) **بر رحم جداشده موش صحرایی باکره. مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی، جلد ۷، شماره ۲، ۱۳۸۲، صفحات ۱۰۷-۱۱٤.**

۱۳- غریب ناصری م ک. اثر عصاره آبی الکلی برگ مو Vitis vinifera **بر قلب پرفیوزشده قورباغه. مجله طبیـب شرق، سال پنجم، شماره ٤، ۱۳۸۲، صفحات ۲۲۷-۲۳۵.**

١٤ ـ غریب ناصری م ک، نوید حمیدی م و حیدری ا اثر شل‌کننده عروقی عصاره برگ مو بر آئورت جداشـده موش صحرایی. فصلنامه گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، سال سوم، شماره نهـم، زمستان ۱۳۸۲، صفحات ٤٣-٥٤.

۱۵- صمصام شریعت ه. عصاره‌گیری مواد مؤثره گیاهـان دارویـی و روش‌هـای شناسـایی و ارزشـیابی آن‌هـا. انتشارات مانی، اصفهان ۱۳۷۱، صفحات ۱۳-۱۷.

16. Quintas LEM, Lafayette SSL, Caricati-Neto A, Jurkiewicz A, Noel F. Role of noradrenaline on the expression of the Na^+/K^+-ATPase α_2 isoform and the contractility of cultured rat vas deferens. Biochemical Pharmacology 2002; 64: 1431-1437.

www.SID.ir

Archive of SID

17. Compos M, Lucena Morais P, Pupo AS. Effect of castration and of testosterone relacement on α_1-adrenoceptors subtypes in the rat vas deferens. European Journal of Pharmacology 2003; 471: 149-155.

18. Capasso R, Mascolo N. Inhibitory effect of the plant flavonoid galangin on rat vas deferens in vitro. Life Sciences 2003; 72: 2993-3001.

19. Ribeiro RA, Garcez do Carmo L, Vladimirova I, Jurkiewicz NH, Jurkiewicz A. Nantenine blocks muscle contraction and Ca^{2+} transient induced by noradrenaline and K^+ in rat vas deferens. European Journal of Pharmacology 2003; 470: 37-43.

20. Basle R, Stuttgart H, Hugstetten H. Experiments on isolated smooth muscle preparations. English edition prepared by Burnden, HSE Biological measuring techniques 111/78, Linton instrumentation, Essex UK, 1980, 131.

21. Huang Y. BaCl2- and 4 – aminopyridine – evoked phasic contractions in the rat vas deferens. Br JPharmacol 1995; 115(5): 845-851.

22. Castillo CJ, Lafayette S, Caricati-Neto A, Sette M, Jurkiewicz NH, Gracia AG, et al. Low dihydropyridine receptor density in vasa deferentia of castrated rats. Br J Pharmacol 1992; 105(2): 257-258.

23. Burgos RA, Imilan M, Sanchez NS, Hancke JL. Andrographis paniculata (Nees) selectively blocks voltage-operated calcium channels in rat vas deferens. Journal of Ethnopharmacology 2000; 71:115-121.

24. Wang GJ, Wu XW, Lin YL, Ren J, Shum AYC, Wu YY, et al. Ca^{2+} channel blocking effect of iso-S-petasin in rat aortic smooth muscle cells. Eur J Pharmacol 2002; 445: 239-245.

25. Kato K, Tsutsui I, Furuya K, Ozaki T, Yamagishi S. Regional differences in the contractile and intracellular Ca^{2+} responses of the guinea-pig vas deferens to neurotransmitters and excess K^+. Exp Physiol 1995; 80(5): 721-733.

26. Schults G, Hardman JG. Regulation of cyclic GMP levels in the ductus deferens of the rat. Adv Cyclic Nucleotide Res 1975; 5: 339-351.

27. Laurence DR, Bennett PN. Clinical pharmacology. 6th edition, Churchill Livingstone, , Singapore: Longman Singapore Publishers; 1990, p.481.

www.SID.ir

Archive of SID

28. Bray JJ, Cragg PA, Macknight ADC, Mills RG. Human physiology. 4th edition, USA: Blackwell Scince; 1999, p.101-102.

29. Khoyi MA, Dalziel HH, Zhang L, Bjur RA, Gerthoffer WT, Buxton IL, Westfall DP. $[Ca^{2+}]_i$-sensitive, IP3-independent Ca^{2+} influx in smooth muscle of rat vas deferens revealed by procaine. Br J Pharmacol 1993; 110(4): 1353-1358.

30. Diaz-Toledo A, Jurkiewicz A. Different mechanisms of action of agents acting on beta-adrenoceptors in barium-stimulated and electrically-stimulated rat vas deferens. Br J Pharmacol 1991; 104(1):277-283.

31. Haung Y, Pai RK, Lau CW, Chan FL, Chen ZY, Yao XQ. Modulatory effect of protein kinase C activator on contractility of rat vas deferens. Pharmacology 2001; 62(1): 2-9.

32. Diaz Lanza AM, Elias R, Maillard C, Faure R, de Sotto M, Balansard G. Flavonoids of 3 cultivars vine leaves, Vitis vinifera L. var.tinctoria (Alicante, Carignan, Garnd noir). Value in chemical control. Ann Pharm Fr 1989; 47(4): 229-234.

www.SID.ir