

بررسی اثر خوراکی گیاه والک بر فعالیت انقباضی آنورت ایزوله موش صحرایی دیابتی

دکتر مهرداد روغنی* - دکتر توراندخت بلوج نژاد مجرد** - دکتر کلثوم عگبی***

*دانشیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، مرکز تحقیقات گیاهان داروئی

**دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

***پژوهش عمومی

تاریخ دریافت مقاله: ۸۶/۳/۲۴

تاریخ پذیرش: ۸۶/۷/۲۴

چکیده

مقدمه: دیابت شیرین با افزایش رخداد بیماری‌های قلبی-عروقی و آترواسکلروز همراه می‌باشد. با توجه به وجود شواهدی مبنی بر اثر ضد دیابتی مواد موثره گیاه والک، اثر مصرف خوراکی این گیاه به مدت ۶ هفته بر پاسخگویی انقباضی آنورت ایزوله در مدل تجربی دیابت شیرین در موش صحرایی بررسی شد.

هدف: بررسی اثر خوراکی گیاه والک بر فعالیت انقباضی آنورت ایزوله موش صحرایی دیابتی.

مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی نر (۱۱) به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با والک، دیابتی، و دیابتی تحت درمان با والک تقسیم شدند. برای دیابتی نمودن حیوانات از داروی استریتوزوتسین به طور داخل صفاقی (۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم) استفاده شد. دو گروه تحت تیمار با والک غذای استاندارد موش مخلوط شده با پودر گیاه (٪/۶.۲۵) را به مدت ۶ هفته دریافت نمودند. پس از گذشت شش هفته پاسخ انقباضی حلقه‌های آنورت سینه‌ای به کلورپتاسیم و نور آدرنالین با استفاده از سطاخ بافت ایزوله برسی شد.

نتایج: میزان گلوكورت سرم در گروه دیابتی افزایش معنی داری را در هفته ششم در مقایسه با هفته قبل از آزمایش نشان داد ($p<0.001$) در حالی که گروه دیابتی تحت درمان با والک کاهش متواتر و معنی داری در مقایسه با گروه دیابتی نشان دادند ($p<0.001$). به علاوه پاسخ انقباضی در گروه دیابتی تحت درمان با والک به کلورپتاسیم ($p<0.05$) و نور آدرنالین ($p<0.01$) به طور معنی دار کمتر از گروه دیابتی درمان نشده بود. همچنین هیچ گونه تغییر معنی دار در پاسخ انقباضی به کلورپتاسیم و نور آدرنالین در گروه کنترل تحت تیمار در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد.

نتیجه گیری: مصرف خوراکی و درازمدت والک در مدل تجربی دیابت شیرین در کاهش دادن پاسخ انقباضی سیستم عروقی و احتمالاً در جلوگیری از بروز هیپرتانسیون در موش‌های صحرایی دیابتی موثر است.

کلید واژه‌ها: بیماری‌های آنورت / دیابت شیرین / گیاهان شفابخش / موش‌های صحرایی

مقدمه

می‌شود. هدف اصلی روش‌های درمانی دیابت شیرین، برقراری میزان طبیعی قند خون و جلوگیری یا به تعویق انداختن 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(۳).

گیاهان دارویی و مشتقهای آنها اگر چه از دیر باز در درمان دیابت شیرین و عوارض ناشی از آن مطرح بوده‌اند، ولی در مورد اثر بخشی قطعی بسیاری از آنها تاکنون شواهد تحقیقاتی و معنی وجود ندارد(۴). در

دیابت شیرین از نظر بالینی یکی از مهم‌ترین عوامل خطر برای برخی اختلالات دیگر نظیر نفropاتی، رتینوپاتی، نوروپاتی، بیماری‌های قلبی عروقی محسوب می‌شود که بر اساس پیش‌بینی به عمل آمده، شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش خواهد یافت(۱). کمبود یا کاهش نسبی میزان انسولین در این بیماری موجب عوارض متابولیکی حاد و مزمن می‌شود(۲). در بیماری دیابت شیرین عوامل مختلف مثل افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن به علت افزایش سطح گلوكز خون و تشدید پراکسیداسیون لپیدی موجب افزایش بروز آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی- عروقی

برای تهیه غذای خاص حاوی گیاه، پس از تهیه گیاه والک از بازار محلی و تأیید علمی بر اساس مشخصات ریخت شناسی، پودر به دست آمده از آسیاب نمودن با یک نسبت وزنی ۲۵/۶٪ با غذای پودر شده و استاندارد موش مخلوط و مجدداً غذای Pelleted در محل دانشکده پزشکی (دانشگاه شاهد) توسط دستگاه غذاساز تولید شد(۹). در این بررسی از موش‌های صحرایی نر استفاده شد که در شرایط طبیعی بدون برقراری حالت روزه‌داری(Non-fasting) میزان گلوکز سرم کمتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر داشتند(۱۰). در این خصوص از شبکه رترواوربیتال و لوله موئینه برای خون‌گیری استفاده شد. موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با والک، دیابتی، و دیابتی تحت تیمار با والک تقسیم شدند. تیمار با والک به مدت ۶ هفته ادامه یافت. برای دیابتی نمودن موش‌ها از داروی استرپتوزوتوسین(STZ) به صورت تک‌دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنژیمی گلوکز اکسیداز(زیست شیمی) قبل از تزریق استرپتوزوتوسین و در طی هفتاهای ۳ و ۶ پس از آغاز آزمایش صورت گرفت.

پس از گذشت ۶ هفته، موش‌ها با استفاده از اتر بیهوش شده، با باز کردن قفسه سینه آئورت سینه‌ای را جدا کرده و در داخل محلول کربس(که بطور مداوم بداخل آن گاز کربوژن حاوی ۵٪ دی‌اکسیدکربن و ۹۵٪ اکسیژن دمیده می‌شد) قرار داده شد. ترکیب شیمیایی محلول کربس مورد استفاده در تمام آزمایش‌ها به قرار زیر بود (بر حسب میلی مولار)(۱۱):

۱/۱۸; MgSO₄, ۵/۲; CaCl₂, ۴/۷۴; KCl, ۱۱۸/۵NaCl, ۱/۱۸; KH₂PO₄, ۲۴/۹; NaHCO₃, ۱۰٪ در داخل محلول کربس سرد، آئورت به دقت از بافت

این خصوص، مواد موثر گیاه والک دارای خاصیت محافظت کننده‌گی در برابر آسیب پوستی القا شده بر اثر عوامل آسیب رسان و نیز پائین آورنده کلسترول سرم است(۶-۷) و از طرف دیگر این گیاه دارای مقدار زیادی از سولفوکسیدهای سیستئینی و اسید آمینه‌های سولفوکسیدی است که خود دارای خاصیت ضددیابتی و آنتی‌اکسیدان هستند(۸-۹). از طرف دیگر این مواد قادر به کاهش تولید محصولات نهائی پراکسیداسیون لپیدی نظیر مالوندی‌آلدئید و هیدروپراکسید هستند(۸-۹) که خود نقش مهمی در بروز عوارض عروقی دیابت دارند. بعلاوه، معلوم شده که تجویز دراز مدت آنها موجب بهبود سطح تری‌گلیسیرید و کلسترول سرم می‌شود که می‌تواند در جلوگیری از بروز عوارض جدی دیابت نظیر مشکلات قلبی عروقی مؤثر باشد(۶). همچنین، مصرف آنها موجب بهبود وضعیت کبد از نظر متابولیسم چربی‌ها می‌شود(۶ و ۷). با توجه به نقش استرنس اکسیداتیو و تغییرات آنژیمی در بروز بدخی تغییرات بیوشیمیایی و بافتی نامطلوب ناشی از دیابت به ویژه نوع I (۱-۲)، در این تحقیق اثر تجویز خوراکی و دراز مدت والک در مدل تجربی دیابت شیرین القا شده بر اثر تزریق استرپتوزوتوسین به مدت ۶ هفته بر پاسخگویی آئورت سینه‌ای موش‌های صحرایی نر بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تحقیقاتی تجربی از ۳۲ راس موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۷۴±۱۳ گرم استفاده شد. تمام حیوان‌ها در دمای ۲۱±۲ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان‌ها آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) یا غذای مخلوط شده با پودر والک به نسبت ۶/۶٪ به مدت ۶ هفته دسترسی داشتند.

محاسبه سطح مقطع رگی (CSA)، از روش متداول توصیف شده توسط Abebe و همکاران (۱۹۹۰) استفاده شد (۱۱).

از نظر آماری، تمامی نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد (SEM) بیان شد. برای مقایسه نتایج هر متغیر در هر یک از گروه‌ها قبل و بعد از بررسی از آزمون student's paired t-test، repeated measure ANOVA و برای مقایسه گروه‌ها با هم در هر یک از دوره‌های Post-hoc test One-way ANOVA و زمانی از آزمون p<0.05 Tukey's استفاده شد. به علاوه سطح معنی دار برای تمامی تجزیه و تحلیل‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

تزریق استرپتوز و توسین موجب افزایش معنی دار گلوکز در هفت‌های ۳ و ۶ پس از بررسی نسبت به هفته قبل شد ($p<0.001$). به علاوه، در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با والک در هفت‌های ۳ و ۶ میزان گلوکز سرم در حد معنی دار ($p<0.001$ و $p<0.005$) نسبت به قبل از بررسی بالاتر بود. در این خصوص میزان گلوکز گروه دیابتی تحت درمان با والک به طور معنی دار کمتر از گروه دیابتی در همان هفته بود ($p<0.01$). به علاوه، گروه کنترل تحت تیمار تفاوت معنی دار را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد (جدول ۱).

پیوندی اطراف پاک شده، سپس به حلقه‌هایی به طول حدوداً ۴ میلیمتر تقسیم شد. برای حصول اطمینان از سلامت آندوتلیوم، پس از ایجاد انقباض با غلظت^{-۱} ۱۰ مولار نورآدرنالین، استیل کولین با غلظت^{-۵} ۱۰ مولار به حمام بافت اضافه می شد. مشاهده پاسخ شل شدگی بیشتر از ۳۰٪ در حلقه‌های آئورت به عنوان ملاک سالم بودن آندوتلیوم در نظر گرفته شد (۱۰). برای ثبت پاسخگویی حلقه‌های آئورتی، قطعات به کمک سیم‌های پلاتینینی L شکل که به موازات هم قرار می‌گرفتند از یک طرف به قلاب شیشه‌ای و از طرف دیگر به ترانس دیوسر ایزومتریک F-60 متصل شدند. در این بررسی کشش استراحتی (Resting tension) اعمال شده به حلقه‌های آئورتی ۲ گرم بود. پس از اعمال این کشش، ۶۰ تا ۹۰ دقیقه به بافت اجازه داده می 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 میلی مولار) و نورآدرنالین (۱۰^{-۸} تا ۱۰^{-۴} مولار) قرار گرفت. برای ثبت و آنالیز تجزیه و تحلیل داده‌ها نیز از نرم‌افزار Physiograph I (شرکت بهینه آرمان، تهران) استفاده شد. پاسخ انقباضی (دامنه پاسخ) در تمامی بررسی‌ها به صورت گرم با ازای واحد سطح آئورت (g/mm²) گزارش شد. برای

جدول ۱: اثر تجویز خوراکی والک بر میزان گلوکز سرم در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی

میزان گلوکز سرم (میلی گرم بر دسی لیتر)			گروه‌ها
هفته ۶	هفته ۳	هفته ۰ (قبل بررسی)	
۱۴۲/۳ ± ۷/۳	۱۳۷/۶ ± ۷/۱	۱۳۱/۷ ± ۶/۵	کنترل
۱۳۶/۳ ± ۷/۸	۱۱۹/۵ ± ۷/۶	۱۳۷/۸ ± ۵/۸	کنترل + والک
۴۸۷/۴ ± ۱۳/۶**	۴۹۶/۶ ± ۱۳/۲**	۱۱۷/۳ ± ۸/۳	دیابتی
۳۸۶/۶ ± ۱۵/۲*	۳۷۹/۶ ± ۱۴/۹*	۱۴۱/۶ ± ۸/۵	دیابتی + والک

* $P<0.005$ ** $P<0.001$ (در مقایسه با هفته قبل بررسی)

هفته برای کلیه گروه‌ها از یک الگوی وابسته به غلظت تبعیت نمود (نمودار ۱). حداقل پاسخ انقباضی برای

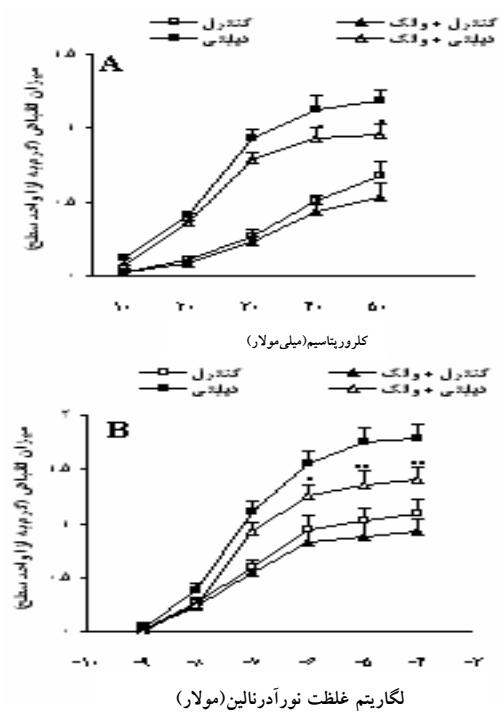
پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم و نورآدرنالین در مورد حلقه‌های آئورتی دارای آندوتلیوم پس از گذشت ۶

دارای اثر هیپوگلیسمی در حد متوسط و معنی دار بوده و درمان موش های دیابتی با این گیاه موجب کاهش معنی دار در حداکثر پاسخ انقباضی به آگونیست غیراختصاصی کلرورپتاسیم و آگونیست اختصاصی نورآدرنالین در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده، می شود.

مکانیسم های متفاوتی در ایجاد اختلال در ساختمان و عملکرد عروق خونی در دیابت شیرین دارند. در این ارتباط ظرفیت آندوتیلیوم عروق در سنتز گشاد کننده های عروقی مانند پروستاسایکلین و نیتریک اکسید کم شده و تنگ کننده های عروقی مانند آندوتلین به مقدار زیادی تولید می شوند. هر چند که در مورد نقش هیپرگلیسمی مزمن در بروز عوارض عروق بزرگ در حالت دیابت شیرین 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 می دانند(۱۲). مطالعات اخیر نشان داده است که در دیابت شیرین اختلال متابولیسم گلوکز و گلیکوزیلاسیون پروتئین ها نقش مهمی در ایجاد آتروسکلروز و افزایش نفوذ پذیری و اسکلروز عروق خونی دارند. به علاوه در بیماران دیابتی تولید رادیکال های آزاد از طریق اتو اکسیداسیون گلوکز افزایش می یابد(۱۳). نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که پاسخ انقباضی حلقه های آنورتی دارای آندوتیلیوم به نورآدرنالین و کلرورپتاسیم در موش های صحرایی نر دیابتی به طور معنی داری نسبت به حیوانات سالم افزایش یافته است که با نتایج مطالعه آبیب و همکاران مطابقت دارد(۱۱).

در خصوص آثار سودمند مصرف خوراکی و دراز مدت والک قبلاً مشخص شده است که مواد موثر گیاهان خانواده سیر از جمله والک دارای خاصیت محافظت کننده کی در برابر آسیب پوستی القا شده بر اثر

کلرور پتاسیم (غلظت ۵۰ میلی مولار) و نورآدرنالین (غلظت $^{*} ۱۰$ مولار) تفاوت معنی داری بین دو گروه کنترل و کنترل تحت تیمار با والک نشان نداد. از طرف دیگر، پاسخ انقباضی آنورت گروه دیابتی به کلرورپتاسیم و نورآدرنالین در هفته های پس از بررسی بیشتر از گروه کنترل بود($p < 0.01$). به علاوه، درمان موش های دیابتی با والک موجب کاهش معنی دار در حداکثر پاسخ انقباضی در مورد کلرور پتاسیم و نورآدرنالین در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده، شد بدین صورت که حداکثر پاسخ انقباضی برای کلرورپتاسیم در گروه دیابتی درمان شده($p < 0.05$) و برای نورآدرنالین در همین گروه($p < 0.01$) کمتر از گروه دیابتی درمان نشده بود.



نمودار ۱: پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم (A) و نورآدرنالین (B) را در گروه های مختلف پس از گذشت ۶ هفته نشان می دهد.

$P < 0.05$ ، $* P < 0.01$ ** (در مقایسه با گروه دیابتی)

بحث و نتیجه گیری

نتایج بررسی حاضر نشان داد که تجویز دراز مدت والک به موش های دیابتی شده توسط استرپتوز و توسین

سطح چربی‌های خون اعمال می‌نماید(۶). در ضمن این گیاهان به علت سطح بالای فلاونوئیدها دارای خاصیت کاهش‌دهنده‌گی استرس اکسیداتیو هستند و به همین علت قادر به کاهش دادن برخی اختلالات متابولیک و بافتی ناشی از بیماری‌های متابولیک هستند(۸). بنابراین بخشی از آثار سودمند این گیاه در تحقیق حاضر را می‌توان به کاهش دادن تغییرات بالا نسبت داد.

بطور خلاصه، نتایج این پژوهش نشان داد که تجویز خوراکی و درازمدت والک در مدل تجربی دیابت شیرین در موش صحرایی در کاهش دادن پاسخ انقباضی سیستم عروقی و احتمالاً در جلوگیری از بروز هیپرتانسیون در موش‌های صحرایی دیابتی موثر است. همچنین انجام تحقیقات وسیع‌تر برای مشخص نمودن مکانیسم اثر این گیاه در ارتباط با پاسخ انقباضی سیستم عروقی پیشنهاد می‌شود.

عوامل آسیب‌رسان و پائین آورنده کلسترول سرم در حیوانات نرمال است(۵ و ۶) و از طرف دیگر این گیاهان دارای مقدار زیادی از سولفوکسیدهای سیستئینی و اسید آمینه‌های سولفوکسیدی بوده که خود این مواد نیز دارای خاصیت ضد دیابتی و آنتی اکسیدانتی هستند(۶).

علاوه بر این عوامل آنتی اکسیدان با خاصیت کاهش‌دهنده‌گی پراکسیداسیون لیپیدی به مقدار بالا در گیاه والک یافت می‌شود(۷ و ۸). همچنین معلوم شده که تجویز دراز مدت این مواد وضعیت لیپیدی را در موجودات بهبود می‌بخشد که این خود در جلوگیری از بروز برخی عوارض جدی دیابت نظیر مشکلات قلبی عروقی می‌تواند مؤثر باشد(۶ و ۷). از طرف دیگر مصرف این گیاه، آثار حفاظتی بر بافت کبد اعمال نموده، از سیروز کبدی جلوگیری می‌نماید و تغییرات متابولیک مرتبط با آنزیم‌های کبدی در جهت اصلاح تغییرات نامطلوب

منابع

- Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes Mellitus. Complications and Therapeutics. *Med Sci Monit* 2006; 12: RA130-47.
- Wandell 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: 68-74
- Suji G, Sivakami S. Approaches to the Treatment of Diabetes Mellitus: An Overview. *Cell Mol Biol* 2003; 49: 635-9.
- Shapiro K, Gong WC. Natural Products Used For Diabetes. *J Am Pharm Assoc* 2002; 42: 217-226.
- Nguansangiam S, Angsubhakorn S, Bhamarapratvi S, et al. Effects of Elephant Garlic Volatile Oil (*Allium Ampeloprasum*) and T-2 Toxin on Murine Skin. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2003; 34: 899-905.
- Kumari K, Augusti KT. Antidiabetic And Antioxidant Effects Of S-Methyl Cysteine Sulfoxide Isolated From Onions (*Allium Cepa Linn*) As Compared To Standard Drugs In Alloxan Diabetic Rats. *Indian J Exp Biol* 2002; 40: 1005-9.
- Sheela CG, Kumud K, Augusti KT. Anti-Diabetic Effects Of Onion And Garlic Sulfoxide Amino Acids In Rats. *Planta Med* 1995; 61: 356-7.
- Fritsch RM, Keusgen M. Occurrence and Taxonomic Significance Of Cysteine Sulfoxides In The Genus Allium L. (*Alliaceae*). *Phytochemistry* 2006; 67: 1127-35.
- Swanson-Flatt SK, Day C, Bailey CJ, Flatt PR. Evaluation Of Traditional Plant Treatments For Diabetes: Studies In Streptozotocin Diabetic Mice. *Acta Dialectological Latina* 1989; 26: 51-5.
- Nitta A, Murai R, Suzuki N, et al. Diabetic Neuropathies in Brain Are Induced By Deficiency of BDNF. *Neurological Teratol* 2002; 24: 695-701.
- Abebe W, Harris KH, Macleod KM. Enhanced Contractile Responses of Arteries from Diabetic Rats to A1-Adrenoceptor Stimulation in the Absence and Presence of Extra cellular Calcium. *J Cardiovas Pharmacol* 1990; 16: 239-248.
- Mori S, Takemoto M, Yokote K, et al. Hyperglycemia-Induced Alteration Of Vascular Smooth Muscle Phenotype. *J Diabetes Complications* 2002; 16: 65-8.
- 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: 27-33.

Survey the Effect of Feeding of Allium Latifolium on Contractile Reactivity of Aorta of Diabetic Rats

Roghani M.(Ph.D.), Baluchnejadmojarad T.(Ph.D.), Ogbik.(MD)

Abstract

Introduction: Diabetes mellitus is accompanied with a higher incidence of cardiovascular disorders and atherosclerosis. With regard to antidiabetic potential of derivatives of Allium latifolium (AL), the effect of oral administration of this plant on the contractile reactivity of isolated aorta in diabetic rats was investigated during 6 weeks.

Objective: Survey the Effect of Feeding of Allium Latifolium on Contractile Reactivity of Aorta of Diabetic rats.

Materials and Methods: In this study male wistar rats ($n=32$) were randomly divided into 4 groups, i.e. control, AL-treated control, diabetic, and AL-treated diabetic groups. For induction of diabetes, streptozotocin (60 mg/kg; i.p.) was used. The treatment groups received oral administration of plant-mixed standard pelleted food (6.25%) for 6 weeks. After 6 weeks, contractile reactivity of aortic rings to KCl and nor adrenaline was determined by using isolated tissue setup.

Results: Serum glucose level in diabetic group increased during 6 weeks after the experiment as compared with one week before the study ($p<0.001$) AL treatment of diabetic rats showed a significant hypoglycemic effect ($p<0.01$). In addition, the latter group showed a lower contraction to KCl ($P<0.05$) and nor adrenaline ($P<0.01$) as compared with diabetic group. Meanwhile, there was no significant difference between control and AL-treated control groups regarding contractile reactivity.

Conclusion: use of Oral administration of AL for 6 weeks can attenuate the contractile responsiveness of the vascular system and this may prevent the development of hypertension in diabetic rats.

Key words: Aortic disorders/ Diabetes mellitus/ medicinal plants/ Rats

