کومش- جلد ۱۲، شماره ٤ (پیاپی ٤٠)، تابستان ۱۳۹۰

اثر وابسته به اندوتلیوم مصرف گیاه تاج خروس بر خواص انقباضی آئورت سینه‌ای موش صحرایی دیابتی

مهرداد روغنی [۱*](Ph.D)، توراندخت بلوچ‌نژاد مجرد [۲](Ph.D)، فرشاد روغنی دهکردی [۳](M.D)

۱- *دانشگاه شاهد، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی*

۲- *دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی*

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

چکیده

سابقه و هدف: بیماری دیابت قندی در دراز مدت با افزایش بروز بیماری‌های قلبی-عروقی همراه می‌باشد. شواهدی دال بر اثر ضد دیابتی و بهبود دهندگی عمل‌کرد عروقی در مورد تاج خروس وجود دارد. در این تحقیق، اثر مصرف خوراکی و وابسته به اندوتلیوم این گیاه به مدت ۸ هفته بر پاسخ انقباضی و شل شدگی آئورت سینه‌ای ایزوله در مدل تجربی دیابت در موش صحرائی نر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی به پنج گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با تاج خروس، دیابتی، دیابتی تحت درمان با تاج خروس و دیابتی تحت درمان با گلیبن کلامید تقسیم شدند. برای القاء دیابت نوع ۱، استرپتوزوسین با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (داخل صفاقی) تزریق شد. دو گروه تحت تیمار با گیاه نیز پودر این گیاه مخلوط شده با غذای استاندارد موش را با نسبت وزنی ۶/۲۵٪ دریافت نمودند. میزان وزن و گلوکز قبل کار و در هفته‌های ۴ و ۸ پس از کار تعیین شد. در پایان کار، پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم و فنیل‌افرین و شل‌شدگی به استیل کولین و سدیم نیتروپروسید با استفاده از بساط بافت ایزوله مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان گلوکز سرم در گروه دیابتی تحت تیمار به‌طور معنی‌دار کم‌تر از گروه دیابتی بود ($p<۰/۰۵$). به‌علاوه، حداکثر پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای دارای اندوتلیوم در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه به کلرور پتاسیم و فنیل‌افرین به ترتیب به‌طور غیر معنی‌دار و معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) کم‌تر از گروه دیابتی بود و با حذف اندوتلیوم این تفاوت معنی‌دار از بین رفت. به‌علاوه، پاسخ شل‌شدگی حلقه‌های آئورتی دارای اندوتلیوم به استیل‌کولین در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده بیش‌تر و معنی‌دار بود ($p<۰/۰۱$). هم‌چنین، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها از نظر پاسخ شل‌شدگی به سدیم نیتروپروسید مشاهده نگردید.

نتیجه‌گیری: مصرف خوراکی و دراز مدت گیاه تاج خروس از طریق اثرگذاری بر عوامل مرتبط با اندوتلیوم موجب کاهش پاسخ انقباضی و افزایش پاسخ شل‌شدگی در بافت آئورت موش صحرائی دیابتی می‌گردد که این در جلوگیری از عوارض عروقی دیابت در دراز مدت می‌تواند سودمند باشد.

واژه‌های کلیدی: تاج خروس، دیابت شیرین، اندوتلیوم، آئورت سینه ای، موش صحرایی

مقدمه

دیابت قندی از نظر بالینی یکی از مهم‌ترین عوامل خطر برای برخی عوارض نظیر نفروپاتی، رتینوپاتی، نوروپاتی، و بیماری‌های قلبی عروقی محسوب می‌شود که بر اساس

* نویسنده مسئول، تلفن: ۸۸۹۶۴۷۹۲-۰۲۱ نمابر: ۸۸۹۶۶۳۱۰-۰۲۱

Email: mehjour@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۴/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۰/۲۰

Archive of SID

www.SID.ir

پیش‌بینی به‌عمل آمده، شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش خواهد یافت [۱]. کمبود و یا کاهش نسبی میزان انسولین در این بیماری با عوارض متابولیکی حاد و مزمن همراه می‌باشد [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 و بیماری‌های قلبی–عروقی می‌گردد. 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 به طور معنی‌داری نسبت به حیوانات سالم افزایش می‌یابد که در این افزایش پاسخ انقباضی عروق عوامل گوناگون از جمله تشدید تولید اندوتلین به عنوان یک منقبض‌کننده قوی عضلات صاف عروق، افزایش سنتز و ترشح برخی از پروستاگلاندین‌های تنگ‌کننده عروقی، افزایش غلظت داخل سلولی دی آسیل گلیسرول و افزایش متعاقب کلسیم داخل سلولی به عنوان عامل محرک انقباض در عضله صاف عروقی، و کاهش توانائی تولید فاکتورهای گشادکننده عروقی با منشأ اندوتلیال نظیر نیتریک اکسید می‌تواند مطرح باشد. هم‌چنین پاسخ اتساعی سیستم عروقی دارای آندوتلیوم شامل آئورت در موش‌های صحرایی دیابتی به استیل‌کولین به طور محسوس کم‌تر از موش‌های صحرایی سالم می‌باشد [۴،۳]. هدف اصلی که از روش‌های درمانی دیابت قندی تعقیب می‌شود برقراری میزان طبیعی قند خون و جلوگیری از و یا به تعویق انداختن ظهور عوارض آن می‌باشد. 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 می‌گردد [۵]. از دیر باز گیاهان داروئی به‌علت سهولت دست‌رسی و در بیش‌تر موارد دارای عوارض جانبی بسیار کم‌تر از جایگاه ویژه‌ای در علم پزشکی برای درمان بیماری‌های رایج بشری به‌ویژه آن دسته از امراض با ماهیت متابولیک نظیر دیابت قندی برخوردار بوده‌اند [۶]. هم‌چنین، در طی سالیان اخیر هدف بسیاری از تحقیقات، بررسی اثربخشی مواد طبیعی با خاصیت هیپوگلیسمیک بر روی 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 از یا درمان دیابت یا مشکلات ناشی از آن شدیداً احساس می‌گردد [۷]. تاج خروس گیاهی است از خانواده آمارانتاسه، چهارکربنه و یک‌ساله به ارتفاع ۵۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متر با ساقه‌های پایینی قرمز یا دارای نوار قرمز که تا انتهای ریشه اصلی تداوم دارد. پهنک برگ‌ها ضخیم و رگ‌برگ‌های آن واضح هستند برگ‌های آن نسبتاً پهن و نیزه‌ای شکل بوده، با دم‌برگ‌های ضخیم و قوی که به ساقه متصل هستند و به تدریج به رنگ قرمز در می‌آیند. تکثیر آن توسط بذر، ریشه‌های زیرزمینی قرمزرنگ و عمیق صورت می‌گیرد.گل‌ها کوچک و سبزرنگ، بذرها به‌رنگ سیاه براق، عدسی شکل و در دو طرف محدب که دارای یک شکاف کوچک در کنار بذر می‌باشد. تاج خروس در مزارع توتون، باغ‌های چای، سبزی، صیفی و زمین‌های بایر در مناطق مختلف می‌روید. تاج خروس دارای مقادیر بالا از پروتئین، فیبر بتا استرول فیتواسترول ویتامین‌ها و اسیدهای چرب غیر اشباع و مواد با خاصیت آنتی‌اکسیدانت می‌باشد. در این مورد وجود توکوفرول و اسیدآسکوربیک با خاصیت حفاظتی در آن مورد تائید قرار گرفته است. در برخی کشورها از این گیاه برای تصفیه خون و معالجه زخم استفاده می‌شود. به‌علاوه تجویز آن موجب تقویت سیستم ایمنی، تقویت حافظه، کاهش چین و چروک پوست، کمک به تنظیم سطح چربی‌ها به‌ویژه کلسترول، و از بین بردن رادیکال‌های آزاد می‌گردد. هم‌چنین از این گیاه در درمان آلرژی، مشکلات کبدی، استئوآرتریت، و مشکلات قلبی عروقی می‌توان استفاده نمود [۸–۱۱]. با توجه به این‌که در مدل تجربی دیابت نوع ۱ القا شده توسط داروی سیتوتوکسیک استرپتوزوتوسین در موش صحرائی، پس از گذشت ۱ ماه پاسخ انقباضی عضله صاف آئورت به عوامل آلفا آدرنرژیک نظیر نورآدرنالین افزایش یافته و پاسخ رفع

www.SID.ir
Archive of SID

انقباضی به عوامل شل‌کننده عروقی نظیر استیل‌کولین کاهش می‌یابد [۳] و با توجه به اثرات ضد دیابتی [۱۲] و آنتی‌اکسیدانتی [۹] گیاه تاج خروس، در بررسی حاضر اثر وابسته به اندوتلیوم مصرف خوراکی و مزمن این گیاه بر پاسخ انقباضی و شل‌شدگی آئورت سینه‌ای موش صحرائی نر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

حیوانات. در این مطالعه از ۴۰ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی ۳۱۰–۲۶۰ گرم استفاده شد. تمام حیوان‌ها در دمای ۲۳–۲۱ 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) و یا غذای مخلوط شده با پودر سرشاخه گل‌دار گیاه به نسبت ۶/۲۵٪ به مدت ۸ هفته دسترسی داشتند. برای تهیه غذا، پس از تأئید علمی، پودر به‌دست آمده از آسیاب نمودن گیاه با غذای پودر شده و استاندارد موش مخلوط و مجدداً غذای حیوان تولید گردید. 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. در این خصوص از شبکه رتروارویتال و لوله موئینه برای خون‌گیری استفاده شد. موش‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با گیاه، دیابتی، دیابتی تحت تیمار با گیاه و دیابتی تحت تیمار با گلیبن کلامید (کنترل مثبت) تقسیم شدند. تیمار با دارو یا گیاه به مدت ۸ هفته ادامه یافت. برای دیابتی نمودن موش‌ها از داروی استرپتوزوتوسین به صورت تک دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. داروی هیپوگلیسمیک گلیبن 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 دیابتی شده به مرحله بعدی برای شروع تیمار راه یافتند. میزان وزن حیوانات و گلوکز سرم (روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست شیمی، تهران)) قبل از انجام کار و در طی هفته‌های ۴ و ۸ پس از بررسی اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری پاسخ انقباضی و شل‌شدگی آئورت سینه‌ای. در پایان کار، موش‌ها با استفاده از اتر بی‌هوش شده، با باز کردن قفسه سینه آئورت سینه‌ای را جدا کرده و در داخل محلول کربس سرد (که به‌طور مداوم به‌داخل آن گاز کربوژن دمیده می‌گردید) 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; $CaCl_2$: ۵/۲; $MgSO_4$: ۱/۱۸; $NaHCO_3$: ۲۴/۹; $KH2PO_4$: ۱/۱۸; Glucose: ۱۰

در داخل محلول کربس سرد (به منظور کاهش دادن متابولیسم بافت و کاهش مرگ و میر سلولی)، آئورت به دقت از بافت پیوندی اطراف پاک شده، سپس به حلقه‌هایی به طول حدوداً ۴ (۵–۳) میلی‌متر تقسیم گردید. برای حصول اطمینان از سلامت آندوتلیوم، پس از ایجاد انقباض با غلظت ۶–۱۰ مولار فنیل‌افرین، استیل‌کولین با غلظت ۵–۱۰ مولار به حمام بافت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد اضافه شد. مشاهده پاسخ شل‌شدگی بیش‌تر از ۴۰–۳۰٪ در حلقه‌های آئورت به‌عنوان ملاک سالم بودن اندوتلیوم در نظر گرفته شد. برای ثبت پاسخ حلقه‌های آئورتی، آن‌ها به کمک سیم‌های پلاتینی L شکل که به‌موازات هم قرار داشتند، از یک طرف به قلاب فلزی و از طرف دیگر به ترانسدیوسر ایزومتریک F-60 متصل شدند. در این بررسی کشش اولیه اعمال شده به حلقه‌های آئورتی 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 گردید. پس از حصول حالت تعادل، بافت به ترتیب در معرض غلظت‌های افزایش‌یابنده کلرور پتاسیم (۱۰ تا ۵۰ میلی‌مولار) و فنیل‌افرین (۹–۱۰ تا ۵–۱۰ مولار) قرار گرفت. برای ثبت پاسخ شل‌شدگی در حالت دارای اندتلیوم، حلقه‌های آئورتی

Archive of SID

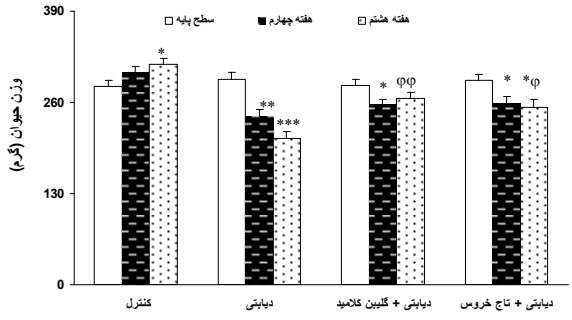
www.SID.ir

در ابتدا در معرض غلظتی از فنیل‌افرین که حدود ۸۰٪ حداکثر پاسخ را ایجاد نمود قرار گرفته و سپس در معرض غلظت‌های افزایش‌یابنده استیل‌کولین (۹-۱۰ تا ۵-۱۰ مولار) قرار گرفت. برای ثبت پاسخ شل‌شدگی در حالت بدون اندتلیوم، در ابتدا اندوتلیوم با چرخاندن یک لوله موئینه در داخل لومن رگ تخریب شده و سپس حلقه‌های آئورتی در ابتدا در معرض غلظتی از فنیل‌افرین که حدود ۸۰٪ حداکثر پاسخ را ایجاد نمود قرار گرفته و سپس در معرض غلظت‌های افزایش‌یابنده سدیم نیتروپروسید (۹-۱۰ تا ۵-۱۰ مولار) قرار گرفت. عدم مشاهده پاسخ شل‌شدگی در حلقه‌های پیش منقبض شده با فنیل‌افرین در حضور استیل‌کولین (۵-۱۰ مولار) تائیدکننده عدم وجود اندوتلیوم در چنین حلقه‌هائی در نظر گرفته شد. برای ثبت و آنالیز داده‌ها نیز از نرم‌افزار فیزیوگراف ۱ (شرکت بهینه آرمان، تهران) استفاده گردید. پاسخ انقباضی در تمامی بررسی‌ها به‌صورت گرم و در مورد پاسخ شل‌شدگی به صورت درصد بیان شد.

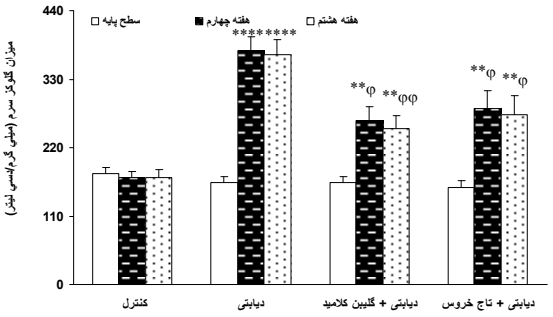
آنالیز آماری. تمام نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. در مورد وزن و میزان گلوکز سرم حیوانات در هفته‌های مختلف از آزمون آنووا با اندازه‌گیری مکرر و در مورد نتایج عروقی و برای مقایسه بین گروهی آن‌ها از آزمون آنووای یک‌طرفه و تست توکی استفاده گردید. به‌علاوه، سطح معنی‌دار در تمام آنالیزها، $p<0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

از نظر وزن، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها در هفته قبل کار (سطح پایه) مشاهده نشد. گروه کنترل تحت تیمار مشابه با گروه کنترل یک افزایش معنی‌دار و طبیعی وزن را در پایان هفته هشتم نشان داد ($p<0/05$). در گروه دیابتی در هفته هشتم یک کاهش معنی‌دار در مقایسه با هفته قبل بررسی ($p<0/005$) مشاهده گردید. از طرف دیگر، تفاوت موجود بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت درمان با گیاه در هفته هشتم در حد معنی‌دار بود ($p<0/05$) و میزان وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با گیاه کاهش کم‌تری نشان داد. به‌علاوه، کاهش وزن در گروه دیابتی تحت درمان با گلیبن کلامید نیز کم‌تر بود و وزن در هفته هشتم به‌طور معنی‌دار بیش‌تر از گروه دیابتی درمان نشده بود ($p<0/01$) (شکل ۱).



شکل 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)، $p<0/05$ φ ، $p<0/01$ φ φ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)



شکل ۲. تغییرات گلوکز سرم در هفته های مختلف در موشهای صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار. $p<0/01$ **، $p<0/0005$ **** (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)، $p<0/05$ φ ، $p<0/01$ φφ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)

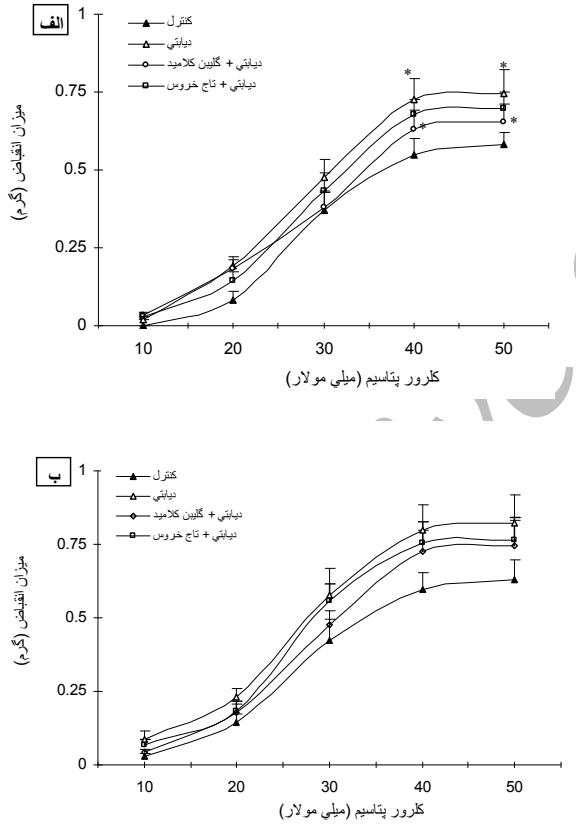
در خصوص میزان گلوکز سرم، در هفته قبل از بررسی تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت نشد، در هفته‌های ۴ و ۸ میزان گلوکز سرم در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با گیاه در حد معنی‌دار ($p<0/0005$ تا $p<0/01$) بیش‌تر از گروه کنترل بود هر چند که در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه میزان گلوکز سرم به‌طور معنی‌دار در هفته‌های ۴ و ۸ کم‌تر از گروه دیابتی درمان نشده بود ($p<0/05$). به‌علاوه، گروه کنترل تحت تیمار کاهش محسوس این پارامتر را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. درمان گروه دیابتی با گلیبن

www.SID.ir

کلامید نیز یک کاهش بارز و معنی‌دار در گلوکز سرم در هفته هشتم در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده ایجاد نمود (شکل ۲) ($p<۰/۰۱$).

پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم. شکل ۳، پاسخ انقباضی حلقه‌های دارا و فاقد اندوتلیوم را به غلظت‌های افزایش‌یابنده 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 دارای اندوتلیوم و بدون اندوتلیوم به طور معنی‌دار گردید ($p<۰/۰۵$). به‌علاوه حذف اندوتلیوم موجب افزایش غیر معنی‌دار پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم گردید. هم‌چنین درمان موش‌های دیابتی با تاج خروس در مورد حلقه‌های دارا و فاقد اندوتلیوم موجب کاهش معنی‌دار حداکثر پاسخ انقباضی ناشی از کلرور پتاسیم نگردید هر چند تفاوت موجود بین این دو گروه با حذف اندتلیوم 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 غیر معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل از غلظت ۳۰ میلی‌مولار به بعد به‌ویژه در مورد نمونه‌های دارای اندوتلیوم مشاهده شد.

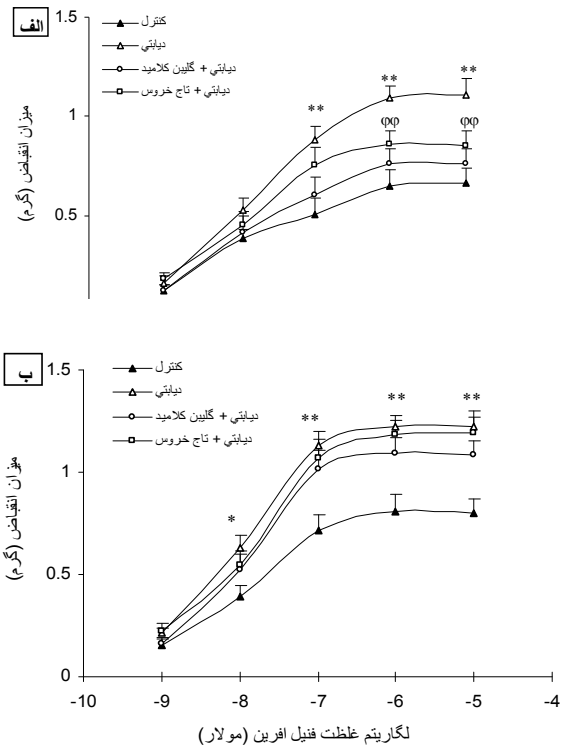
پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای به فنیل‌افرین. شکل ۴، پاسخ انقباضی حلقه‌های دارا و فاقد اندوتلیوم را به غلظت‌های افزایش‌یابنده فنیل‌افرین در گروه‌های کنترل، کنترل تحت تیمار با گیاه، دیابتی، دیابتی تحت تیمار با گیاه و دیابتی تحت درمان با گلیبن کلامید نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است پاسخ انقباضی به فنیل‌افرین در مورد این گروه‌ها با و بدون اندوتلیوم از یک طرح وابسته به غلظت تبعیت نموده است و دیابت موجب افزایش بارز و معنی‌دار پاسخ حلقه‌های آئورتی به فنیل‌افرین از غلظت $۱۰^{-۸}$ مولار به بعد گردیده است ($p<۰/۰۵$ – ۰/۰۱). هم‌چنین درمان موش‌های دیابتی با تاج خروس موجب کاهش معنی‌دار در پاسخ انقباضی به فنیل‌افرین از غلظت $۱۰^{-۶}$ مولار به بعد در مقایسه با گروه دیابتی در حلقه‌های دارای اندوتلیوم گردید ($p<۰/۰۱$) و حذف اندوتلیوم موجب حذف این تفاوت گردید. در مورد گروه کنترل تیمار شده با گیاه نیز یک کاهش کم و غیر معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل در مورد نمونه‌های دارای اندوتلیوم مشاهده شد. درمان موش‌های دیابتی با گلیبن کلامید نیز موجب کاهش بارز و معنی‌دار پاسخ انقباضی در حلقه‌های دارای اندوتلیوم از غلظت $۱۰^{-۷}$ مولار به بعد گردید (۰/۰۱– $p<۰/۰۵$).



شکل ۳. پاسخ انقباضی آئورت سینه ای به غلظت‌های افزایش یابنده کلرور پتاسیم در گروه‌های مختلف در دو حالت دارای اندوتلیوم (الف) و بدون اندوتلیوم (ب). $p<۰/۰۵$* (در مقایسه با گروه کنترل)

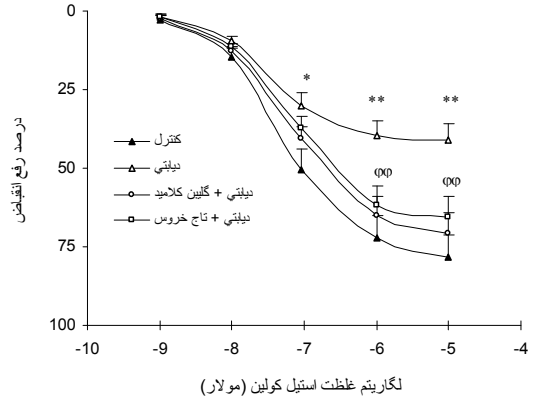
پاسخ شل‌شدگی آئورت سینه‌ای به استیل‌کولین و نیتروپروسید. از نظر پاسخ شل‌شدگی حلقه‌های آئورتی پیش منقبض شده با فنیل‌افرین و دارای اندوتلیوم، با اضافه شدن دوزهای تجمعی استیل‌کولین، یک پاسخ گشادشدگی وابسته به غلظت در تمام گروه‌ها مشاهده گردید (شکل ۵).

www.SID.ir



شکل ۴. پاسخ انقباضی آئورت سینه ای به غلظت‌های افزایش یابنده فنیل‌افرین در گروه‌های مختلف در دو حالت دارای اندوتلیوم (الف) و بدون اندوتلیوم (ب). P<۰/۰۵* ، p<۰/۰۱** (در مقایسه با گروه کنترل)، φφp<۰/۰۱ (در مقایسه با گروه دیابتی)

در این خصوص معلوم شد که گروه دیابتی یک کاهش معنی‌دار در میزان پاسخ رلاکسیون در مقایسه با گروه کنترل از غلظت ۰/۱ میکرومولار به بعد نشان می‌دهد (p<۰/۰۱– p<۰/۰۵). هم‌چنین، پاسخ رلاکسیون 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<۰/۰۵). در مورد گروه دیابتی تحت درمان با گلیبن 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 شل‌شدگی حلقه‌های آئورتی پیش منقبض شده با فنیل‌افرین و بدون اندوتلیوم، اگرچه با اضافه شدن دوزهای تجمعی سدیم نیتروپروسید، یک پاسخ گشادشدگی وابسته به غلظت در تمام گروه‌ها مشاهده گردید (داده‌ها نشان داده نشده است) ولی هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها از این نظر مشاهده نشد.



شکل ۵. پاسخ شل شدگی به استیل کولین (بصورت تجمعی و وابسته به غلظت) در حلقه‌های آئورتی پیش منقبض شده با فنیل‌افرین در گروه‌های مختلف پس از گذشت ۸ هفته. P<۰/۰۵ *، P<۰/۰۱ ** (در مقایسه با گروه کنترل)، φφ P<۰/۰۱ (در مقایسه با گروه دیابتی)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این بررسی نشان‌داد که تجویز خوراکی و درازمدت تاج خروس با یک نسبت وزنی ۶/۲۵٪ به مدت ۸ هفته در موش‌های دیابتی موجب کاهش معنی‌دار میزان گلوکز سرم می‌شود، حداکثر پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای دارای اندوتلیوم در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه به کلرور پتاسیم و فنیل‌افرین به ترتیب به‌طور غیر معنی‌دار و معنی‌دار کم‌تر از گروه دیابتی بود و با حذف اندوتلیوم این تفاوت معنی‌دار از بین رفت. به‌علاوه، پاسخ شل‌شدگی حلقه‌های آئورتی دارای اندوتلیوم به استیل‌کولین در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده بیش‌تر و معنی‌دار بود. هم‌چنین، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها از نظر پاسخ شل‌شدگی به سدیم نیتروپروسید مشاهده نگردید.

مکانیسم‌های متفاوتی در ایجاد اختلال در ساختمان و عمل‌کرد عروق خونی در دیابت قندی دخالت دارند. در این ارتباط ظرفیت آندوتلیوم عروق در سنتز گشادکننده‌های عروقی مانند پروستاسایکلین و نیتریک اکسید کم شده و تنگ کننده‌های عروقی مانند آندوتلین به مقدار زیادی تولید می‌شوند . هر چند که در مورد نقش هیپرگلیسمی مزمن در بروز عوارض عروق بزرگ در حالت دیابت قندی شواهد

Archive of SID

www.SID.ir

قطعی وجود ندارد، ولی برخی از نتایج به‌دست 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 عروق خونی دارند. به‌علاوه در بیماران دیابتی تولید رادیکال‌های آزاد از طریق اتواکسیداسیون گلوکز افزایش می‌یابد [۱۳]. نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نشان داد که پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورتی دارای آندوتلیوم به فنیل‌افرین و کلرور پتاسیم در موش‌های صحرایی نر دیابتی به طور معنی‌داری نسبت به حیوانات سالم افزایش یافته است که با نتایج مطالعه آبیب و همکاران مطابقت دارد [۴]. به‌علاوه، با حذف اندوتلیوم به‌علت حذف عوامل گشادکننده عروقی نظیر نیتریک اکسید پاسخ انقباضی تشدید می‌شود که این نیز در بررسی حاضر به دست آمد. در این مطالعه تجویز دراز مدت تاج خروس موجب کاهش پاسخ‌گوئی آئورت به عوامل منقبض‌کننده شامل کلرور پتاسیم و فنیل‌افرین و تشدید پاسخ شل‌شدگی به استیل‌کولین گردید و با حذف اندوتلیوم این اثرات تا حدود زیادی از بین رفت که خود حکایت از نقش مهم اندوتلیوم و عوامل شیمیائی مرتبط با آن نظیر سیستم نیتریک اکسید و پروستاگلاندین‌ها در بروز اثرات سودمند این گیاه در بررسی حاضر دارد.

در خصوص اثرات سودمند مصرف خوراکی و دراز مدت تاج خروس قبلاً مشخص شده است که آن یک گیاه دارویی با 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 بافت‌هائی نظیر کبد در برابر انواع استرس‌های شیمیائی می‌باشد که علت اصلی آن وجود سطح بالا از مواد آنتی‌اکسیدانت نظیر فلاونوئیدها در این گیاه ارزشمند می‌باشد. به همین علت است که مصرف این گیاه اثرات حفاظتی بر بافت‌های بدن اعمال نموده و در جهت کاهش استرس اکسیداتیو که در دیابت قندی افزایش می‌یابد [۷،۶] و بخشی از تغییرات بیوشیمیائی خون و بافتی را به‌وجود می‌آورد عمل می‌کند. در این رابطه نتایج تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که در مدل تجربی دیابت قندی القا شده توسط استرپتوزوتوسین در موش صحرائی پس از گذشت یک ماه میزان استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در بافت آئورت افزایش می‌یابد که این تغییرات نامطلوب در پاسخ‌گوئی عروقی شامل افزایش پاسخ انقباضی به عوامل آلفا آدرنرژیک و کاهش پاسخ رفع انقباضی به عوامل گشادکننده عروقی نظیر استیل‌کولین را تا حدودی توجیه می‌نماید [۱۴]. این احتمال وجود دارد که مواد موثره گیاه تاج خروس در گروه فلاونوئیدها از طریق کاهش دادن میزان استرس اکسیداتیو و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانتی با ماهیت آنزیمی در بافت آئورت موجب بهبود پاسخ‌گوئی آن به عوامل وازوراکتیو شده باشند که این خود به بررسی‌های بیش‌تر نیاز دارد. به‌علاوه مشخص شده است که مواد سودمند و محافظت‌کننده این گیاه در گروه پلی‌فنل‌ها دارای خاصیت ضد دیابتی می‌باشند [۱۲،۹]. در این خصوص مشخص شده که بخشی از تغییرات عمل‌کردی نامطلوب در بافت سیستم عروقی در حالت دیابت قندی به‌علت اثرات سمی خود هیپرگلیسمی و محصولات نهائی گلیکوزیلاسیون (AGE) ناشی از آن می‌باشد [۱۴]. در این رابطه، تجویز برخی فلاونوئیدها مشتق از گیاهان داروئی به فرم داخل صفاقی در موش‌های صحرائی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین موجب کاهش معنی‌دار سطح گلوکز سرم به فرم وابسته به دوز می‌گردد در حالی‌که همین فلاونوئیدها اثر محسوس بر حیوانات سالم از نظر میزان گلوکز خون ندارند [۱۵]. به‌علاوه تجویز برخی از همین فلاونوئیدها به حیوانات دیابتی موجب کاهش سطح برخی چربی‌های سرم می‌گردد که از این طریق نیز تغییرات سودمند عروقی را می‌تواند توجیه کند [۱۵،۱۶]. هم‌چنین، برخی از فلاونوئیدها موجود در گیاهان داروئی به‌عنوان ماده آنتی‌اکسیدانت و دارای خاصیت شبه انسولینی محسوب می‌شوند که از این طریق قادر به کاهش دادن علائم دیابت قندی و برگرداندن سطح پارامترهای نامطلوب بدن به حد طبیعی می‌باشند [۱۶].

Archive of SID

www.SID.ir

به‌علاوه تجویز برخی از فلاونوئیدها موجب افزایش بیان ترانسپورترهای گلوکز در سلول‌های عضلانی می‌گردد که این اثر هیپوگلیسمیک گیاه را در مدل تجربی دیابت در بررسی حاضر تا حدودی توجیه می‌نماید [۱۶]. بخش دیگر از اثر سودمند گیاه در این بررسی را می‌توان به خاصیت مهارکنندگی آنزیم آلفا آمیلاز آن نسبت داد که از طریق مهار متابولیسم کربوهیدرات‌ها تواند خاصیت هیپوگلیسمیک و ضد دیابتی اعمال نماید [۹].

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. لذا این احتمال وجود دارد که تمام حیوانات به یک میزان از گیاه استفاده نکرده باشند که این می‌تواند تفاوت‌های کم‌تر بین گروه‌های مورد مطالعه و پراکنش بیش‌تر داده را در یک چنین مطالعاتی توجیه کند. البته هدف اصلی کار این نبوده است 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 در طی سالیان اخیر یافت می‌شود. به عبارت دیگر هدف از این‌گونه تحقیقات این است که گفته شود اگر در جامعه انسانی یک رژیم غذائی حاوی یک گیاه خاص بیش‌تر استفاده شود (که در این‌جا مقدار مصرف به عوامل فیزیولوژیک متعدد بستگی دارد) احتمال بروز عوارض بیماری می‌تواند کم‌تر شود.

تجویز خوراکی و دراز مدت گیاه تاج خروس از طریق اثرگذاری بر عوامل مرتبط با اندوتلیوم موجب کاهش پاسخ انقباضی و افزایش پاسخ شل‌شدگی در بافت آئورت موش صحرائی دیابتی می‌گردد که این در جلوگیری از عوارض عروقی دیابت در دراز مدت می‌تواند سودمند باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم فریبا انصاری کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد در کمک به انجام آزمایشات اعلام می‌دارند.

منابع

[1] Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. Med Sci Monit 2006; 12: RA130-147.

[2] 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.

[3] Mori S, Takemoto M, Yokote K, Asaumi S, Saito Y. Hyperglycemia-induced alteration of vascular smooth muscle phenotype. J Diabetes Complications 2002; 16: 65-68.

[4] Abebe W, Harris KH, Macleod KM. Enhanced contractile responses of arteries from diabetic rats to a1-adrenoceptor stimulation in the absence and presence of extracellular calcium. J Cardiovas Pharmacol 1990; 16: 239-248.

[5] Suji G, Sivakami S. Approaches to the treatement of diabetes mellitus: an overview. Cell Mol Biol 2003; 49: 635-639,

[6] Grover JK, Yadav S, Vats V. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. J Ethnopharmacol 2002; 81: 81-100.

[7] Dey L, Attele AS, Yuan CS. Alternative therapies for type 2 diabetes. Altern Med Rev 2002; 7:45-58.

[8] Mirheidar H. Medicinal Plant Science: Applications in disease prevention and treatment. 1st Edition, Tehran: Islamic Culture Press; 1997. Vol. 3; 411-13.

[9] Conforti F, Statti G, Loizzo MR, Sacchetti G, Poli F, Menichini F. In Vitro antioxidant effect and inhibition of alpha-amylase of two varieties of Amaranthus caudatus seeds. Biol Pharm Bull 2005; 28: 1098-1102.

[10] Bruni R, Guerrini A, Scalia S, Romagnoli C, Sacchetti G. Rapid techniques for the extraction of vitamin E isomers from Amaranthus caudatus seeds: ultrasonic and supercritical fluid extraction. Phytochem Anal 2002; 13: 257-261.

[11] Klimczak I, Małecka M, Pachołek B. Antioxidant activity of ethanolic extracts of amaranth seeds. Nahrung 2002; 46: 184-186.

[12] Qeini MH, Roghani M, Musavi G, Ansari, Sharayeli M. Evaluation of the effect of oral Amaranthus caudatus administration on reduction of blood glucose and lipids in female rat. Daneshvar 2010; 89: 19-26. (Persian).

[13] 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.

[14] Roghani M, Baluchnejadmojarad T. Chronic epigallo5catechin-gallate improves aortic reactivity of diabetic rats: underlying mechanisms. Vascul Pharmacol 2009; 51: 84-89.

[15] Vessal M, Hemmati M, Vasei M. Antidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol 2003; 135: 357-364.

[16] 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: E1339-1346.

Archive of SID

www.SID.ir

Endothelium-dependent effect of *Amaranthus caudatus* feeding on contractile properties of thoracic aorta from diabetic rats

Mehrdad Roghani (Ph.D)[*1], Tourandokht Baluchnejadmojarad (Ph.D)[2], Farshad Roghani-Dehkordi (M.D)[3]

1- Dept. of Physiology, School of Medicine, Shahed University and Medicinal Plant Research Center, Tehran, Iran
2 – Dept. of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3 – Dept. of Cardiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

(Received: 18 Jul 2010 Accepted: 10 Jan 2011)

Introduction: Diabetes mellitus is accompanied with higher incidence of cardiovascular disorders. There is some evidence of antidiabetic and vascular function-improving potential of Amaranthus caudatus (AC). Endothelium-dependent effects of oral administration of AC for 8 weeks on contractile and relaxatory response of thoracic aorta from diabetic rats were investigated.

Materials and Methods: Wistar rats were divided into control, AC-treated control, diabetic, AC-treated diabetic, and glibenclamide-treated diabetic groups. For induction of type 1 diabetes, streptozotocin at a dose of 60 mg/kg (i.p) was injected. Treated groups received AC-mixed pelleted food at a weight ratio of 6.25%. Body weight and serum glucose level was measured before the study and after 4 and 8 weeks. At the end of study, contractile reactivity of thoracic aortic rings to KCl and phenylephrine and relaxatory response to acetylcholine and sodium nitroprusside was determined using isolated tissue setup.

Results: Serum glucose level significantly decreased in AS-treated diabetic group ($P<0.05$) versus untreated diabetics. In addition, endothelium-intact AC-treated diabetic group showed a significantly lower contraction to KCl and phenylephrine ($P<0.01$) as compared to diabetic group and endothelium removal abolished this response. Meanwhile, relaxation response of endothelium-intact rings to acetylcholine was significantly higher in AC-treated diabetic group as compared to diabetics ($p<0.01$). In addition, there were no significant changes amongst the groups regarding relaxatory response to sodium nitroprusside.

Conclusion: Chronic oral administration of AC through affecting endothelial-related agents could decrease contractile response and enhance relaxatory response in aortic tissue of diabetic rat and this may be beneficial in prevention of long-term vascular complications of diabetes.

Keywords: *Maranthus caudatus*, Diabetes mellitus, Endothelium, Aorta, Thoracic, Rats

* Corresponding author: Fax: +98 21 88966310 ; Tel: +98 21 88964792
mehjour@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir