مطالعه اثر ضد انقباضی عصاره آبی ـ الکلی برگ کرفس در ایلئوم موش صحرایی

محمد کاظم غریب‌ناصری [1*]، علی‌اصغر پیله‌وران [2]، نگین شامنصوری [3]

خلاصه

سابقه و هدف: با توجه به عوارض ناشی از اسهال و علی‌رغم وجود داروهای صنعتی، تلاش برای یافتن گیاهانی که بتوانند حرکات عضله‌ی صاف روده را کاهش دهند، همچنان ادامه دارد. بعضی از گیاهان مانند کرفس که مصرف خوراکی دارند علاوه بر ارزش غذایی دارای اثرات فارماکولوژیکی نیز می‌باشند. کرفس (Apium graveolens) از خانواده‌ی چتریان (Apiaceae) است که دارای اثرات ضددرد، ضدالتهاب، کاهنده‌ی فشار خون، کاهنده‌ی چربی خون و مدر بوده و از ترکیبات مهم آن فلاوونوئیدها می‌باشد. کرفس در طب سنتی به عنوان ضدنفخ استفاده می‌شود. هدف از این تحقیق بررسی اثر ضدانقباضی عصاره‌ی آبی ـ الکلی برگ کرفس بر فعالیت انقباضی ایلئوم موش صحرایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: پودر برگ کرفس با الکل ۷۰ درصد با روش خیساندن عصاره‌گیری شد. ایلئوم موش صحرایی نر نژاد ویستار جدا گردید و انقباضات آن تحت یک گرم کشش، در حمام بافت حاوی محلول تایرود به روش ایزوتونیک ثبت شد. نتایج با استفاده از آزمون‌های ANOVA و Tukey HSD مقایسه شدند.

نتایج: غلظت‌های تجمعی عصاره‌ی (۰/۲۵ تا ٤ mg/ml) انقباضات ناشی از کلرورپتاسیم (٦۰mM) و کارباکول (۱۰μM) را به صورت وابسته به غلظت کاهش داد ($p<0/0001$). اینکوبه کردن بافت (۳۰ دقیقه) با پروپرانولول (۱μM) و یا نالوکسون (۱μM) و نیز ۲۰ دقیقه با L-NAME (۱۰۰μM) عملکرد ضدانقباضی عصاره را کاهش نداد. اینکوبه کردن بافت (۵ دقیقه) با گلیبنکلامید (۱۰μM) و یا تتراتیل‌آمونیوم (۱mM) اثر ضدانقباضی عصاره را کاهش نداد. انقباضات ناشی از کلرورکلسیم (۰/۵ تا ۸ mM) در محلول تایرود فاقد کلسیم با پتاسیم بالا (٦۰mM) توسط عصاره (۱ mg/ml) کاهش یافت ($p<0/05$ تا $p<0/001$).

نتیجه‌گیری: عصاره‌ی برگ کرفس انقباض ایلئوم موش صحرایی را به صورت وابسته به غلظت مهار نمود. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان احتمال داد که کانال‌های کلسیمی ولتاژی و لیگاندی در پیدایش این اثر ضدانقباضی نقش داشته باشند. ولی گیرنده‌های بتاآدرنرژیک، اپیوئیدی، نیتریک‌اکساید و کانال‌های پتاسیمی در آن نقشی ندارند. همچنین احتمال دارد که ماده‌ی فلاوونوئیدی آپیجنین موجود در کرفس، مسوول این فعالیت باشد.

واژگان کلیدی: ضد انقباض، برگ کرفس، ایلئوم، موش صحرایی

۱- دانشیار گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

۲- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور اصفهان

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست‌شناسی

* **نویسنده مسوول:** محمدکاظم غریب‌ناصری

آدرس: اهواز، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، کد پستی ۱۸۹-٦۱۳۳۵، گروه فیزیولوژی

پست الکترونیک: gharibnaseri_m@yahoo.com

تلفن: ۳۲۸۳ ۱۱۸ ۰۹۱٦

دورنویس: ۳۳۳۲۰۳٦ ۰٦۱۱

تاریخ دریافت: ۸٦/۲/۲

تاریخ پذیرش نهایی: ۸٦/۹/۲٤

مقدمه

اسهال همچنان یکی از علل مهم مرگ و میر به ویژه در کودکان کشورهای در حال توسعه می‌باشد [۱]. بعضی از انواع اسهال نتیجه‌ی افزایش حرکات روده است [۲]. امروزه بیشتر مردم به استفاده از فرآورده‌های طبیعی جهت درمان اختلالات گوارشی روی آورده‌اند. قرن‌هاست که فرآورده‌ای طبیعی به عنوان دارو مصرف شده و منشا اولیه حدود نیمی از داروها نیز مواد طبیعی هستند [۳]. در کشورهای در حال توسعه که طب سنتی نقش مهمی

Archive of SID

www.SID.ir

در حفظ سلامت مردم دارد، گیاهان منبع عمده تامین داروها می‌باشند [٤]. بعضی از گیاهان مانند کرفس اگر چه به عنوان ماده غذایی استفاده می‌شوند ولی در عین حال دارای خواص دارویی نیز می‌باشند. از طرف دیگر با توجه به عوارض ناخواسته داروهای صناعی ضروریست در زمینه تعیین خواص فارماکولوژیک گیاهان مختلف تحقیق علمی انجام گردد. کرفس (Apium graveolens) از خانواده‌ی چتریان (Apiaceae) از سبزیجات خوراکی بوده و از جمله ترکیبات موجود در برگ و میوه آن فلاوونوئیدهای لوتئولین ۷- O- آپیوسیلگلوکوزید، آپیجنین ۷- O- آپیوسیلگلوکوزید، کریسوریال ۷-O- آپیوسیلگلوکوزید می‌باشد [٥]. کرفس تقویت‌کننده‌ی قلب، کاهنده فشار خون و ضد دیابت بوده [٦] و از گیاهان مدر است [۷]. عصاره‌ی کرفس دارای توانایی جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد مانند OH^- و مهارکننده‌ی پروکسیداسیون لیپوزومال بوده و لذا خاصیت آنتی‌اکسیدان دارد [۸] و پیشنهاد شده است که این اثرات نتیجه‌ی عملکرد فلاوونوئید آن می‌باشد. کرفس از سبزیجات دارای آلفاتوکوفرول بوده [۹] و دارای اثرات ضدسرطان کبد [۱۰]، حفاظت کبد در برابر پاراستامول [۱۱] ، ضدمیکروب [۱۲] و ضددرد و ضدالتهاب [۱۳] و کاهشدهنده ی کلسترول و تری‌گلیسرید خون است [۱٤]. گزارش شده است که عصاره‌ی کرفس شدت اثر و طول دوره اثر فنوباربیتول و آمینوپیرین را افزایش داده [۱٥] و ماده آپیجنین استخراجی از کرفس سبب شل شدن آئورت موش صحرایی می‌گردد [۱٦]. بررسی‌ها نشان داد که تا کنون تاثیر برگ کرفس بر فعالیت انقباضی عضله‌ی صاف از جمله دستگاه گوارش تحقیقی انجام نگرفته است. هدف از اجرای این طرح تحقیقاتی روشن نمودن اثرات فارماکولوژیکی این گیاه بر حرکات ایلئوم جدا شده موش صحرایی و تا حد امکان مطالعه‌ی مکانیسم این اثر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

عصاره‌گیری: کرفس تازه از فروشگاه تره‌بار خریداری و نمونه‌ی آن توسط عضو هیأت علمی دانشکده داروسازی (گروه فارماکوگنوزی) شناسایی علمی شد. برگ‌ها در سایه خشک شد و آسیاب گردید. پودر برگ به نسبت ٥ درصد با الکل ۷۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت و در دمای اتاق خیسانده شد. پس از صاف کردن، حلال با ایجاد خلا تبخیر شد و پوست عصاره به نسبت ۳۲ درصد به دست آمد که تا زمان استفاده در یخچال نگهداری می‌شد.

مواد: کارباکول، پروپرانولول، L-NAME، گلیبنکلامید و تتراتیل آمونیوم از شرکت سیگما (آمریکا)، نالوکسون از شرکت تولیددارو و سایر نمک‌ها از شرکت مرک (آلمان) تهیه شدند. به منظور جلوگیری از تغییر ترکیب الکترولیتی محلول حمام، همه ترکیبات و عصاره در محلول تایرود حل می‌شدند و مجموع حجم محلول‌های اضافه شده به حمام کمتر از ٥ درصد حجم حمام بودند.

حیوانات: موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار (۱۸۷/۳±۱۱/۲g) تهیه شده از مرکز تحقیقات و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز تهیه و در شرایط روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و در دمای ۲۰ تا ۲٤°c نگهداری شده و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. موش‌ها ۲٤ ساعت قبل از آزمایش از غذا محروم شده ولی دسترسی به آب داشتند.

آماده سازی ایلئوم و روش کار: موش در روز آزمایش با زدن ضربه به پشت سر کشته شده و از انتهای ایلئوم (به جز ۲cm آخر) یک قطعه به طول ۲cm جدا گردید و در داخل حمام بافت (۱۰ml) در بین دو قلاب استیل زنگ نزن به صورت عمودی قرار داده می‌شد. قلاب پایین در ته حمام ثابت بود و قلاب بالا توسط نخ به اهرم ترانسدیوسر ایزوتونیک (Harvard, UK) و دستگاه ثبات (Harvard Universal Oscillograph, UK) متصل می‌شد. کشش اولیه به بافت ۱ گرم بود و محلول تایرود حمام (۳۷°C، ۷/٤ pH) دارای ترکیب زیر (بر حسب میلی‌مولار) بود: NaCl (۱۳٦)، KCl (٥)، $CaCl_2$ (۲)، $NaHCO_3$ (۱۱/۹)، $MgCl_2$ (۰/۹۸)، NaH_2PO_4 (۰/۳٦) و گلوکز (٥/٥٥) و دوره، سازگاری ٦۰ دقیقه بود که طی آن هر ۱٥ دقیقه محلول حمام تعویض می‌شد و جریان دایم حباب‌های هوا به داخل حمام دمیده می‌شد. بعد از سازگاری، ایلئوم توسط کلرور پتاسیم (٦۰mM) منقبض می‌شد و هنگامی که انقباض به حالت کفه می‌رسید، غلظت‌های تجمعی عصاره (۰/۲٥، ۰/٥، ۱، ۲ و ٤ mg/ml) به حمام اضافه می‌شد. به کار بردن غلظت بالاتر عصاره مشروط رسیدن انقباض به کف جدید بود. در قطعه‌ی دیگری از ایلئوم، همین مراحل در مورد انقباض ناشی از کارباکول (۱۰µM) نیز انجام می‌شد. به منظور بررسی دخالت گیرنده‌های بتا- آدرنرژیک و اوپیوئیدی، ابتدا یک قطعه‌ی ایلئوم جدید به مدت ۳۰ دقیقه با آنتاگونیست بتاآدرنرژیک (پروپرانولول، ۱µM) و یا آنتاگونیست گیرنده‌های اوپیوئیدی (نالوکسون، ۱ µM) اینکوبه می‌شد و سپس مراحل قبلی انقباض و عملکرد ضدانقباضی عصاره ثبت می‌گردید. اضافه کردن غلظت‌های بالاتر عصاره مشروط به کفه رسیدن عملکرد غلظت قبلی عصاره بود. به منظور تعیین دخالت تولید نیتریک‌اکساید، عمل اینکوبه کردن بافت (۲۰دقیقه) با ماده‌ی

Archive of SID

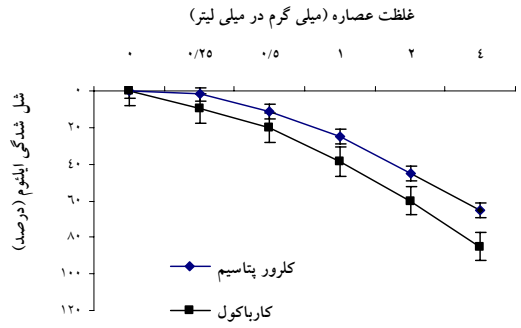
www.SID.ir

مهارکننده‌ی آنزیم نیتریک اکساید سینتاز (L-NAME، ۱۰۰µM) انجام شد. جهت روشن نمودن دخالت کانال‌های پتاسیمی در پیدایش اثرات ضدانقباضی عصاره، بافت‌های جداگانه به مدت ۵ دقیقه با مسدودکننده‌ی کانال‌های پتاسیمی وابسته به ATP (گلیبنکلامید، ۱۰µM) و مسدودکننده‌ی کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم (تترااتیل آمونیوم، ۱mM) اینکوبه شد [۱۷] و تاثیر غلظت‌های تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از کارباکول (۱۰µM) بررسی گردید. همچنین به منظور بررسی دقیق‌تر دخالت کانال‌های کلسیم، در محلول تایرود فاقد کلسیم ولی با کلرور پتاسیم زیاد (۶۰mM)، با اضافه کردن غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم (۰/۵ تا ۸ mM) ایلئوم منقبض شد و سپس همین مراحل پس از اینکوبه کردن بافت (۳ دقیقه) با غلظت‌های مختلف عصاره تکرار گردید (یک قطعه ایلئوم برای هر غلظت عصاره). هر بافت فقط مورد تاثیر یک ماده‌ی محرک و یک ماده‌ی مهارکننده یا آنتاگونیست قرار می‌گرفت.

آنالیز آماری: کفه‌ی انقباض ناشی از عامل محرک به عنوان ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد و درصد شل‌شدگی ایلئوم نسبت به کفه‌ی انقباض در گروه‌های مختلف به صورت mean±SEM محاسبه شد. نتایج گروه‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار Statistica و آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه و دوطرفه و نیز Tukey HSD test مقایسه شدند و مقدار p کمتر از ۰/۰۵ به عنوان تفاوت معنی‌دار تلقی شد.

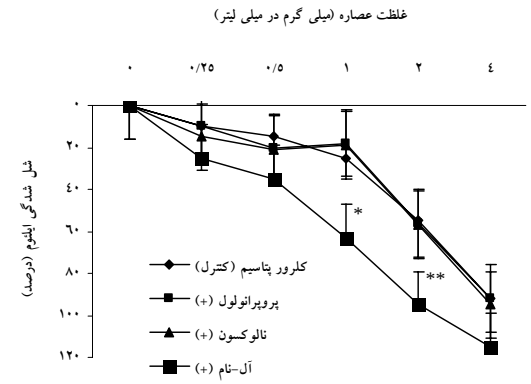
نتایج

الف) تاثیر عصاره‌ی برگ کرفس بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم و کارباکول: نمودار شماره‌ی ۱ نشان می‌دهد که غلظت‌های تجمعی عصاره‌ی برگ کرفس به صورت وابسته به غلظت، انقباضات ناشی از کلرورپتاسیم (n=۱۰ و ۶۰mM) و کارباکول (n=۹ و ۱۰ µM) را کاهش می‌دهد (p<۰/۰۰۰۱، ANOVA یک‌طرفه). مقایسه‌ی آماری نتایج به کمک آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین اثرات ضدانقباضی عصاره برای دو ماده‌ی منقبض‌کننده کلرورپتاسیم و کارباکول وجود ندارد. همچنین، اختلاف معنی‌داری بین تاثیر هر یک غلظت‌های عصاره بر عملکرد انقباضی این دو محرک نیز وجود ندارد.



نمودار ۱- مقایسه اثر ضد انقباضی غلظت‌های تجمعی عصاره‌ی آبی ـ الکلی برگ کرفس بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم و کارباکول در ایلئوم موش صحرایی

ب- عملکرد مهاری عصاره‌ی برگ کرفس بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم در حضور پروپرانولول، نالوکسون و یا L-NAME: اینکوبه کردن (۲۰ تا ۳۰ دقیقه) بافت با آنتاگونیست گیرنده‌های بتاآدرنرژیک (پروپرانولول، ۱µM، n=۹)، گیرنده‌های اوپیوئیدی توسط نالوکسون (n=۸، ۱µM) و نیز مهار تولید نیتریک‌اکساید به وسیله‌ی L-NAME (n=۸، ۱۰۰µM) سبب کاهش عملکرد ضدانقباضی عصاره نشدند. مقایسه‌ی آماری نتایج با کمک آنالیز واریانس دوطرفه نشان می‌دهد که پروپرانولول موجب افزایش اثر ضدانقباضی عصاره شده است (p<۰/۰۵). این نمودار همچنین مقایسه‌ی آماری اثر ضدانقباضی غلظت‌های ۱ و ۲ mg/ml عصاره در غیاب و در حضور پروپرانولول را نشان می‌دهد.

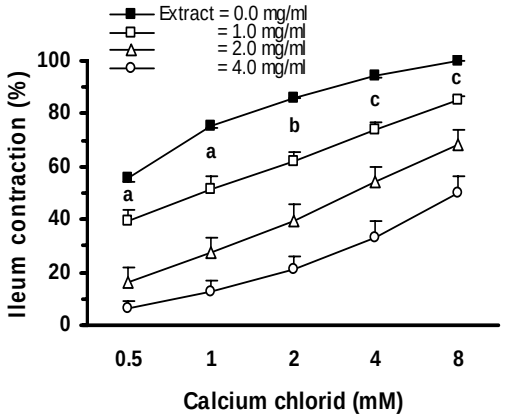


نمودار ۲- مقایسه عملکرد مهاری غلظت‌های تجمعی عصاره آبی ـ الکلی برگ کرفس بر انقباض ناشی کلرورپتاسیم قبل و بعد از اینکوبه کردن ایلئوم با پروپرانولول

(n=۹، ۳۰ دقیقه و ۱µM)، نالوکسون (n=۸، ۳۰ دقیقه و ۱µM) و L-NAME (ال- نام، n=۸، ۲۰ دقیقه و ۱۰۰µM). تمام مقایسه‌ی آماری انجام شده با نتایج کنترل (کلرور پتاسیم) انجام شده است (p<۰/۰۵: *، p<۰/۰۱:**).

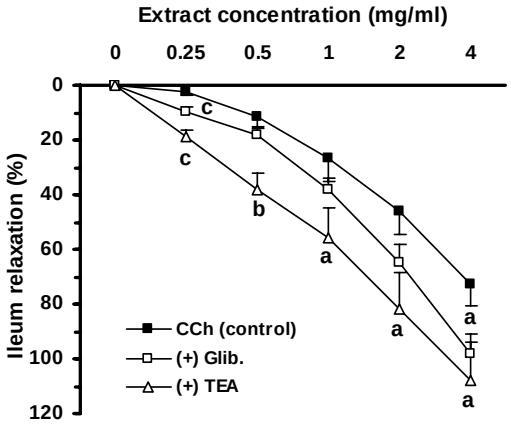
Archive of SID
www.SID.ir

ج) تاثیر عصاره‌ی برگ کرفس بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرورکلسیم: در محلول تایرود بدون کلسیم دارای کلرورپتاسیم زیاد (٦۰mM)، اضافه کردن غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم به حمام بافت موجب انقباض وابسته به کلسیم در ایلئوم گردید (p<۰/۰۰۰۱، آنالیز واریانس یک‌طرفه). اینکوبه کردن بافت (min ۳) با غلظت‌های مختلف عصاره سبب کاهش انقباض ناشی از کلرورکلسیم گردید. همان طوری که در نمودار شماره‌ی ۳ مشاهده می‌شود این تاثیر ضدانقباضی وابسته به غلظت عصاره می‌باشد. اثر غلظت‌های تجمعی کلرورکلسیم در غیاب و نیز در حضور کمترین غلظت عصاره (mg/ml ۱) دارای اختلاف معنی‌دار هستند (n=۷، آنالیز واریانس دوطرفه p<۰/۰۰۰۱). مقایسه‌ی آماری عملکرد انقباضی غلظت‌های مختلف کلرور کلسیم در غیاب و در حضور کم‌ترین غلظت عصاره (نمودار شماره‌ی ۳) نیز نشان داده شده‌اند.



نمودار ۳- مقایسه عملکرد انقباضی غلظت‌های تجمعی مختلف کلرورکلسیم با ایلئوم در موش صحرایی (در محلول تایرود بدون کلسیم دارای غلظت زیاد کلرورپتاسیم) در غیاب (۰/۰mg/ml) و پس از ۳ دقیقه حضور غلظت‌های مختلف عصاره آبی ـ الکلی برگ کرفس ایلئوم موش صحرایی. پاسخ انقباضی بافت به بیشترین غلظت کلرورکلسیم (mM ۸) و در غیاب عصاره به عنوان پاسخ ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شده و مقایسه‌ی آماری فقط بین غلظت صفر و mg/ml ۱ عصاره انجام شده است (p<۰/۰۵:*، p<۰/۰۱:**، p<۰/۰۰۱:*** و n=۷).

د) تاثیر مهاری عصاره برگ کرفس بر انقباض ایلئوم ناشی از کارباکول در حضور مسدودکنندگان کانال‌های پتاسیمی: اینکوبه کردن ایلئوم (۵ دقیقه) با مسدودکننده‌ی کانال‌های پتاسیمی وابسته به ATP (گلیبنکلامید، μM ۱۰) و یا مسدودکننده‌ی کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم (تترااتیل آمونیوم، mM ۱) تاثیر مهاری عصاره بر انقباض ناشی از کارباکول (μM ۱۰) را کاهش نداد. در نمودار شماره‌ی ٤ دیده می‌شود که در حضور تترااتیل آمونیوم کلیه‌ی غلظت‌های عصاره اثر مهاری قوی‌تری را نسبت به حالت کنترل (کنترل) نشان دادند (p<۰/۰۵ تا p<۰/۰۰۰۱). در حضور گلیبنکلامید نیز تاثیر ضدانقباضی عصاره در غلظت‌های ۰/۲۵ و mg/ml ٤ تقویت شد. مقایسه‌ی نتایج عملکرد عصاره در غیاب و در حضور تترااتیل آمونیوم با استفاده از آزمون آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که دو منحنی به دست آمده اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند (p<۰/۰۰۱).



نمودار ٤- مقایسه عملکرد مهاری غلظت‌های تجمعی عصاره آبی- الکلی برگ کرفس بر انقباض ناشی کارباکول (μM ۱۰، n=۹) قبل (کنترل) و بعد از ۵ دقیقه اینکوبه کردن ایلئوم با گلیبنکلامید (μM ۱۰ و n=۸) و تترااتیل آمونیوم (mM ۱ و n=۸). کلیه مقایسه‌های آماری انجام شده با نتایج کنترل (کارباکول) انجام شده است (p<۰/۰۵:*، p<۰/۰۱:**، p<۰/۰۰۰۱:***).

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره‌ی آبی ـ الکلی برگ کرفس سبب مهار انقباض ناشی از کلرورپتاسیم (محرک غیرگیرنده‌ای) و کارباکول (محرک گیرنده‌ای) در ایلئوم موش صحرایی می‌گردد. عملکرد مهاری عصاره به طور کامل برگشت‌ناپذیر نبوده و شستشو و تعویض محلول حمام سبب از بین رفتن کامل اثر ضدانقباضی عصاره نمی‌شد. ثبت انقباض ناشی از کلرورپتاسیم و کارباکول به مدت ۲۵ دقیقه نشان داد که در طول مدت یاد شده انقباض دچار کاهش ناشی از خستگی نشده و لذا اثرات مشاهده شده ناشی از اثرات ضد انقباضی عصاره بوده است. افزایش غلظت کلسیم درون سلولی عامل اصلی تنظیم تانسیون عضله صاف می‌باشد [۱۸] و گزارش شده است که انقباض ناشی از کلرورپتاسیم با دخالت کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ انجام

Archive of SID

www.SID.ir

شده [۱۹] و وجود کانال‌های نوع L در ایلئوم موش صحرایی به اثبات رسیده [۲۰] و پیشنهاد شده است موادی که بتوانند انقباض ناشی از کلرورپتاسیم را در عضله‌ی صاف مهارکننده، اثر خود را از طریق انسداد این کانال‌ها به انجام می‌رسانند [۲۱] و لذا می‌توان احتمال داد که عصاره‌ی حاضر نیز از همین روش جهت مهار انقباض بهره گرفته است. نتایج این تحقیق با گزارش ارایه شده درباره آپیجنین کرفس هم‌خوانی دارد که طی آن مشخص شده است که ماده یاد شده با مهار ورود کلسیم از کانال‌های وابسته به ولتاژ و نیز کانال‌های گیرنده‌ای کلسیم سبب شل شدن آئورت گردیده است [۱۶]. قابل ذکر است که آپیجنین (از گروه فلاوونوئیدها) فراوان‌ترین ماده‌ی مهم متشکله کرفس بوده [۲۲] و اثر ضداسپاسم آن نیز گزارش شده است [۲۳]. کارباکول آگونیست گیرنده‌های موسکارینی است که توسط آنزیم استیل‌کولین استراز تخریب نشده [۲۴] و از طریق گیرنده‌های M_2 و M_3 سبب انقباض ایلئوم می‌گردد [۲۵]. پیوند کارباکول با این گیرنده‌ها سبب فعال شدن کانال‌های کلسیم، افزایش کلسیم درون سلولی و در نهایت انقباض ایلئوم می‌گردد [۲۶]. علاوه بر این کارباکول با فعال کردن فسفولیپاز C و افزایش تولید اینوزیتول تری‌فسفات (IP_3) سبب تقویت رهایش کلسیم از منابع درون سلولی می‌گردد [۲۷]. مقایسه‌ی آماری (آنالیز واریانس دوطرفه) نتایج مربوط به اثر مهاری عصاره بر انقباض ناشی از این دو ماده منقبض‌کننده نشان داد این دو اختلاف معنی‌داری با هم ندارند. بنابراین می‌توان پیشنهاد نمود که عملکرد مهاری عصاره از طریق ممانعت از ورود کلسیم بوده است زیرا، این دو محرک انقباض حداقل در مورد افزایش ورود کلسیم از طریق کانال‌ها اشتراک عمل دارند لذا احتمال دارد که عصاره از طریق انسداد این کانال‌ها تاثیر مهاری خود را اعمال کرده باشد. نتایج اثر مهاری عصاره بر انقباض ناشی از کلرورکلسیم نیز می‌تواند موید درستی این احتمال باشد. زیرا در محلول تایرود بدون کلسیم دارای پتاسیم زیاد، بافت فقط دپولاریزه شده [۲۸] ولی انقباض آن مشروط به اضافه کردن کلسیم به محیط می‌باشد [۲۶]. عصاره‌ی حاضر نمی‌تواند دارای خاصیت آنتاگونیستی با گیرنده‌های موسکارینیک باشد زیرا در آن صورت فقط قادر به مهار انقباض ناشی از کارباکول بود و تاثیری بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم نداشت. با توجه به اینکه میزان انقباض ناشی از این محرک اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند لذا چنانچه عصاره علاوه بر ممانعت از ورود کلسیم به طریقی سبب مهار رهایش کلسیم از منابع درون سلولی می‌گردید می‌بایست اثر عصاره بر انقباض ناشی از کارباکول قوی‌تر می‌بود. فعال شدن گیرنده‌های بتاآدرنرژیک موجب مهار انقباض ایلئوم می‌گردد [۲۹] ولی پروپرانولول نه فقط موجب کاهش اثر شل‌کننده‌ی عصاره ایجاد نکرد بلکه موجب تقویت این اثر در بعضی از غلظت‌های عصاره نیز شد. اگرچه توجیه و تفسیر این پدیده دشوار می‌باشد ولی در هر صورت عدم اثر کاهنده‌ی پروپرانولول بیانگر عدم دخالت این گیرنده‌های بتاآدرنرژیک در عملکرد عصاره می‌باشد. فعال شدن گیرنده‌های اوپیوئیدی نیز سبب شل شدن ایلئوم می‌گردند [۳۰] ولی ناتوانی نالوکسون (آنتاگونیست غیرانتخابی این گیرنده‌ها) در کاهش عملکرد مهاری عصاره موید عدم دخالت این گیرنده‌ها می باشد. همچنین گزارش شده است که افزایش تولید NO و در پایان افزایش cGMP سبب شل شدن ایلئوم می‌شود [۳۱] ولی عدم تاثیر L-NAME (مهارکننده‌ی نیتریک‌اکساید سینتاز) بر عملکرد مهاری عصاره موید عدم دخالت تولید نیتریک‌اکساید در عملکرد مهاری عصاره می‌باشد. در همین راستا گزارش شده است که اثر آپیجنین کرفس موجب شل شدن آئورت گردیده ولی این اثر با دخالت NO و cGMP نبوده است [۱۶]. با توجه به احتمال فعال شدن کانال‌های پتاسیمی وابسته به ATP و کلسیم توسط ترکیبات عصاره در این تجربه، به ترتیب از گلیبن‌کلامید و تترااتیل آمونیوم [۳۲، ۳۳] استفاده شد. نتایج نشان داد که حضور این دو مسدد کانال‌های پتاسیمی سبب کاهش عملکرد مهاری عصاره نشدند. اگرچه گزارش شده است که تترااتیل آمونیوم مسدودکننده غیرانتخابی این دو نوع کانال پتاسیمی می‌باشد [۳۴] ولی در هر صورت نتایج موید عدم دخالت این کانال‌ها می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتیجه کلی این تحقیق نشان داد که احتمالا عصاره‌ی حاضر با دخالت کانال‌های کلسیمی موجب کاهش انقباض در ایلئوم گردیده که با گزارشی که طی آن گیاه کرفس جزء دسته گیاهان ضداسپاسم تقسیم‌بندی شده است هم‌خوانی دارد [۷] و احتمالا فلاوونوئید آپیجنین آن، مسوول وقوع این اثر ضدانقباضی می‌باشد [۲۳] ولی اثبات دقیق تاثیر کرفس بر روند ورود کلسیم به طور یقین نیازمند مطالعات الکتروفیزیولوژی در مورد ورود کلسیم به سلول‌های عضله صاف ایلئوم خواهد بود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از حمایت مالی دانشگاه پیام نور اصفهان و نیز گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز جهت اجرای این تحقیق صمیمانه تشکر می‌نمایند. همچنین از همکاری سرکار خانم دکتر عاقل متخصص فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز در شناسایی

Archive of SID
www.SID.ir

نمونه‌ی گیاه کرفس و نیز از آقای دکتر محمـد بـدوی در بررسـی آماری نتایج صمیمانه قدردانی می‌گردد.

References:

[1] Black RE. Brown KH. Becker S. Yunus M. Longitudinal studies of infectious diseases and physical growth of children in rural Bangladesh. I. Patterns of morbidity. ***Am J Epidemiol*** 1982; 115: 305-314.
[2] Yegnanarayan R. Shrotri DS. Comparison of antidiarrheal activity of some drugs in experimental diarrhea. ***Ind J Pharmacol*** 1982; 14: 293-299.
[3] Clark AM. Natural products as a resource for new drugs. ***Pharm Res*** 1996; 13: 1133-1144.
[4] Austin DF. Ipomoea littoralis (Convolvulaceae)-taxonomy, distribution and ethnobotany. ***Econ Bot*** 1991; 45: 251-256.
[5] Lin LZ. Lu S. Harnly JM. Detection and quantification of glycosylated flavonoid malonates in celery, Chinese celery, and celery seed by LC-DAD-ESI/MS. ***J Agric Food Chem*** 2007; 55: 1321-1326.
[6] Lans CA. Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus. ***J Ethnobiol Ethnomed*** 2006; 2: 45.
[7] Yarnell E. Botanical medicines for the urinary tract. ***World J Urol*** 2002; 20: 285-293.
[8] Popovic M. Kaurinovic B. Trivic S. Mimica-Dukic N. Bursac M. Effect of celery (Apium graveolens) extracts on some biochemical parameters of oxidative stress in mice treated with carbon tetrachloride. ***Phytother Res*** 2006; 20: 531-537.
[9] Ching LS. Mohamed S. Alpha-tocopherol content in 62 edible tropical plants. ***J Agric Food Chem*** 2001; 49: 3101-3105.
[10] Sultana S. Ahmed S. Jahangir T. Sharma S. Inhibitory effect of celery seeds extract on chemically induced hepatocarcinogenesis: modulation of cell proliferation, metabolism and altered hepatic foci development. ***Cancer Lett*** 2005; 221: 11-20.
[11] Singh A. Handa SS. Hepatoprotective activity of Apium graveolens and Hygrophila auriculata against paracetamol and thioacetamide intoxication in rats. ***J Ethnopharmacol*** 1995; 49: 119-125.
[12] Rani P. Khullar N. Antimicrobial evaluation of some medicinal plants for their anti-enteric potential against multi-drug resistant Salmonella typhi. ***Phytother Res*** 2004; 18: 670-673.
[13] Atta AH. Alkofahi A. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts. ***J Ethnopharmacol*** 1998; 60: 117-124.
[14] Tsi D. Das NP. Tan BK. Effects of aqueous celery (Apium graveolens) extract on lipid parameters of rats fed a high fat diet. ***Planta Med*** 1995; 61: 18-21.
[15] Jakovljevic V. Raskovic A. Popovic M. Sabo J. The effect of celery and parsley juices on pharmacodynamic activity of drugs involving cytochrome P450 in their metabolism. ***Eur J Drug Metab Pharmacokinet*** 2002; 27: 153-156.
[16] Ko FN. Huang TF. Teng CM. Vasodilatory action mechanisms of apigenin isolated from Apium graveolens in rat thoracic aorta. ***Biochim Biophys Acta*** 1991; 1115: 69-74.
[17] Franck H. Storr M. Puschmann A. Schusdziarra V. Allescher HD. Involvement of intracellular Ca^{2-} stores in inhibitory effects of NO donor SIN-1 and cGMP. ***Am J Physiol*** 1998; 275: 159-168.
[18] Madeira SV. Matos FJ. Leal-Cardoso JH. Cridddle DN. Relaxant effects of the essential oil of Ocimum gratissimum on isolated ileum of the guinea pig. ***J Ethnopharmacol*** 2002; 81: 1-4.
[19] Bolton TB. Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. ***Physiol Rev*** 1979; 59: 606-718.
[20] El Bardai S. Hamaide MC. Lyoussi B. Quetin-Leclercq J. Morel N. Wibo M. Marrubenol interacts with the phenylalkylamine binding site of the L-type calcium channel. ***Eur J Pharmacol*** 2004; 492: 269-272.
[21] Gilani AH. Aziz N. Khurram IM. Chaudhary KS. Iqbal A. Bronchodilator, spasmolytic and calcium antagonist activities of Nigella sativa seeds (Kalonji): a traditional herbal product with multiple medicinal uses. ***J Pak Med Assoc*** 2001; 51: 115-120.
[22] Perry LM. Medicinal plants of East and South-East Asia London: MIT Press: 1980. p. 413.
[23] Lemmens-Gruber R. Marchart E. Rawnduzi P. Engel N. Benedek B. Kopp B. Investigation of the spasmolytic activity of the flavonoid fraction of Achillea millefolium s.l. on isolated guinea-pig ilea. ***Arzneimittelforschung*** 2006; 56: 582-588.
[24] Lebrun F. Francois A. Vergnet M. Lebaron-Jacobs L. Griffiths NM. Ionizing radiation stimulates muscarinic regulation of rat intestinal mucosal function. ***Am J Physiol*** 1998; 275: 1333-1340.
[25] Coulson FR. Jacoby DB. Fryer AD. Insulin regulates neuronal M_2 muscarinic receptor function in the ileum of diabetic rats. ***J Pharmacol Exp Ther*** 2004; 308: 760-766.
[26] Zhang WW. Li Y. Wang XQ. Tian F. Cao H. Wang MW. et al. Effects of magnolol and honokiol derived from traditional Chinese herbal remedies on gastrointestinal movement. ***World J Gastroenterol*** 2005; 11: 4414-4418.
[27] Pacaud P. Feolde E. Frelin C. Loirand G. Characterization of the P2Y-purinoceptor involved in the ATP-induced rise in cytosolic Ca^{2+} concentration in rat ileal myocytes. ***Br J Pharmacol*** 1996; 118: 2213-2219.
[28] Fujimoto S. Mori M. Characterization of capsaicin-induced, capsazepine-insensitive relaxation of ileal smooth muscle of rats. ***Eur J Pharmacol*** 2004; 487: 175-182.

Archive of SID

www.SID.ir

[29] van der Vliet A Rademaker B. Bast A. A beta adrenoceptor with atypical characteristics is involved in the relaxation of the rat small intestine. ***J Pharmacol Exp Ther*** 1990; 255: 218-226.
[30] Gray AC. White PJ. Coupar IM. Characterisation of opioid receptors involved in modulating circular and longitudinal muscle contraction in the rat ileum. ***Br J Pharmacol*** 2005; 144: 687-694.
[31] Kanada A. Hata F. Suthamnatpong N. Maehara T. Ishii T. Takeuchi T. et al. Key roles of nitric oxide and cyclic GMP in nonadrenergic and noncholinergic inhibition in rat ileum. ***Eur J Pharmacol*** 1992; 216: 287-292.
[32] Nishida S. Satoh H. Mechanisms for the vasodilations induced by Ginkgo biloba extract and its main constituent, bilobalide, in rat aorta. ***Life Sci*** 2003; 72: 2659-2667.
[33] Kafal H. Kaya T. Gursoy S. Bagcivan I. Karadas B. Sarioglu Y. The role of K(+) channels on the inhibitor effect of sevoflurane in pregnant rat myometrium. ***Anesth Analg*** 2002; 94: 174-178.
[34] Kim ND. Kang SY. Park JH. Schini-Kerth VB. Ginsenoside Rg3 mediates endothelium-dependent relaxation in response to ginsenosides in rat aorta: role of K+ channels. ***Eur J Pharmacol*** 1999; 367: 41-49.

Archive of SID

www.SID.ir