

اثر عصاره برگ مو بر قلب پرفیوز شده قورباغه

دکتر محمد کاظم غریب ناصری *

* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اهواز، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

چکیده

مو از خانواده Vitaceae بوده و در طب سنتی برگ آن را برای درمان اسهال، واریس و نقرس مفید می‌دانند. بنا به بعضی از گزارشها عصاره آبی الکلی برگ مو سبب کاهش انقباض ناشی از استیل کولین و کلرور پتاسیم در ایلئوم و رحم موش صحرایی می‌گردد. هدف این تحقیق بررسی اثر عصاره آبی الکلی برگ مو بر قلب پرفیوز شده قورباغه است. قلب قورباغه‌های مغزی نخاعی شده از طریق Vena cava بوسیله محلول رینگر پرفیوز شدند. شاخه راست آئورت بسته و شاخه چپ کانوله شد تا محلول پرفوزیون از قلب خارج گردد. فعالیت مکانیکی قلب تحت ۱ گرم کشش اولیه با کمک ترانس دیوسر ایزوتونیک ثبت گردید. عصاره گیری برگ مو با کمک الکل ۷۰٪ به مدت ۷۲ ساعت تهیه و حلال آن تبخیر شد. غلظتهای بکار رفته عصاره ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ mg/ml بود که در رینگر ورودی به قلب وارد می‌شد. نتایج نشان داد که عصاره آبی الکلی برگ مو به صورت وابسته به غلظت، سبب کاهش تعداد ضربان و نیروی انقباضی قلب قورباغه می‌شود. استیل کولین سبب کاهش فعالیت قلب گردید که این اثر بوسیله آتروپین از بین رفت ولی آتروپین قادر به از بین بردن اثرات مهارى ناشی از عصاره برگ مو به میزان ۲ mg/ml نبود. اثرات تحریکی ناشی از آپی نفرین (۲۰ µg/ml) نیز بوسیله عصاره مهار شد. تحریک الکتریکی قلب (۱۰V، ۱ms، ۱Hz) به مدت ۱۰ ثانیه که حتی در حضور وراپامیل (۱µM) بر قلب مؤثر بود، در حضور عصاره (۲ mg/ml) اثری بر قلب نداشت. با توجه به این نتایج می‌توان احتمال داد که عصاره آبی الکلی برگ مو اثر مهارى خود را بر قلب قورباغه از طریق سیستم کولینرژیک اعمال نکرده و احتمالاً با انسداد کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ عمل می‌کند. (مجله طبیب شرق، سال پنجم، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۲، ص ۲۲۷ تا ۲۳۵)

کلواژه ها: عصاره برگ مو، قلب، قورباغه، استیل کولین، وراپامیل، آپی نفرین

مقدمه

می‌شود که خاصیت آنتی اکسیدانی قوی انگور عامل اصلی بروز پدیده French paradox باشد.^(۵) بنا براین نظریه، فرانسویها با وجودیکه مشابه انگلیسیها از منابع غذایی پرچرب و پرکلسترول بسیار استفاده می‌کنند، ولی کمتر از انگلیسیها به انفارکتوس قلبی ناشی از این نوع تغذیه مبتلا می‌شوند و علت آنرا مصرف شراب قرمز تهیه شده از انگور قرمز می‌دانند.^(۶) این گیاه کبد را در برابر اثرات الکل سمی محافظت می‌کند.^(۷) در معدودی از کشورها از جمله ایران از برگ مو در رژیم غذایی (دلمه برگ

مو یا انگور با نام علمی Vitis vinifera گیاهی از خانواده Vitaceae است که منشاء انتشار آن را آسیای صغیر می‌دانند^(۱) ولی هم اکنون در نیمکره‌های شمالی و جنوبی کره زمین پرورش داده می‌شود. ساقه مو بالا رونده و برگهای پنجه‌ای و میوه آن به سه شکل نرسیده (غوره)، رسیده (انگور) و خشک (کشمش) مصرف می‌شود.^(۲) دانه انگور مخصوصاً انگور قرمز سرشار از مواد آنتی اکسیدانی پروآنتوسیانیدین بوده و این اثر از اثرات ویتامینهای C و E در این مورد بیشتر است.^(۳،۴) تصور

خشک عصاره به دست آمد. در هنگام استفاده، عصاره در محلول رینگر حل شد بطوری که با غلظت مورد نظر به قلب برسد.

ب - آماده سازی قلب: قورباغه های نر و ماده

($51 \pm 5/6$ g) مغزی نخاعی شدند و پس از باز کردن شکم، از زیر آئورت های چپ و راست نخ عبور داده و گره های شل زده شد. با مشخص کردن Vena cava گره شلی دور آن زده شد. پس از ایجاد شیار کوچکی روی آن، کاتتر (با قطر 1mm) متصل به ستون مایع رینگر وارد آن شد. حجم ستون 10ml و ارتفاع سطح آن از قلب 5/5cm بود. ستون رینگر به مخزن محلول رینگر اتصال داشت و ارتفاع آن طوری تنظیم می شد که ارتفاع محلول رینگر در ستون متصل به قلب همواره 5/5cm باشد. گره آئورت راست محکم شد و با ایجاد شیار کوچکی بر روی آئورت چپ، کاتتری با قطر 1mm وارد آن شد. بدین ترتیب محلول رینگر پس از ورود از طریق Vena cava و مشروب کردن قلب، از آئورت چپ خارج می شد. ^(۱۳) نوک قلب بوسیله گیره استیل و نخ به بازوی ترانس دیوسر ایزوتونیک (Harvard) متصل شد و فعالیت مکانیکی قلب بوسیله دستگاه ثبات (Harvard Universal Oscillograph) بر روی کاغذ با سرعت 1 mm/s ثبت می شد. کشش اولیه به قلب 1g و جریان دائم حبابهای اکسیژن در مخزن اصلی رینگر برقرار بود. عصاره با غلظت معین به ستون رینگر اضافه می شد بطوریکه غلظتهای نهایی 0/25، 0/5، 1، 2 و 4mg/ml در ستون ایجاد شود. ترکیب محلول رینگر بر حسب میلی مول در لیتر به قرار زیر می باشد: کلرور سدیم (102/6)، کلرور پتاسیم (1/01)، کلرور کلسیم (0/91) و بیکربنات سدیم (1/19). ^(۱۴) غلظتهای نهایی استیل کولین (1μM)، اپی نفرین (20μg/ml)، وراپامیل (1μM) و آتروپین نیز (1μM) بهمین ترتیب در محلول رینگر تهیه و اثر داده شدند. کلیه نمکها و استیل کولین محصول شرکت مرک آلمان، وراپامیل از شرکت Lek Ljubljana (جمهوری

طیب شرق، سال پنجم، شماره ۴، زمستان ۸۲

مو) به طور محدود استفاده می شود. اخیراً گزارش شده است که عصاره برگ مو اثرات انقباضی کلرورپتاسیم و اکسی توسین را در رحم موش کاهش می دهد ^(۸) و همچنین این عصاره سبب مهار انقباض ایلئوم موش صحرایی در پاسخ به کلرورپتاسیم و استیل کولین می گردد. ^(۹) در دو مطالعه فوق احتمال داده شده که این عصاره بخشی از اثر مهار خود را از طریق انسداد کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ عملی می سازد. در مورد علت انتخاب قلب قورباغه بعنوان حیوان آزمایشگاهی در این تحقیق می توان به موارد زیر اشاره نمود. قلب قورباغه با نداشتن عروق کرونر ^(۱۰) و عدم نیاز به اکسیژن کردن محلول پرفوزیون، ^(۱۱) عدم ابتلاء آن به استرس در نتیجه دستکاری، ^(۱۲) سهولت نگهداری و تحمل مطلوب دوره آزمایش انتخاب گردید. نداشتن عروق کرونر و وجود امکان تغذیه و اکسیژن گیری از سطح ^(۱۰) سبب می شود کار با قلب قورباغه آسانتر بوده و بنا به مشاهدات آزمایشگاهی، حتی ورود هوا در قلب، موجب اختلال در عملکرد قلب نمی گردد. در تجربیات قلب ایزوله پستانداران، قلب تحت تأثیر اکسید نیتریک (NO) مترشحه از دو منبع عروق کرونر و اندوتلیال اندو کاردیوم قرار می گیرد. در حالی که در مورد قورباغه بعلت فقدان عروق کرونر، تنها منبع اکسید نیتریک، اندوتلیال اندو کاردیوم می باشد. ^(۱۰) هدف تحقیق حاضر بررسی اثرات عصاره آبی الکلی برگ مو بر عملکرد قلب پرفیوز شده قورباغه و تا حد امکان، روشن نمودن مکانیسم اثر آن می باشد.

روش کار

الف - روش عصاره گیری: در اوایل فروردین ماه، برگهای مو پس از شستن و خشک کردن در سایه آفتاب، آسیاب شدند. پودر برگ با الکل ۷۰ درصد به نسبت ۱۰۰ g پودر و 450ml الکل مخلوط و به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. عصاره از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده و سپس حلال عصاره در دمای آزمایشگاه تبخیر گردید و پودر

ابتدا غلظت $1\mu\text{M}$ استیل کولین بر قلب اثر داده و در حالتی که نیروی انقباضی قلب کاهش یافته بود (در مواردی موجب توقف ضربان می گردید)، آتروپین ($1\mu\text{M}$) به ستون رینگر اضافه شد. همانطوریکه در نمودار ۲ دیده می شود، آتروپین اثر مهارى استیل کولین را کاهش داده است. در مرحله بعد و پس از برگشت فعالیت قلب به حالت عادی، عصاره با غلظت 2mg/ml به محلول پرفوزیون اضافه شد که اکثراً سبب توقف ضربان قلب گردید ولی اضافه کردن آتروپین ($1\mu\text{M}$) سبب برگشت ضربان و نیروی انقباضی قلب نگردید. تغییرات ضربان قلب طی همین مراحل در این نمودار نیز مشاهده می شود. نمونه ثبت شده از این اثرات در نمودار ۵ (B) دیده می شود.

ج - تأثیر عصاره بر عملکرد اپی نفرین بر قلب

غلظت $20\mu\text{g/ml}$ اپی نفرین موجب $24/1 \pm 33/1$ درصد افزایش در تعداد ضربان و نیروی انقباضی قلب پرفیوز شده قورباغه به میزان $15/9 \pm 13/5$ درصد گردید. اما پس از برگشت قلب به حالت عادی، اضافه کردن عصاره با غلظت 2mg/ml به ستون رینگر موجب می شود تا تعداد ضربان قلب $10/2 \pm 75/5$ درصد و نیروی انقباضی قلب نیز به میزان $10/2 \pm 99/1$ درصد کاهش یابد. تأثیر کاهنده عصاره بر تعداد ضربان و نیروی انقباضی قلب در حضور اپی نفرین از نظر آماری هر دو قابل ملاحظه می باشند (به ترتیب $P < 0/01$ و $P < 0/001$). نمونه ثبت این اثرات در نمودار ۵ (C) دیده می شود.

د - مقایسه اثرات وراپامیل و عصاره برگ مو بر

عملکرد قلب

ابتدا اثر غلظت $1\mu\text{M}$ وراپامیل^(۱۶) بر ضربان قلب ثبت گردید که طی آن وراپامیل تعداد ضربان قلب را $3/9 \pm 9/2$ درصد کاهش داد. پس از این مرحله و بعد از برگشت ضربان قلب به حالت استراحت، عصاره با غلظت نهایی 2mg/ml به مایع پرفوزیون اضافه گردید. مشاهده شد که

اسلواکی) و اپی نفرین و آتروپین از داروپخش تهیه شده بودند. جهت تحریک الکتریکی قلب نیز، یک جفت الکتروود نقره‌ای با فاصله 1mm با دیواره دهلیز قلب تماس داده شد. مشخصات تحریکات^(۱۵) صادره (Harvard Kymograph Universal Model) بدین قرار است: 1Hz ، 10V ، 1ms و به مدت 10 ثانیه و اجرای آن حداقل یک دقیقه پس از حضور عصاره اعمال می شد. فاصله زمانی بین بکاربردن غلظتهای مختلف عصاره 10 دقیقه و یا برگشت ضربان به حالت قبل از مصرف عصاره بود. ارتفاع انقباضات ثبت شده بعنوان شاخص نیروی انقباضی قلب استفاده شد و تعداد ضربان قلب با شمارش ضربانهای ثبت شده در یک دقیقه تعیین شدند. نتایج به صورت درصد تغییرات تعداد ضربان و نیروی انقباضی ($\text{mean} \pm \text{SEM}$) و یا مقادیر ضربان قلب ارائه شده و نتایج گروه‌های مختلف با استفاده از آزمونهای t -test و ANOVA مقایسه و مقادیر P کمتر از $0/05$ معنی دار تلقی گردید.

یافته ها

الف - اثر غلظتهای مختلف عصاره برگ مو بر ضربان

و نیروی انقباضی قلب

نمودار ۱ نشان می دهد که عصاره آبی الکلی برگ مو در غلظتهای نهایی $0/25$ ، $0/5$ ، 1 ، 2 و 4mg/ml بصورت وابسته به غلظت سبب کاهش نیروی انقباض قلب پرفیوز شده قورباغه می گردد (ANOVA, $P < 0/0001$). عصاره در غلظت 2mg/ml ، نیروی انقباضی قلب را تا حدود 100 درصد کاهش داده است. در همین نمودار دیده می شود که کاهش درصد تعداد ضربان قلب نیز وابسته به غلظت عصاره است ($P < 0/0001$ ، ANOVA). نمونه ثبت شده از این اثرات در نمودار ۵ (A) دیده می شود.

ب - مقایسه اثر آتروپین و عصاره برگ مو بر

استیل کولین بر قلب

Fig 1

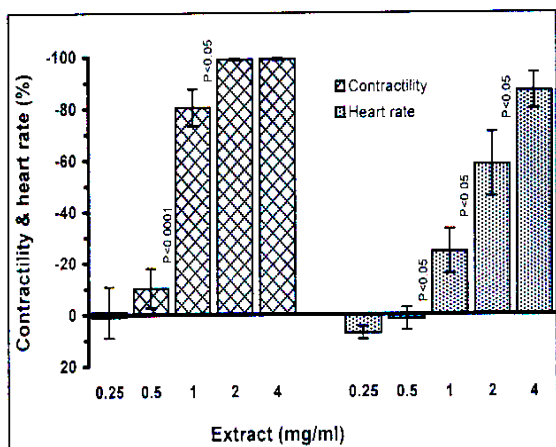


Fig2

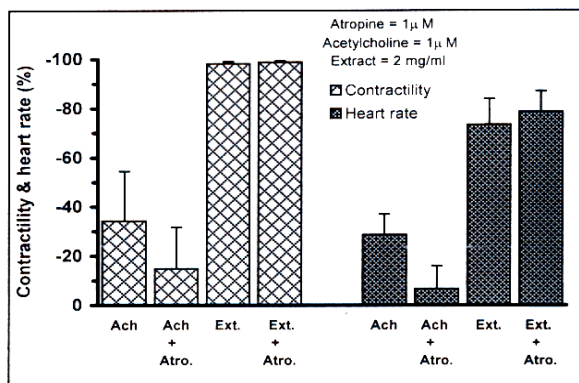
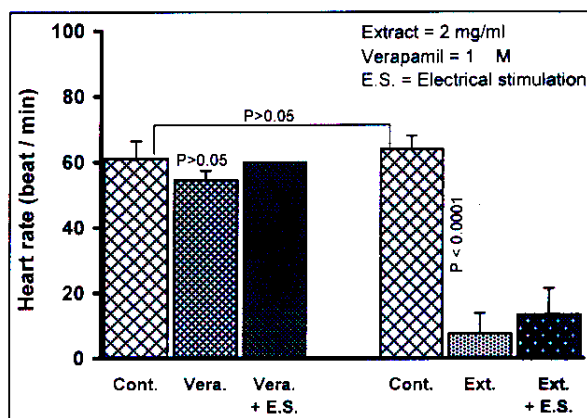


Fig 3



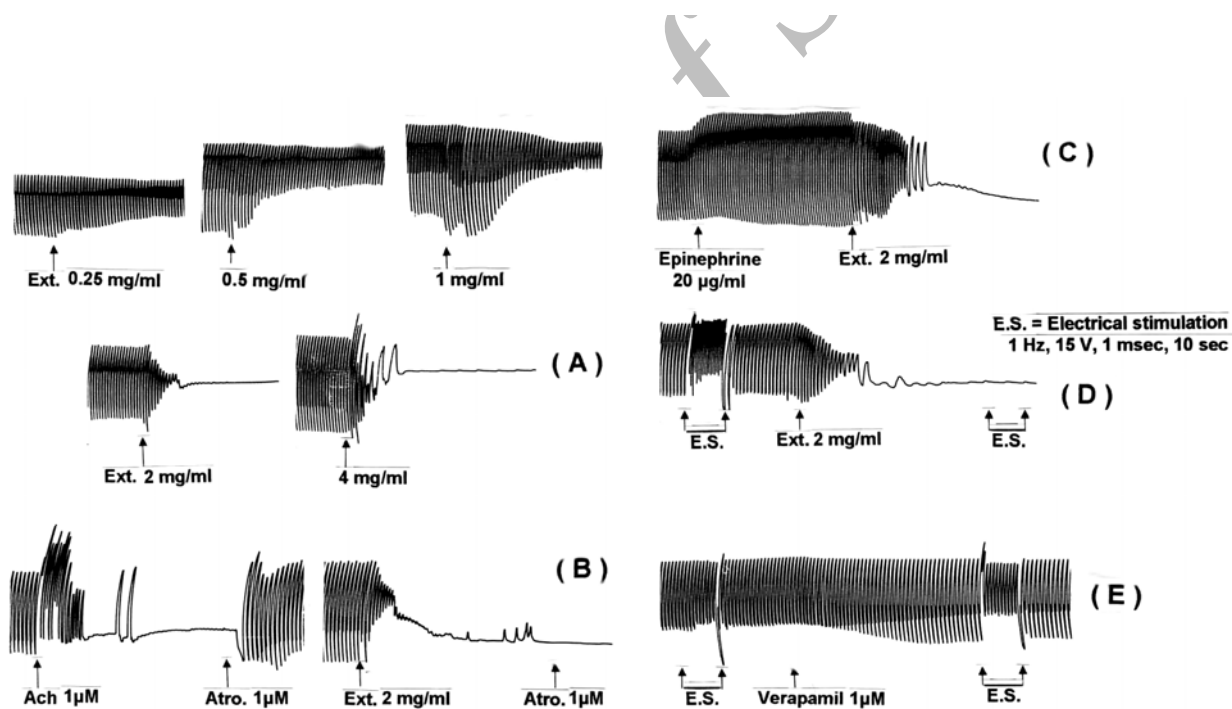
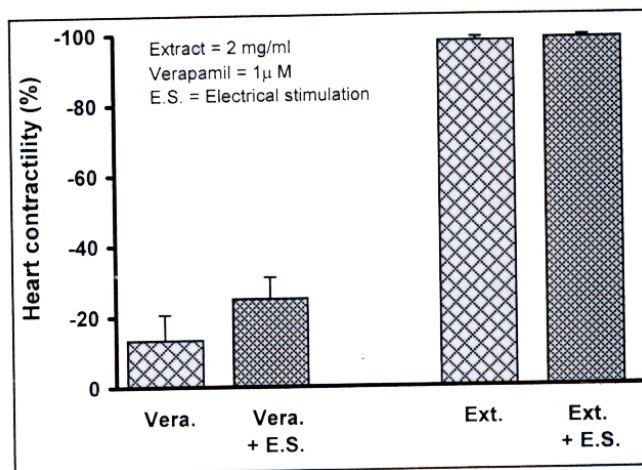
عصاره با غلظت یاد شده، تعداد ضربان قلب را 90.2 ± 7.7 درصد کاهش داد ($P < 0.0001$).

ر- تأثیر تمریک الکتریکی بر قلب در غیاب و در حضور

عصاره برگ مو و نقش وراپامیل بر این اثر

ابتدا در این مرحله دیواره دهلیز قلب به مدت ۱۰ ثانیه مورد تحریک الکتریکی (۱Hz، ۱۰V، ۱ms) قرار گرفت. نتیجه این تحریک بروز اکستراسیستول در ابتدا و انتهای دوره تحریک و تبعیت قلب از فرکانس تحریک اعمال شده بود. پس از قطع تحریک و برگشت ضربان قلب به حالت قبل از تحریک، مراحل قبلی در حضور وراپامیل (۱μM) تکرار شد. همانطوری که در نمودار ۳ مشاهده می شود، وراپامیل سبب کاهش قابل ملاحظه ضربان قلب نشده است و در زمان اجرای تحریک الکتریکی، قلب از فرکانس تحریک الکتریکی (۱Hz) تبعیت نموده است. در بعضی از آزمایشها از وراپامیل با غلظت بیشتر (۵μM) استفاده شد ولی همچنان تحریک الکتریکی اثرات خود را نشان داد. پس از برگشت ضربان و نیروی انقباضی به حالت عادی، همین مراحل در حضور عصاره برگ مو (۲ mg/ml) تکرار شد. اضافه نمودن عصاره به محلول پرفوزیون، تعداد ضربان قلب بطور قابل ملاحظه ($P < 0.0001$) کاهش داد. ولی اجرای تحریک الکتریکی با مشخصات فوق الذکر سبب تغییر قابل ملاحظه در ضربان و تبعیت قلب از فرکانس تحریک نگردید. نیروی انقباضی نیز در حضور وراپامیل (۱μM) به میزان 13.3 ± 7.3 درصد کاهش یافت و اجرای تحریک الکتریکی این کاهش را به 25 ± 6.1 درصد رسانید. در حالیکه کاهش نیروی انقباضی قلب ناشی از غلظت ۲ mg/ml عصاره، 97.8 ± 1.1 درصد بود و اجرای تحریک الکتریکی کاهش نیروی انقباضی را به 98.6 ± 0.7 درصد رساند. تغییرات نیروی انقباضی در نمودار ۴ مشاهده می شود. نمونه ثبت اثر تحریک الکتریکی در حضور عصاره و در حضور وراپامیل در نمودار ۵ (به ترتیب قسمت D و E) مشاهده می شوند.

Fig 4



(A) مقایسه اثر مهارى غلظتهاى ۲۵/۰ تا ۴ mg/ml آبى الكلى برگ مو بر تعداد ضربان و نیروى انقباضى قلب ایزوله قورباغه
 (B) مقایسه اثر مهارى استیل کولین (۱ μM) و عصاره آبى الكلى برگ مو (۲mg/ml) بر ضربان و نیروى انقباضى قلب ایزوله قورباغه و نیز اثر آتروپين (۱ μM) بر این اثرات مهارى

(C) اثر اپینفرین (۲۰ μg/ml) بر ضربان و نیروى انقباضى قلب ایزوله قورباغه و تأثیر مهارى عصاره آبى الكلى برگ مو (۲mg/ml) بر عملکرد اپینفرین
 (D) اثر تحريك الكتریکى قلب ایزوله قورباغه قبل و بعد از تأثیر عصاره آبى الكلى برگ مو (۲mg/ml)
 (E) اثر تحريك الكتریکى قلب ایزوله قورباغه قبل و بعد از تأثیر وراپامیل (۱ μM)

بحث

نتایج مطالعه نشان می‌دهد که عصاره آبی الکلی برگ مو سبب کاهش نیروی انقباضی و ضربان قلب پرفیوز شده قورباغه گردیده است. به طوری که در غلظتهای زیاد عصاره، قلب در حالت دیاستول دچار توقف می‌شد. ولی با وجود اثرات مهاری قوی عصاره در غلظتهای ۲ و ۴ mg/ml، با خروج عصاره از قلب، ضربان طبیعی قلب باز می‌گردید. این اثر مهاری می‌تواند نشان دهنده وجود موادی با خاصیت کولینرژیک در عصاره باشد. ولی عدم توانایی آتروپین در از بین بردن این اثر مهاری، این فرضیه را رد می‌کند. عدم تأثیر تحریک الکتریکی در حضور عصاره نیز نشان می‌دهد که توقف ضربان قلب نتیجه متوقف شدن صدور پیامهای تحریکی از مراکز ضربان ساز قلب مانند گره سینوسی نمی‌باشد زیرا تحریک الکتریکی که قبلاً مؤثر واقع می‌شد در حضور عصاره کارآمد نبود. لذا به نظر می‌رسد تأثیر مهاری عصاره، نتیجه از کار افتادن فعالیت انقباضی سلولهای میوکارد در حضور عصاره و نه از کار افتادن مراکز ضربان ساز باشد. عصاره در غلظتهای پایین موجب افزایش مختصر ضربان قلب می‌شد در حالیکه کاهش نیروی انقباضی قلب با غلظتهای کمتر عصاره شروع گردیده است. نتایج کاهش نیروی انقباضی قلب در حضور این عصاره با نتایج گزارش شده در مورد همین عصاره بر انقباضات رحم موش صحرائی ناشی از کلروپتاسیم و اکسی‌توسین و در مورد انقباض ایلنوم ناشی از کلروپتاسیم و استیل‌کولین، علیرغم تفاوت این اندامها، همخوانی دارد.^(۸ و ۹) در این دو گزارش اخیر پیشنهاد شده است که عصاره برگ مو سبب انسداد کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ می‌گردد. همین پیشنهاد نیز می‌تواند در تجربه حاضر نیز صادق باشد. عقیده بر این است که اپی‌نفرین با افزایش تعداد کانالهای کلسیمی و نفوذپذیر کردن این کانالها سبب افزایش کلسیم درون سلولی شده^(۱۷) که با افزایش cAMP^(۱۸ و ۱۹) موجب افزایش نیروی انقباضی و تعداد ضربان قلب می‌شود.^(۲۰) هم چنین

گزارش شده است که تأثیر تحریکی اپی‌نفرین نتیجه افزایش تولید اینوزیتول فسفاتها در قلب قورباغه است.^(۲۱) کاهش پاسخ قلب به اپی‌نفرین در حضور عصاره در تحقیق حاضر نیز می‌تواند نتیجه انسداد کانالهای کلسیم باشد. در مورد نحوه اثر استیل‌کولین بر قلب نیز نظر بر این است که استیل‌کولین با فعال کردن کانالهای پتاسیم و سپس مهار آدنیل‌سیکلاز و فعال کردن گوانیل‌سیکلاز، موجب افزایش cGMP و در نهایت سبب کاهش ضربان قلب می‌شود.^(۱۸) از محدود تحقیقات انجام شده در مورد عصاره اجزاء مو می‌توان به اثر شل‌کنندگی عصاره دانه انگور بر آنورت اشاره نمود و اثر مشاهده شده را به رهایش اکسید نیتریک و افزایش cGMP نسبت داده‌اند.^(۱۸) به هر صورت فقدان گزارش در مورد اثرات عصاره برگ مو بر عملکرد قلب سایر حیوانات آزمایشگاهی، مقایسه نتایج بدست آمده را با یافته‌های سایر بررسی‌ها غیرممکن می‌سازد. بنابراین گزارش حاضر می‌تواند زمینه وسیعی از تحقیق را در مورد برگ مو فراهم سازد. تعیین مکانیسم دقیق عمل این عصاره نیاز به تحقیق بیشتر در این زمینه دارد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اهواز که در انجام این تحقیق ما را یاری نموده‌اند تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

References

منابع

1. Bamardelli E, Morazzoni P. *Vitis vinifera*. *Fitoterapia* 1995; 66:291-317.
۲. زرگری ع. گیاهان داروئی. جلد اول. انتشارات دانشگاه تهران، سال ۱۳۷۱، ص ۴۰-۵۳۸.
3. Nuttall SL, Kendall MJ, Bamardelli E, et al. An evaluation of the antioxidant activity of a standardized grape seed extract, Leuco select. *J Clin Pharm Ther* 1998; 23: 385-9.
4. Bagchi D, Gray A, Krohn RL, et al. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C, E and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. *Res Common Mol Pathol Pharmacol* 1997; 95:179-89.
5. Kopp P. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the 'French paradox'? *Eur J Endocrinol* 1998; 138: 619-20.
6. Hmamouchi M, et al. Oligomeric and polymeric proanthocyanidins from Moroccan grapewine (*Vitis vinifera*) leaves. *Fitoterapia* 1997;68: 332-7.
7. Kushnerova NF, Fomenko SE, Polozhentseva MI, Bulanov AE. Effect of natural complexes of biologically active substances on liver regeneration in alcohol poisoning. *Vopr Med Khim* 1995; 41: 20-3.
۸. غریب ناصری م ک، احسانی پ. اثر عصاره آبی الکلی برگ مو (*Vitis vinifera*) بر رحم جدا شده موش صحرائی باکره. اولین کنگره پیشگیری از بیماریهای غیرواگیر. تهران. آبان ماه ۱۳۸۱، ص ۱۳۱.
۹. غریب ناصری م ک، اعتماد ن، نجفی اردکانی ز. اثر عصاره آبی الکلی برگ مو (*Vitis vinifera*) بر فعالیت مکانیکی ایلتوم موش صحرائی. شانزدهمین کنگره فیزیولوژی و فارماکولوژی. تهران. اردیبهشت ماه ۱۳۸۲. ص ۸۴.
10. Sys SU, Pellegrino D, Mazza R, et al. Endocardial endothelium in the a vascular heart of the frog: morphology and role of nitric oxide. *The Journal of Experimental Biology* 1997; 200: 3109-18.
11. Acierno R, Gattuso A, Cerra MC, et al. The isolated and per fused working heart of the frog, *Rana esculent*: an improved preparation. *Gen Pharmacol* 1994; 25: 521-6.
12. Cabanac A, Cabanac M. Heart rate response to gentle handling of frog and lizard. *Behavioural Processes* 2000; 52:89-95.
13. Andrew BL. *Experimental Physiology*. 9th ed. London: Churchill Livingstone; 1972.155-7.

14. Basle R, Stuttgart H, Hugstetten H. Experiments on isolated smooth muscle preparations. HSE Biological Measuring Techniques 1980: 134-41.
۱۵. غریب ناصری م ک. اثر عصاره آبی الکلی میوه کنار (سدر) (*Zizyphus spina Christi*) بر نیروی انقباضی و ضربان قلب پرفیوز شده قورباغه. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، شماره ۲۰، سال ۱۳۸۰، ص ۱-۷.
16. Gupta MP, Innes IR, Dhalla NS. Responses of contractile function to Ruthenium red in rat heart. *Am J Physiol* 1988; 255: 1413-20.
17. Gendviliene V, Macianskiene R, Narusevieius E, et al. Effect of slow calcium channel blockers on the electromechanical activity of frog myocardium in the presence of epinephrine. *Gen Physiol Biophys* 1985; 4: 349-58.
18. Balligand JL. Regulation of cardiac β -adrenergic response by nitric oxide. *Cardiovascular Research* 1999; 43:607-20.
19. Bray JJ, Cragg PA, Macknight ADC, Mills RG. *Human Physiology*. 4th ed. New Zealand: Blackwell Science; 2000.341.
20. Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, et al. *Goodman & Gilman's, The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9th ed. New York: McGraw-Hill; 1996.110.
21. Lazou A, Gaitanaki C, Vaxevanellis S, et al. Identification of alpha1-adrenergic receptors and their involvement in phosphoinositide hydrolysis in the frog heart. *J Exp Zool* 2002; 293: 99-105.

Effect of Vitis vinifera leaf extract on perfused frog heart

Gharib Naseri MK. PhD*

Vitis vinifera (grape) from Vitaceae and its leaves are used in traditional medicine to treat diarrhea, gout and varicosis. We have shown recently that, *Vitis vinifera* leaf hydroalcoholic extract (VLHE) reduces contractility of the rat ileum and uterus precontracted by KCl via voltage-dependent calcium channels (VDCCs). The aim of the present study was, therefore, to investigate the effect of VLHE on perfused frog heart rate and contractility.

Extract was prepared by alcohol (70%) for 72 hours and after evaporation of solvent, the extract powder was obtained. Right aorta branch of pitted frog was ligated and Ringer's solution was perfused via vena cava. Perfusate was drained via the cannulated left aorta. Final extract concentrations were 0.25, 0.5, 1, 2 and 4 mg/ml. Heart contractility was recorded by an isotonic transducer under 1 g initial tension. The percentage of changes in heart contractility and rate were calculated and presented as mean \pm SEM. VLHE reduced the heart rate and contractility dose-dependently and significantly. In more cases, the extract (2 mg/ml) caused cardiac arrest in diastolic. The effects of heart electrical stimulation (1Hz, 10 V, 1ms, 10sec) and epinephrine (20 μ g/ml) were inhibited by VLHE significantly. Atropine (1 μ M) abolished the Ach (1 μ M) inhibitory effect on heart but not of VLHE. Cardiac electrical stimulation was effective on heart in presence of verapamil (1 μ M) but not in the presence of VLHE.

It has been concluded that, the negative inotropic and chronotropic effects of VLHE were not through cholinergic system and probably, the inhibitory effects are induced via blockade of VDCCs.

KEY WORDS: Frog, Heart, *Vitis vinifera*, Contractility, Acetylcholine, Verapamil, Epinephrine

*Dept of Physiology, Faculty of medicine, Ahwaz University of Medical Sciences and health services, Ahwaz, Iran.