

تأثیر عصاره متانولی سیاهدانه بر تون استراحتی و انقباض القا شده بر اثر نور آدرنالین عضله صاف آئورت سینه ای موش های صحرایی نرمال و دیابتی

مهرداد روغنی^{۱*}، محمد واسعی^۲

۱- دانشیار گروه فیزیولوژی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شاهد ۲- دانشجوی پزشکی

سابقه و هدف: اهمیت استفاده از گیاهان دارویی با حداقل عوارض جانبی در بیماری دیابت شیرین کاربرد دارد. با توجه به شواهد قبلی مبنی بر اثر شل کنندگی عصاره آبی و الکلی سیاهدانه بر حلقه های ایزوله تراشه، این تحقیق با هدف تاثیر عصاره الکلی سیاهدانه بر تون استراحتی و انقباض آئورت سینه ای در موشهای کنترل و دیابتی انجام شد. **مواد و روشها:** مطالعه به صورت تجربی بر روی ۱۸ سر موشهای صحرایی نر بالغ با وزن 251 ± 14 گرم که به دو گروه یکسان کنترل و دیابتی تقسیم شده بودند انجام شد. برای دیابتی نمودن حیوانات از داروی استرپتوزوتوسین (STZ) بطور داخل صفاقی استفاده شد. ثبت پاسخ حلقه های آئورت سینه ای دارای اندوتلیوم در حالت استراحت و انقباض به نورآدرنالین در حضور عصاره الکلی سیاهدانه در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر محلول کربس پس از گذشت شش هفته با استفاده از بساط بافت ایزوله انجام پذیرفت.

یافته ها: اضافه نمودن عصاره متانولی سیاهدانه در دوز بکار رفته هیچ گونه تغییر معنی دار در میزان تون استراحتی در گروه های دیابتی و کنترل ایجاد نکرد ولی حداکثر میزان انقباض القا شده بر اثر اضافه نمودن نورآدرنالین به حمام بافتی، در گروه کنترل در حضور سیاهدانه بطور معنی داری از گروه دیابتی کمتر بود ($p < 0.05$). همچنین با اضافه نمودن عصاره، کاهش معنی داری در حداکثر انقباض در گروه دیابتی مشاهده نشد.

بحث و نتیجه گیری: عصاره الکلی سیاهدانه فقط قادر به کاهش انقباض آئورت ایزوله به نورآدرنالین در موشهای نرمال بود.

واژه های کلیدی: سیاهدانه، دیابت قندی، انقباض، آئورت سینه ای، موش صحرایی.

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره نهم، شماره ۲، خرداد - تیر ۱۳۸۶، صفحه ۷-۱۰

مقدمه

در بیماری دیابت شیرین عوامل مختلفی چون افزایش تشکیل رادیکالهای آزاد اکسیژن و تشدید پراکسیداسیون لیپیدی موجب افزایش بروز آترواسکروز و بیماریهای قلبی-عروقی می گردد (۱). در همین ارتباط پاسخ انقباضی برخی نواحی عروقی شامل آئورت سینه ای به نورآدرنالین و کلورو پتاسیم در موشهای صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین به طور معنی داری نسبت به حیوانات سالم افزایش می یابد که در این افزایش پاسخ انقباضی عروق، عوامل مختلفی از جمله تشدید تولید اندوتلین به عنوان یک

مقبض کننده قوی عضلات صاف عروق، افزایش تولید برخی از پروستاگلاندین های تنگ کننده عروقی و کاهش توانایی تولید فاکتورهای گشاد کننده عروقی با منشأ اندوتلیال نظیر نیتریک اکسید مطرح می باشد (۲). با توجه به افزایش دانش بشری در مورد هتروژنیتة این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات مؤثر در درمان دیابت با عوارض جانبی کمتر به شدت احساس می گردد. گیاهان دارویی و مشتقات آنها اگر چه در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده اند، ولی در مورد اثر بخشی قطعی بسیاری از

پس از گذشت شش هفته، موش ها با استفاده از اتر بیهوش شدند، با باز کردن قفسه سینه آئورت سینه ای را جدا کرده و در داخل محلول کربس (که بطور مداوم بداخل آن گاز کربوژن دمیده می شد) قرار داده شد. ترکیب شیمیایی محلول کربس مورد استفاده در تمام آزمایش ها به قرار زیر بود (بر حسب میلی مولار):

NaCl, ۱۱۸/۵; KCl, ۴/۷۴; CaCl_2 , ۵/۲; MgSO_4 , ۱/۱۸; NaHCO_3 , ۲۴/۹; KH_2PO_4 , ۱/۱۸; Glucose, ۱۰

در داخل محلول کربس سرد، آئورت به حلقه هایی به طول حدوداً ۴ میلی متر تقسیم گردید. برای ثبت پاسخ حلقه های آئورتی، آنها به کمک سیمهای پلاتینی L شکل که بموازات هم قرار می گرفتند از یک طرف به قلاب فلزی و از طرف دیگر به ترانس دیوسر ایزومتریک F-60 متصل شدند. در این بررسی کشش اولیه اعمال شده ۲ گرم بود. پس از حصول حالت تعادل، میزان تون استراحتی حلقه آئورتی اندازه گیری شده و سپس بافت در معرض عصاره سیاهدانه به میزان ۱۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر قرار گرفت و میزان تغییر تون نسبت به مقدار اولیه مورد سنجش قرار گرفت. در مورد حلقه دیگر در معرض غلظت های افزایش یابنده از نورآدرنالین (10^{-8} تا 10^{-4} مولار) قرار گرفت و حداکثر انقباض ثبت شد. با انجام مراحل شستشو، بافت به مدت ۳۰ دقیقه در معرض عصاره الکلی سیاهدانه قرار گرفت و مجدداً انقباض به نورآدرنالین ثبت شد. برای تهیه عصاره متانولی سیاهدانه، پس از خریداری دانه تازه از بازار محلی (تهران - ۱۳۸۳) و تأیید علمی و سیستماتیک، ۱۰۰ گرم از پودر دانه در ۱ لیتر متانول حل شده و به مدت ۲ روز در دمای آزمایشگاه در تاریکی نگهداری شد. پس از ۵-۴ بار فیلتر نمودن به روش مرسوم تغلیظ شده تا نهایتاً عصاره عسلی (حدود ۶۵٪) بدست آمد. سپس عصاره حاصله به فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد منتقل گردید. جهت ثبت و تفسیر داده ها از نرم افزار فیزیوگراف ۱ (شرکت بهینه آرمان، تهران) استفاده گردید. میزان انقباض نیز بصورت گرم گزارش گردید.

از نظر آماری، تمامی نتایج بصورت $\text{Mean} \pm \text{S.E.M}$ بیان گردید. برای مقایسه نتایج هر پارامتر در هر یک از گروه ها قبل و بعد از بررسی از آزمون Paired t-test و برای مقایسه بین گروه ها از آزمون t-test استفاده گردید. $p < 0.05$ نیز معنی دار تلقی شد.

آنها تاکنون شواهد تحقیقاتی معتبری یافت نشده است (۳). از این نظر برای سیاهدانه و اثرات سودمند آن در بیمارهای مختلف از جمله امراض متابولیک شواهد متعددی وجود دارد. در این رابطه عصاره سیاهدانه موجب کاهش میزان تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن شده و از تخریب سلولهای بتای جزائر لانگرهانس بدنبال تجویز مواد سمی نظیر استرپتوزوتوسین و آلوکسان جلوگیری می کند و تجویز آن موجب رژنراسیون و تکثیر نسبی سلولهای بتا در مدل تجربی دیابت قندی القا شده توسط استرپتوزوتوسین در حالت In vitro می گردد (۵و۴).

به علاوه، اثرات حفاظتی سیاهدانه از نظر کاهش دادن میزان پراکسیداسیون لیپیدی و تجزیه ذخایر پروتئینی داخل سلول تحت شرایط استرس زا در گلوبولهای قرمز قبلاً به اثبات رسیده است (۶). سیاهدانه دارای اثرات پائین آورندگی گلوکز خون و تعدیل کننده ایمنی در مدل تجربی دیابت قندی در حیواناتی نظیر هامستر می باشد (۷). از طرف دیگر اثرات شل کنندگی عصاره آبی و الکلی سیاهدانه بر حلقه های ایزوله نای خوکچه هندی نیز مورد تأیید قرار گرفته است (۸). لذا، در این تحقیق اثر عصاره الکلی سیاهدانه بر تون استراحتی و انقباض القا شده بر اثر نورآدرنالین عضله صاف آئورت سینه ای در دو حالت نرمال و دیابت قندی در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت

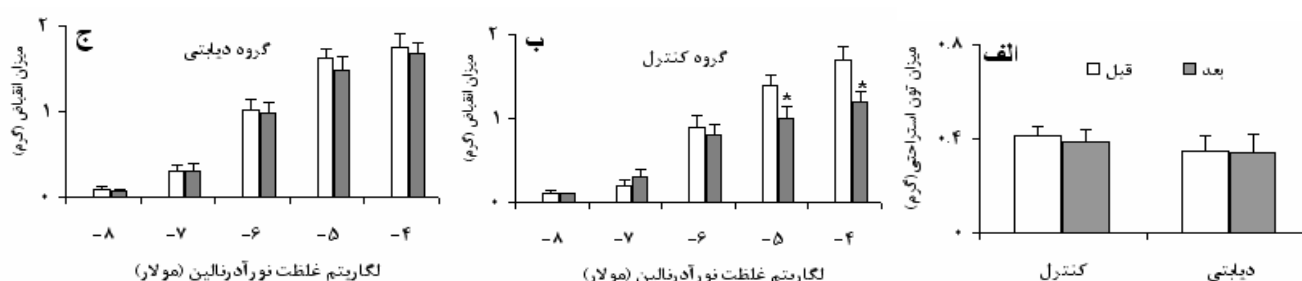
مواد و روشها

مطالعه به صورت تجربی بر روی ۱۸ سر موشهای صحرایی نر بالغ سفید نژاد ویستار با وزن 251 ± 14 گرم استفاده گردید. تمام حیوانات در آزمایشگاه حیوانات دانشکده پزشکی در دمای $22-20^\circ\text{C}$ در گروههای ۳-۴ تایی در هر قفس قرار داشتند. ضمناً حیوانات آزادانه به آب لوله کشی و غذای مخصوص موش دسترسی داشتند. مدل دیابت قندی با یک بار تزریق داخل صفاقی STZ به میزان ۶۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن ایجاد گردید. ملاک دیابتی بودن حیوان، میزان گلوکز سرم بالای ۲۵۰ mg/dl بود. کشش حلقه های آئورت سینه ای در دو حالت استراحتی و انقباض القا شده بر اثر نورآدرنالین با استفاده از بساط بافت ایزوله به شرح زیر مورد اندازه گیری قرار گرفت:

یافته ها

نتایج مطالعه نشان داد که در هفته قبل از بررسی از نظر وزن هیچگونه تفاوت معنی دار بین گروهها یافت نشد. به علاوه، در موشهای دیابتی یک کاهش معنی داری ($p < 0.05$) در وزن، در پایان شش هفته نسبت به هفته قبل از بررسی مشاهده گردید. هم چنین افزایش بارز و معنی دار سطح گلوکز سرم در گروه دیابتی در پایان بررسی در مقایسه با قبل بررسی مشاهده شد ($p < 0.001$). از نظر پاسخ حلقه های آئورت، یک طرح وابسته به غلظت در مورد انقباض به نورآدرنالین در مورد دو گروه کنترل و دیابتی مشاهده شد. از طرف دیگر، هر چند اضافه نمودن عصاره متانولی سیاهدانه در غلظت ۱۰۰

میکروگرم بر دسی لیتر محلول کربس ۳۰ دقیقه قبل از اضافه نمودن آگونیست اختصاصی نورآدرنالین هیچگونه تغییر معنی داری در میزان تون استراحتی در گروههای دیابتی و کنترل ایجاد نکرد ولی حداکثر میزان انقباض القا شده بر اثر اضافه کردن نورآدرنالین به حمام بافتی در گروه کنترل در حضور سیاهدانه بطور معنی دار از گروه دیابتی کمتر بود ($p < 0.05$). اضافه نمودن عصاره کاهش معنی داری در حداکثر انقباض در گروه دیابتی ایجاد نکرد (نمودار ۱). بعلاوه میزان تون استراحتی در گروه دیابتی نیز تفاوت معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان نداد.



نمودار ۱. میزان تون استراحتی در گروه کنترل (قبل و بعد از اضافه نمودن عصاره سیاهدانه) (الف)، انقباض وابسته به غلظت القا شده بر اثر اضافه نمودن نورآدرنالین به حمام بافتی در دو گروه کنترل (ب) و دیابتی (ج) قبل و بعد از اضافه نمودن عصاره به میزان ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر محلول کربس پس از گذشت شش هفته. $p < 0.05$ *

بحث و نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که اضافه نمودن عصاره متانولی سیاهدانه در دوز بکار رفته هیچگونه تغییر معنی داری در میزان تون استراحتی در گروههای دیابتی و کنترل ایجاد نکرد، حداکثر میزان انقباض القا شده بر اثر نورآدرنالین در گروه کنترل در حضور سیاهدانه بطور معنی داری از گروه دیابتی کمتر بوده و اضافه نمودن عصاره، کاهش معنی داری در حداکثر پاسخ انقباضی در گروه دیابتی ایجاد نکرد. شفیی و همکاران قبلاً اثر مهارى عصاره آبی سیاهدانه به میزان ۵٪ را در قلب ایزوله خوکچه هندی نشان دادند که عصاره از طریق مهار نمودن کانالهای کلسیمی مشابه با دیلتیازم عمل می کند و بخشی از آن از طریق باز شدن کانالهای پتاسیمی اجرا می شود. در بررسی حاضر همین اثر عصاره الکلی بر روی بافت ایزوله آئورت در غلظت ۱۰٪ بدست آمد که خود نشان دهنده تفاوت

موجود در مواد موثره آنها می باشد (۹). البته در هر دو بررسی اثر شل کنندگی و مهار کنندگی در حالت نرمال مشاهده شده است. در مطالعه حاضر مشخص شد که اضافه نمودن عصاره سیاهدانه قادر به کاهش بارز و معنی دار حداکثر انقباض حلقه های آئورتی دارای آندوتلیوم گروه دیابتی به نورآدرنالین در مقایسه با همین گروه، قبل از اضافه نمودن عصاره نمی باشد. در توجیه این موضوع قبلاً مشخص شده است که در دیابت قندی توانایی آندوتلیوم رگ برای سنتز گشادکننده های عروقی نظیر نیتریک اکسید کاهش یافته و تنگ کننده های عروقی مانند آندوتلین به مقدار زیادی تولید می شوند که این خود نیاز به گذشت بیش از یک ماه زمان از هنگام دیابتی شدن در مدل تجربی دیابت در موش دارد (۱۰ و ۱۱). احتمالاً این تغییر در بررسی حاضر نیز به وقوع پیوسته است. در توجیه اثر سودمند عصاره سیاهدانه در کاهش حداکثر

انقباض گروه کنترل نیز قبلاً مشخص شده است که مواد مؤثره این گیاه دارای خواص شل کنندگی عضله صاف در بافتهای آئورت و ژژنوم خرگوش و عضله تراشه خوکچه هندی دارد. در این خصوص اثرات شل کنندگی این گیاه می تواند از طریق مهار نمودن کانالهای کلسیمی، تغییرات عملکردی گیرنده های بتا آدرنرژیک و احتمالاً مهار فسفودی استراز به انجام برسد (۱۳ و ۱۲). یک یا چند مورد از این راهها می تواند توجیه کننده اثر عصاره گیاه در موشهای گروه کنترل در این بررسی باشد. در کل، عصاره الکلی سیاهدانه فقط قادر به کاهش انقباض آئورت به نورآدرنالین در موشهای نرمال بوده و پاسخ عروقی گروه دیابتی در این خصوص تحت تاثیر قرار نمی گیرد.

References

1. Suji G, Sivakami S. Approaches to the treatment of diabetes mellitus: an overview. *Cell Mol Biol* 2003; 49(4): 635-9.
2. Abebe W, Harris KH, Macleod KM. Enhanced contractile responses of arteries from diabetic rats to $\alpha 1$ -adrenoceptor stimulation in the absence and presence of extracellular calcium. *J Cardiovas Pharmacol* 1990; 16: 239-48.
3. Shapiro K, Gong WC. Natural products used for diabetes. *J Am Pharm Assoc* 2002; 42(2): 217-26.
4. Kanter M, Coskun O, Korkmaz A, Oter S. Effects of *Nigella sativa* on oxidative stress and beta-cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2004; 279(1): 685-91.
5. Kanter M, Meral I, Yener Z, Ozbek H, Demir H. Partial regeneration/proliferation of the beta-cells in the islets of Langerhans by *Nigella sativa* L in streptozotocin-induced diabetic rats. *Tohoku J Exp Med* 2003; 201(4): 213-9.
6. Suboh SM, Bilto YY, Aburjai TA. Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes. *Phytother Res* 2004; 18(4): 280-4.
7. Fararh KM, Atoji Y, Shimizu Y, Shiina T, Nikami H, Takewaki T. Mechanisms of the hypoglycaemic and immunopotentiating effects of *Nigella sativa* L. oil in streptozotocin-induced diabetic hamsters. *Res Vet Sci* 2004; 77(2): 123-9.
8. Boskabady MH, Shirmohammadi B, Jandaghi P, Kiani S. Possible mechanism(s) for relaxant effect of aqueous and macerated extracts from *Nigella sativa* on tracheal chains of guinea pig. *BMC Pharmacol* 2004; 4(1): 3.
9. Shafei MN, Boskabady MH, Parsaee H. Effect of aqueous extract from *Nigella sativa* L. on guinea pig isolated heart. *Indian J Exp Biol* 2005; 43(7): 635-9.
10. 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(1): 27-33.
11. Mori S, Takemoto M, Yokote K, Asaumi S, Saito Y. Hyperglycemia-induced alteration of vascular smooth muscle phenotype. *J Diabetes Complications* 2002; 16(1): 65-8.
12. Aqel MB. Effects of *Nigella sativa* seeds on intestinal smooth muscle. *Inter J Pharmacogn* 1993; 31: 55-60.
13. Reiter M, Brandt W. Relaxant effects on tracheal and ileal smooth muscles of the guinea-pig. *Arzneimittelforschung* 1985; 35: 408-14.

* آدرس نویسنده مسئول: تهران، بلوار کشاورز، دانشکده پزشکی شاهد، گروه فیزیولوژی، تلفن: ۸۱۹۶۴۷۹۲-۰۲۱.

mehjour@yahoo.com