

اثر گشاد کننده رگی عصاره آبی - الکی بومادران بر آنورت ایزوله موش صحرایی

فاطمه هرندی زاده (MSc)^۱، سید محمود حسینی (PhD)^۲، مرتضی بهنام رسولی (PhD)^۱، سعید نیازمند (PhD)^{۳*}

- ۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد
- ۲- گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
- ۳- مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

دریافت: ۹۰/۳/۱۹، اصلاح: ۹۰/۶/۱۶، پذیرش: ۹۰/۸/۱۸

خلاصه

سابقه و هدف: بومادران در طب سنتی گیاه شناخته شده ای است که علاوه بر خاصیت ضد تشنج و نیروزایی برای درمان افزایش ضربان قلب، احساس گرفتگی و درد در ناحیه قلب کاربرد دارد. گزارشی از اثرات آنتی هایپرتانسیو و هایپوتانسیو بومادران نیز ارائه شده است. این مطالعه به منظور بررسی اثر گشادکننده رگی عصاره آبی الکی بومادران بر آنورت ایزوله موش صحرایی انجام شد.

مواد و روشها: این مطالعه مداخله ای بر روی ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم که بطور تصادفی به ۶ گروه تقسیم گردیدند، انجام شد. در گروههای اول و دوم اثر غلظتهای تجمعی عصاره (۲۵ mg/ml، ۵، ۱) بر انقباض ناشی از فنیل افرین در رگ سالم و در رگی که اندوتلیوم آن توسط مالش یک میله فلزی به سطح داخلی، تخریب شده بود، بررسی گردید، در گروههای سوم و چهارم اثر غلظتهای تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم در رگ سالم و در رگی که اندوتلیوم آن تخریب شده بود، بررسی گردید، در گروههای پنجم و ششم اثر عصاره (۵ mg/ml) بر انقباض ناشی از فنیل افرین و کلرور پتاسیم در حضور مقادیر تجمعی کلسیم با استفاده از بساط بافت ایزوله بررسی شد.

یافته ها: عصاره انقباض ناشی از فنیل افرین در غلظت های ۲۵mg/ml و ۵ و ۱) در رگ سالم را به ترتیب میزان ۸٪، ۴۷٪ (p<۰/۰۰۱)، ۴۵٪ (p<۰/۰۰۱) و در رگی که اندوتلیوم آن تخریب شده بود به میزان ۱۶٪ (p<۰/۰۰۵)، ۵۶٪ (p<۰/۰۰۱) و ۵۴٪ (p<۰/۰۰۱) به ترتیب در غلظتهای ۱ mg/ml، ۵، ۱ و ۲۵ کاهش داد. عصاره انقباض ناشی از کلرور پتاسیم در رگ سالم را به میزان ۱۸٪ (p<۰/۰۰۱)، ۵۷٪ (p<۰/۰۰۱)، ۵۷٪ (p<۰/۰۰۱) و در رگی که اندوتلیوم آن تخریب شده بود به میزان ۴۷٪ (p<۰/۰۰۱)، ۵۴/۵ و ۵۴/۵ (p<۰/۰۰۱) و ۵۴/۵ (p<۰/۰۰۱) به ترتیب در غلظتهای ۱ mg/ml، ۵، ۱ و ۲۵ کاهش داد. عصاره انقباض ناشی از فنیل افرین را به میزان ۷٪ (p<۰/۰۰۱)، ۱۲٪ (p<۰/۰۰۱) و ۲۲٪ (p<۰/۰۰۱) و ۳۱/۵٪ (p<۰/۰۰۱) و انقباض ناشی از کلرور پتاسیم را به میزان ۵/۵٪ (p<۰/۰۰۱)، ۹/۳٪ (p<۰/۰۰۱)، ۱۹٪ (p<۰/۰۰۱) و ۷۴٪ (p<۰/۰۰۱) به ترتیب در حضور مقادیر تجمعی کلسیم از ۱۰^{-۵} تا ۱۰^{-۳} مهار کرد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که عصاره بومادران دارای اثر شل کنندگی غیر وابسته به اندوتلیوم بر روی عضله صاف عروق است، بخش مهمی از این اثر احتمالا از طریق مهار جریان ورودی کلسیمی از طریق کانالهای کلسیمی وابسته به گیرنده و نیز کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ در سلولهای عضله صاف رگ اعمال می گردد. **واژه های کلیدی:** بومادران، آنورت، اندوتلیوم، شل کننده رگی.

مقدمه

بیماری های قلبی عروقی شایع ترین اختلالات جدی در کشورهای توسعه یافته هستند. طبق گزارش انجمن قلب آمریکا در سال ۲۰۰۲، ۶۲ میلیون آمریکایی - ۳۲ میلیون زن و ۳۰ میلیون مرد (یعنی بیش از یک نفر از هر پنج نفر) دچار یک نوع بیماری قلبی عروقی (شامل هایپرتانسیون) بودند. میزان شیوع بصورت پیشرونده با افزایش سن از ۵ درصد در ۲۰ سالگی به ۷۵ درصد در سنین بالای ۷۵ سالگی افزایش می یابد. پیش بینی می شود تا سال ۲۰۲۰، بیماری های قلبی عروقی شایع ترین علت مرگ و میر در تمام دنیا باشد (۱). بومادران در طب سنتی گیاه شناخته شده ای است و به عنوان بند آورنده خون و التیام دهنده زخم ها، رفع اختلالات قاعدگی و سقط جنین، دفع سنگ کلیه، درمان ناراحتی های گوارشی

و درمان صرع به کار می رود (۲). به علاوه خاصیت ضد تشنج و نیروزایی داشته و برای درمان افزایش ضربان قلب، احساس گرفتگی و درد در ناحیه قلب در طب سنتی کاربرد دارد (۳). به عنوان یک اشتها آور معطر در کم اشتهایی مصرف می شود. تحقیقات صورت گرفته بر روی این گیاه اثرات ضد دردی (۴)، اثرات ضد هلیکوباکتریلوری (۵)، ضد میکروبی (۶)، خاصیت آنتی اکسیدانی (۷)، اثر ضد التهابی و ترمیمی و آنتی اولسری (۸و۹) و اسپاسمولیتیک (۱۰و۱۱) را نشان داده است. بومادران (*Achillea wilhelmsii*) پراکندگی زیادی در ایران دارد. این گیاه متعلق به شاخه دانه دارها، رده دو لپه ای ها، راسته آستراسه (*Asteraceae*) و تیره کاسنی (*Compositae*) می باشد. گیاهی نسبتا کوچک، علفی، به

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۹۰۰۴۵۹ دانشگاه علوم پزشکی مشهد می باشد.
* مسئول مقاله:

آدرس: مشهد، دانشگاه علوم پزشکی، گروه فیزیولوژی، تلفن: ۵۱۱-۸۸۲۸۵۶۴

NaCl 118.5 ; KCl 4.74 ; CaCl₂ 2.5 ; MgSO₄ 1.18;

NaHCO₃ 24.9 ; Glucose 10

در داخل محلول کربس، آنورت به دقت از بافت پیوندی متصل به آن پاک شده و به قطعاتی با طول تقریبی ۵ میلی‌متر تقسیم گردید. برای ثبت پاسخ انقباضی آنورت سینهای، حلقه‌های آنورت در حمام بافت حاوی محلول کربس، با حرارت ۳۷ درجه و pH = ۷/۴ قرار گرفت که به طور مداوم در معرض مخلوط ۹۵٪ اکسیژن و ۵٪ گاز کربنیک قرار داشت.

پس از اعمال کشش دو گرمی به آنورت، به مدت ۶۰ دقیقه به بافت اجازه داده شد تا وضعیت ثابتی پیدا کند. انقباضات عضله صاف آنورت بوسیله ترانس دیوسر ایزومتریک (AD instrument, Australia) که به دستگاه Power Lab (AD instrument, Australia) متصل بود، ثبت گردید. برای حذف اندوتلیوم، از یک میله نازک فلزی استفاده شد که با مالش آرام میله به مدت ۶۰ ثانیه در سطح داخلی حلقه‌های آنورت، اندوتلیوم تخریب می‌گردید. برای حصول اطمینان از تخریب اندوتلیوم آنورت، پس از ایجاد انقباض بوسیله غلظت ۱۰^{-۶} مولار فینیل آفرین، استیل کولین با غلظت ۱۰^{-۵} مولار به حمام بافت اضافه گردید، عدم مشاهده هر گونه اثر شل‌کنندگی در انقباض ناشی از فینیل آفرین نشان دهنده تخریب کامل اندوتلیوم بود (۳۴).

در گروه‌های اول و دوم، پس از اعمال کشش استراحت و تثبیت شرایط بافت، عضله صاف آنورت با استفاده از فینیل آفرین (۱۰^{-۶} مولار) منقبض گردیده و سپس اثر غلظت‌های تجمعی عصاره (۲۵ mg/ml و ۵ و ۱) در حضور و عدم حضور اندوتلیوم بررسی گردید. در گروه سوم و چهارم پس از اعمال کشش استراحت و تثبیت شرایط بافت، عضله صاف آنورت با استفاده از کلرور پتاسیم (۶×۱۰^{-۲} مولار) منقبض گردیده و سپس اثر غلظت‌های تجمعی عصاره (۲۵ mg/ml، ۵، ۱) در حضور و عدم حضور اندوتلیوم بررسی گردید.

در گروه‌های پنجم و ششم، پس از اعمال کشش استراحت و تثبیت شرایط بافت در حضور کربس بدون کلسیم، عضله صاف آنورت با استفاده از فینیل آفرین (۱۰^{-۶} مولار) و کلرور پتاسیم (۶×۱۰^{-۲} مولار) منقبض گردیده و سپس با اضافه کردن مقادیر تجمعی کلسیم (۱۰^{-۵} تا ۱۰^{-۲}) به بافت اثر غلظت‌های تجمعی کلسیم در حضور غلظت ۵ mg/ml عصاره بررسی گردید.

نتایج با استفاده از آزمون‌های paired t-test و unpaired t-test تجزیه و تحلیل و $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

عصاره بومادران اثر شل‌کنندگی معنی‌داری را بر انقباض ناشی از اپی‌نفرین نشان داد (نمودار ۱). تفاوت معنی‌داری در اثر شل‌کنندگی عصاره بین غلظت ۱ mg/ml با غلظت‌های ۵ و ۲۵ دیده شد ($p < 0.01$) ولی تفاوت معنی‌داری بین دو غلظت ۵ mg/ml و ۲۵ وجود نداشت. همچنین تفاوتی در اثر شل‌کنندگی عصاره در شرایط حضور و عدم حضور اندوتلیوم مشاهده نگردید. عصاره بومادران اثر شل‌کنندگی معنی‌داری را بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم در شرایط حضور و غیاب اندوتلیوم در غلظت‌های ۵ mg/ml و ۲۵ نشان داد ($p < 0.01$). تفاوت معنی‌داری در اثر شل‌کنندگی بین غلظت‌های ۵ mg/ml و ۲۵ با ۱ mg/ml دیده شد ($p < 0.001$) (نمودار ۲). برای بررسی نقش جریان ورودی کلسیم بر این

ارتفاع ۱۵ تا ۴۰ سانتی‌متر و دارای ساقه‌های منشعب است (۱۲). این گیاه دارای ترکیباتی نظیر سننول (cineol)، بورنئول (borneol)، آلفا و بتا پینن (α and β pinen)، لوتولین (luteolin) و کارواکرول (carvacrol) است (۱۵-۱۳). گزارشاتی از اثرات قلبی عروقی بومادران در دست است. در یک بررسی کلینیکی اثر ضد فشارخون و کاهش‌دهنده چربی خون، بومادران (*Achillea wilhelmsii*) نشان داده شده است (۱۶). اثر اینوتروپیک و کرونوتروپیک منفی بومادران (*Achillea millefolium*) بر قلب ایزوله رت نشان داده شده است (۱۷). در پژوهشی دیگر نشان داده شد که بومادران (*Achillea Santolina*) قادر به کاهش فعالیت نسبی گره دهلیزی بطنی می‌باشد (۱۸).

در مطالعه دیگری اثر هایپوتانسیو و اینوتروپیک منفی بومادران (*Achillea wilhelmsii*) در خرگوش بررسی شده است (۱۹). در مطالعات دیگر اثر کاهش دهنده فشار خون (۲۱ و ۲۰) و کاهش دهنده عملکرد قلبی (۲۱) و نیز حفاظت‌کننده رگی (۲۲) بومادران (*Achillea millefolium*) نشان داده شده است. در مورد اثر شل‌کنندگی بومادران بر عضله صاف دستگاه گوارش مطالعاتی صورت گرفته است (۲۳ و ۱۱ و ۱۰) ولی اثر آن بر عضله صاف عروق تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است، لذا این مطالعه به منظور بررسی اثر این گیاه بر خاصیت انقباضی عضله صاف آنورت و نیز مکانیسم احتمالی آن انجام شد.

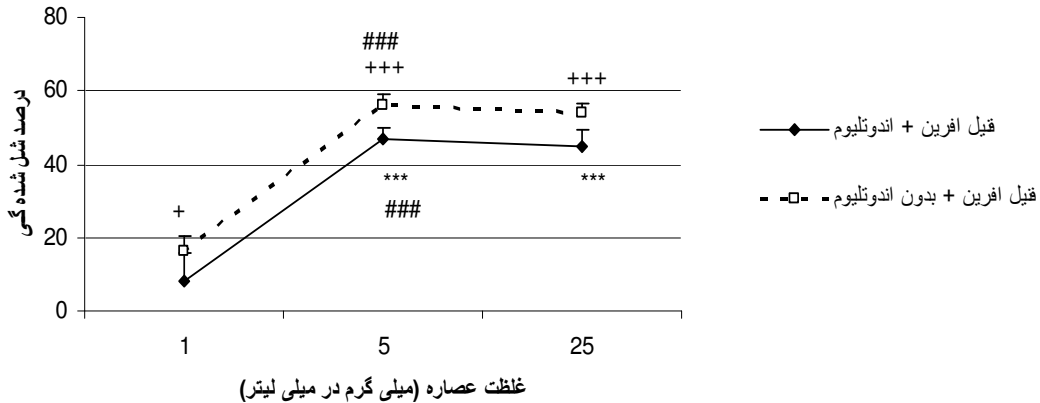
مواد و روشها

تهیه عصاره: عصاره بومادران به روش خیساندن تهیه شد. ۴۰۰ گرم از گیاه بومادران تهیه شده از منطقه نیشابور، پس از شناسایی توسط هرابریوم دانشگاه فردوسی مشهد، در مقدار کافی الکل اتیلک ۵۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد. سپس محلول به دست آمده با استفاده از کاغذ صافی، صاف گردید. جهت تهیه عصاره خشک، محلول به دست آمده به مدت ۷۲ ساعت در بن ماری (۴۰ درجه) قرار گرفت. مقدار عصاره خشک به دست آمده ۳۶ گرم بود. از این عصاره خشک دوزهای مورد استفاده (۲۵ mg/ml و ۵، ۱) تهیه گردید (۱۷ و ۱۹).
گروه بندی حیوانات: این مطالعه مداخله‌ای بر روی ۴۲ سر رت نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم که بطور تصادفی به ۶ گروه ۷ تایی تقسیم شدند، انجام گردید. در گروه اول، اثر غلظت‌های تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از فینیل آفرین بررسی گردید، گروه دوم، اثر غلظت‌های تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از فینیل آفرین در عدم حضور اندوتلیوم در رگی که آندوتلیوم آن توسط مالش یک میله فلزی به سطح داخل آن، تخریب شده بود، بررسی گردید، گروه سوم، اثر غلظت‌های تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم بررسی گردید، گروه چهارم، اثر غلظت‌های تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از فینیل آفرین در عدم حضور اندوتلیوم بررسی گردید، گروه پنجم، اثر عصاره بر انقباض ناشی از فینیل آفرین در حضور اندوتلیوم بررسی گردید، گروه ششم، اثر عصاره بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم در حضور مقادیر تجمعی کلسیم بررسی شد.

روشی آزمایشی: پس از بیهوشی حیوان با کتامین (۵۰ mg/kg)، بلافاصله پس از قطع سر، قفسه سینه باز شده و آنورت سینهای جدا گردید و در داخل محلول کربس حاوی مخلوط ۹۵٪ اکسیژن و ۵٪ گاز کربنیک قرار گرفت. محلول کربس مورد استفاده حاوی ترکیبات زیر (برحسب میلی مولار) بود:

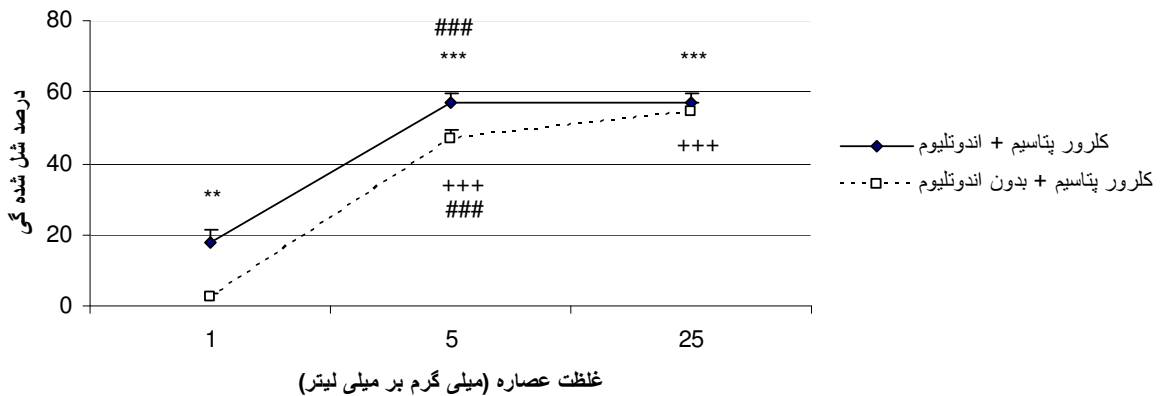
در بررسی اثر غلظت ۵ mg/ml عصاره بومادران بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم در حضور غلظت‌های تجمعی کلسیم (10^{-5} تا 10^{-2}) نتایج نشان داد که عصاره بومادران بطور معنی‌داری موجب مهار افزایش انقباض ناشی از غلظت‌های فزاینده کلسیم در حمام بافتی گردید ($p < 0.001$ و $p < 0.01$) (نمودار ۴).

اثر مهاری، اثر غلظت ۵ mg/ml عصاره بومادران بر انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور غلظت‌های تجمعی کلسیم (10^{-5} تا 10^{-2}) بررسی شد که نتایج نشان داد، عصاره بومادران بطور معنی‌داری موجب مهار افزایش انقباض ناشی از غلظت‌های فزاینده کلسیم در حمام بافتی گردید ($p < 0.001$) (نمودار ۳).



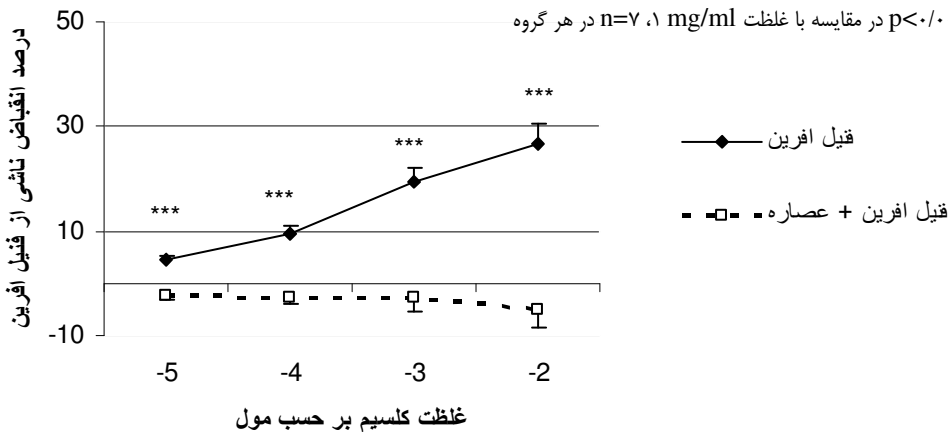
شکل ۱. اثر شل‌کنندگی غلظت‌های مختلف عصاره بومادران بر انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور و غیاب اندوتلیوم. عصاره بومادران بطور معنی‌داری موجب مهار انقباض شد. تفاوتی در این اثر مهاری در شرایط حضور اندوتلیوم و غیاب آن مشاهده نشد.

*** $p < 0.001$ اثر شل‌کنندگی عصاره در حضور اندوتلیوم در مقایسه با مقدار پایه، + $p < 0.05$ و +++ $p < 0.001$ اثر شل‌کنندگی عصاره در غیاب اندوتلیوم در مقایسه با مقدار پایه، ### $p < 0.001$ در مقایسه با غلظت ۱ mg/ml، n=7 در هر گروه



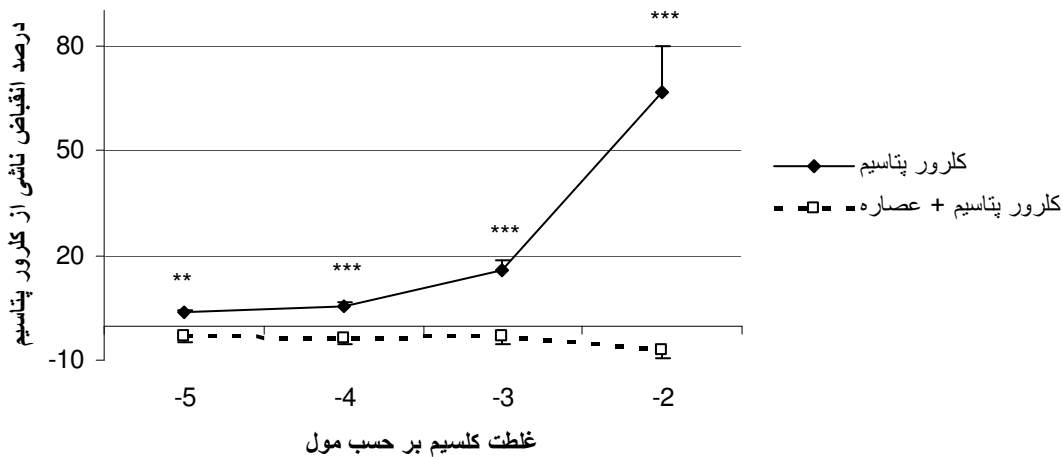
شکل ۲. اثر شل‌کنندگی غلظت‌های مختلف عصاره بومادران بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم در حضور و غیاب اندوتلیوم. عصاره بومادران بطور معنی‌داری موجب مهار انقباض در غلظت‌های ۵ و ۲۵ mg/ml گردید. در شرایط حضور اندوتلیوم و غیاب آن تفاوتی در این اثر مهاری دیده نشد.

** $p < 0.05$ و *** $p < 0.001$ اثر شل‌کنندگی عصاره در حضور اندوتلیوم در مقایسه با مقدار پایه، +++ $p < 0.001$ اثر شل‌کنندگی عصاره در غیاب اندوتلیوم در مقایسه با مقدار پایه، ### $p < 0.001$ در مقایسه با غلظت ۱ mg/ml، n=7 در هر گروه



شکل ۳. اثر عصاره بومادران (با غلظت ۵ mg/ml) بر انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور غلظت‌های تجمعی کلسیم. عصاره بطور مشخصی موجب مهار افزایش انقباض ناشی از غلظت‌های فزاینده کلسیم در حمام بافتی شد.

*** $p < 0.001$ در مقایسه با حضور عصاره بومادران، n=7 در هر گروه



شکل ۴. اثر عصاره بومادران (با غلظت ۵ mg/ml) بر انقباض ناشی از کلورور پتاسیم در حضور غلظت‌های تجمعی کلسیم. عصاره بطور مشخصی موجب مهار افزایش انقباض ناشی از غلظت‌های فزاینده کلسیم در حمام بافتی گردید.

** $p < 0.01$ و *** $p < 0.001$ در مقایسه با حضور عصاره بومادران، $n=7$

در انقباض ناشی از فنیل افرین مسیرهای سیگنالینگ دیگری نیز می‌تواند بکار گرفته شود. تحریک گیرنده‌های آلفا می‌تواند موجب فعال شدن فسفولپاز C و در نتیجه باعث تولید دی‌اسیل گلیسرول و IP_3 شود که متعاقباً دی‌اسیل گلیسرول، زنجیره سبک میوزین را از طریق فعال سازی پروتئین کیناز C (PKC) فعال می‌کند و IP_3 آزاد شدن کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی را از طریق باز کردن رسپتورهای IP_3 القا می‌کند (۲۳ و ۲۴). بعلاوه مسیر دیگر کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ است (۳۰ و ۲۴). بنابراین، این احتمال نیز وجود دارد که بخشی از اثر عصاره از طریق تداخل با این مسیرهای سیگنالینگ موجب بروز اثر شل‌کنندگی خود در انقباض ناشی از فنیل افرین گردد.

نتایج حاصل از تحقیقات قبلی نشان داد که انقباض ناشی از کلورور پتاسیم با دخالت کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ صورت می‌گیرد (۳۲ و ۳۱) بنابراین موادی که بتوانند انقباض ناشی از کلورور پتاسیم را در عضله صاف مهار کنند اثر خود را از طریق انسداد این کانالها اعمال می‌کنند. اثر شل‌کنندگی عصاره بر انقباض ماهیچه صاف ناشی از کلورور پتاسیم در حضور غلظت‌های تجمعی کلسیم تأیید کننده این امر است که عصاره احتمالاً اثر مهار کنندگی خود را از طریق تداخل با جریان ورودی کلسیم از طریق کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ اعمال کرده است. نتایج حاصل از این مطالعه، هماهنگ با یافته‌های قبلی در عضله صاف دستگاه گوارش است. مطالعات قبلی در مورد اثر عصاره بومادران بر عضله صاف دستگاه گوارش نشان دهنده اثر آنتی اسپاسمودیک آن است (۳۳ و ۱۰). Yaeesh و همکاران نشان دادند که بومادران موجب مهار کانالهای کلسیمی شده و اثر آنتی اسپاسمودیک آن مربوط به اثر آنتاگونیستی بر کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ است (۱۱).

یافته‌ها نشان می‌دهد که برخی از ترکیبات عصاره بومادران نظیر سینتول (۳۴)، لوتولین (۳۵) و کارواکرول (۳۶) دارای اثرات شل‌کنندگی بر روی عضله صاف عروق هستند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اثرات مشاهده شده، می‌تواند مربوط به حضور این ترکیبات در عصاره بومادران باشد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که عصاره بومادران دارای اثر شل‌کنندگی غیر وابسته به

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان دهنده اثر شل‌کنندگی عصاره بومادران بر انقباض ناشی از فنیل افرین و کلورور پتاسیم در آئورت سینه ای رت است. اندوتلیوم از طریق تولید و ترشح برخی مواد نظیر نیتریک اکساید و پروستاگلیندین می‌تواند موجب مهار انقباض ماهیچه صاف جدار رگ گردد. به نظر نمی‌رسد که اندوتلیوم در اثر شل‌کنندگی عصاره نقشی داشته باشد زیرا در انقباض ناشی از فنیل افرین و کلورور پتاسیم در هر دو وضعیت حضور اندوتلیوم و عدم حضور اندوتلیوم اثر شل‌کنندگی عصاره مشاهده گردید. بنابراین به نظر می‌رسد که فاکتورهای ترشح شده توسط اندوتلیوم که بر روی عروق تأثیر دارند، در اثر شل‌کنندگی عصاره نقشی ندارند و اثر عصاره بطور مستقیم بر ماهیچه صاف جدار رگ اعمال می‌شود.

کلسیم فاکتور اصلی در جفت شدن تحریک - انقباض در سلول‌های ماهیچه صاف است (۲۶ و ۲۵). مسیرهای شناخته شده افزایش کلسیم داخل سلولی از طریق کانال‌های کلسیمی عمل کننده توسط رسپتور - Receptor-operated Ca^{2+} channels (ROCCs)، کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ (Voltage-dependent Ca^{2+} channels (VDCCs)، آزاد شدن کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی به وسیله فعال‌سازی IP_3 و رسپتورهای ریانودینی است (۲۷) که منجر به افزایش کلسیم درون سلولی شده و منجر به انقباض ماهیچه می‌گردد.

فنیل افرین آگونیست گیرنده های α_1 آدرنرژیک است که باعث انقباض ماهیچه صاف آئورت به وسیله جریان رو به داخل کلسیم از طریق کانالهای کلسیمی وابسته به گیرنده می‌شود. (۲۸) بنابراین احتمالاً اثر شل‌کنندگی عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین با تداخل در جریان ورودی کلسیم از طریق این کانالها اثر مهاری خود را اعمال می‌کند. اثر شل‌کنندگی عصاره بر انقباض ماهیچه صاف ناشی از فنیل افرین در حضور غلظت‌های تجمعی کلسیم نیز تأیید کننده این امر است که عصاره اثر مهار کنندگی خود را احتمالاً از طریق تداخل بر جریان ورودی کلسیم از طریق کانالهای کلسیمی وابسته به گیرنده اعمال می‌کند (۲۹).

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مشهد که با حمایت مالی خود انجام این پژوهش را ممکن ساختند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

اندوتلیوم بر روی عضله صاف عروق است، که بخش مهمی از این اثر احتمالا از طریق مهار جریان ورودی کلسیمی از طریق کانالهای کلسیمی وابسته به گیرنده و نیز کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ اعمال می‌گردد.

Evaluation of Vasorlaxant Effect of *Achillea Wilhelmsii* Hydroalcoholic Extract on Isolated Aorta in Rat

F. Harandizadeh (MSc)¹, M. Hosseini (PhD)², M. Behnam Rasouli (PhD)¹, S. Niazmand (PhD)^{3*}

1. Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2. Department of Physiology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
3. Cardiovascular Research Center, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

J Babol Univ Med Sci; 14(2); Mar 2012; pp: 39-46

Received: Jun 9th 2011, Revised: Sep 7th 2011, Accepted: Nov 9th 2011.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: *Achillea* is well known herb in traditional medicine which has anticonvulsant and tonic effects, however; it is used to treat tachycardia and angina pectoris. Some reports of antihypertensive and hypotensive effects of *Achillea wilhelmsii* are published. This study aimed to investigate the vasorelaxant effect of *Achillea wilhelmsii* hydroalcoholic extract on isolated aorta in rat.

METHODS: It was an interventional study in which 42 male Wistar rats (weighed 200-250 g) were divided randomly into 6 groups. In groups 1 and 2 the effect of the extract (1, 5 and 25 mg/ml) on contracted aorta by phenylephrine in intact and denuded endothelium were investigated. In groups 3 and 4 the effect of the extract on contracted aorta by chloride potassium in intact and denuded endothelium were investigated. In groups 5 and 6 the effect of the extract (5 mg/ml) on contracted aorta by phenylephrine and chloride potassium in the presence of cumulative calcium concentrations were evaluated by isolated tissue setup.

FINDINGS: In intact aorta contracted by phenylephrine, the extract relaxed 8%, 47% ($p<0.001$) and 45% ($p<0.001$), respectively, at concentrations 1, 5 and 25 mg/ml. In denuded endothelium aorta contracted by phenylephrine the extract relaxed 16% ($p<0.05$), 56% ($p<0.001$) and 54% ($p<0.001$), respectively, at concentrations 1, 5 and 25 mg/ml. In intact aorta contracted by chloride potassium the extract relaxed 18% ($p<0.01$), 57% ($p<0.001$) and 57% ($p<0.001$), respectively, at concentrations 1, 5 and 25 mg/ml. In denuded endothelium aorta contracted by chloride potassium the extract relaxed 2.5%, 47% ($p<0.001$) and 54.5% ($p<0.001$), respectively, at concentrations 1, 5 and 25 mg/ml. The extract (5 mg/ml) relaxed 7% ($p<0.001$), 12% ($p<0.001$), 22% ($p<0.001$) and 31.5% ($p<0.001$). The extract (5 mg/ml) relaxed 5.5% ($p<0.01$), 9.3% ($p<0.001$), 19% ($p<0.001$) and 74% ($p<0.001$) the contracted aorta by chloride potassium in the presence of cumulative calcium concentrations (from 10^{-5} to 10^{-2} respectively).

CONCLUSION: The extract showed endothelium-independent vasorelaxant effect. The relaxation mainly was mediated by inhibition of voltage- and receptor-dependent Ca^{2+} channels in vascular smooth muscle cells.

KEY WORDS: *Achillea wilhelmsii*, Aorta, Endothelium, Vasorelaxant.

*Corresponding Author;

Address: Department of Physiology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Tel: +98 511 8828564

E-mail: niazmands@mums.ac.ir

References

1. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. Harrison's principles of internal medicine. 15th ed. New York: McGraw-Hill Inc 2001; p:758.
2. Mirheydar H. Encyclopedia of medicinal plant: usage of plants in prevention and treatment of diseases. 5th ed. Tehran: Islamic Culture Press 2004; pp: 1-5. [in Persian]
3. Zargari A. Medicinal plants. 4th ed. Tehran: Tehran University Press 1997; pp: 106-11. [in Persian]
4. Arzi A, Akhavan M. The effect of hydroalcoholic extract of *Achillea millefolium* on analgesic effect of morphine in rats. J Babol Univ Med Sci 2001;3(12):11-14. [in Persian]
5. Mahady GB, Pendland SL, Stoia A, et al. In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to botanical extracts used traditionally for the treatment of gastrointestinal disorders. *Phytother Res* 2005;19(11): 988-91.
6. Stojanovic G, Radulovic N, Hashimoto T, Palic R. In vitro antimicrobial activity of extracts of four *Achillea* species: the composition of *Achillea clavennae* L. (Asteraceae) extract. *J Ethnopharmacol* 2005;101(1-3):185-90.
7. Asgary S, Naderi GA, Ghannadi AR, Gharipour M, Golbon S. Protective effect of *Achillea millefolium*, *Crataegus Curvisepala* and *Matricaria Chamomilla* on oxidative hemolysis of human erythrocytes and -SH capacity. *J Med Plants* 2003;2(6):41-8. [in Persian]
8. Rashidi I, Taheri Moghadam M, Mozaffari AR. Study of anti-inflammatory and healing effects of *Achillea millefolium* in the treatment of Indomethacin-induced gastric ulcer in rat. *J Qazvin Univ Med Sci* 2005;33:9-13. [in Persian]
9. Cavalcanti AM, Baggio CH, Freitas CS, et al. Safety and antiulcer efficacy studies of *Achillea millefolium* L. after chronic treatment in Wistar rats. *J Ethnopharmacol* 2006;107(2):277-84.
10. 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(8):582-8.
11. Yaesh S, Jamal Q, Khan AU, Gilani AH. Studies on hepatoprotective, antispasmodic and calcium antagonist activities of the aqueous-methanol extract of *Achillea millefolium*. *Phytother Res* 2006;20(7):546-51.
12. Evans WC, Evanc D. Treas and evans pharmacognosy. 15th ed. London: W.B. Saunders 2002; pp:369-70.
13. Dokhani S, Cottrell T, Khajeddin J, Mazza G. Analysis of aroma and phenolic components of selected *Achillea* species. *Plant Foods Hum Nutr* 2005;60(2):55-62.
14. Javidia K, Miri R, Sadeghpour H. Composition of the volatile oil of *Achillea wilhelmsii* C. Koch from Iran. *Daru J Pharm Sci* 2004;12(2):63-6.
15. Afsharypuor S, Asgary S, Lockwood GB. Constituents of the essential oil of *Achillea Wilhelmsii* from Iran. *Planta Med* 1996;62(1):77-8
16. Asgary S, Naderi G, Sarrafzadegan N, Mohammadifard N, Mostafavi S, Vakili R. Antihypertensive and antihyperlipidemic effects of *Achillea Wilhelmsii*. *Drugs Exp Clin Res* 2000;26(3):89-93.
17. Niazmand S, Saberi Z. The chronotropic and inotropic effects of aqueous-ethanolic extract of *Achillea millefolium* on rat's isolated heart. *Pharmacologyonline* 2010;3:791-8.
18. Khoori V, Nayebpour SM, Ashrafiyan Y, Naseri M. Effects of the methanol extract of *Achillea Santolina* on the electrophysiological characteristics of isolated atrioventricular node of male rat. *Gorgan Univ Med Sci* 1999;1(3):5-15. [in Persian]
19. Niazmand S, Esparham M. Cardiovascular effects of aqueous-ethanolic extract of *Achillea Wilhelmsii* in rabbit. *Pharmacologyonline* 2011;1:818-25.
20. De Souza P, Gasparotto A Jr, Crestani S, et al. Hypotensive mechanism of the extracts and artemetin isolated from *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) in rats. *Phytomedicine* 2011;18(10):819-25.

21. Khan AU, Gilani AH. Blood pressure lowering, cardiovascular inhibitory and bronchodilatory actions of *Achillea millefolium*. *Phytother Res* 2011;25(4):577-83.
22. Dall'acqua S, Bolego C, Cignarella A, Gaion RM, Innocenti G. Vasoprotective activity of standardized *Achillea millefolium* extract. *Phytomedicine* 2011;18(12):1031-6.
23. Babaei M, Abarghoei ME, Akhavan MM, et al. Antimotility effect of hydroalcoholic extract of yarrow (*Achillea millefolium*) on the guinea-pig ileum. *Pak J Biol Sci* 2007;10(20):3673-7.
24. Ko FN, Wu TS, Lu ST, Wu YC, Hung TF, Teng CM. Ca^{2+} channel blockade in rat thoracic aorta by protopine isolated from *corydalis tubers*. *Jpn J Pharmacol* 1992;58(1):1-9.
25. Wellman GC, Nelson MT. Signaling between SR and plasmalemma in smooth muscle: sparks and the activation of Ca^{2+} -sensitive ion channels. *Cell Calcium* 2003;34(3):211-29.
26. Lohn M, Furstenau M, Sagach V, et al. Ignition of calcium sparks in arterial and cardiac muscle through caveolae. *Circ Res* 2000;87(11):1034-9.
27. Imtiaz MS, Katnik CP, Smith DW, Van Helden DF. Role of voltage dependent modulation of store Ca^{2+} release in synchronization of Ca^{2+} oscillations. *Biophys J* 2006;90(1):1-23.
28. Thorneloe KS, Nelson MT. Ion channels in smooth muscle: regulators of intracellular calcium and contractility. *Can J Physiol Pharmacol* 2005;83(3):215-42.
29. McCarron JG, Bradley KN, MacMillan D, Muir TC. Sarcolemma agonist-induced interactions between $InsP_3$ and ryanodine receptors in Ca^{2+} oscillations and waves in smooth muscle. *Biochem Soc Trans* 2003;31(Pt 5):920-4.
30. Karaki H. Calcium regulation of smooth muscle contractility. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 1990;96(6):289-9.
31. Nelson MT, Quayle JM. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle. *Am J Physiol* 1995;268(4Pt1):C799-822.
32. Ozaki H, Ohyama T, Sato K, Karaki H. Ca^{2+} (+)-dependent and independent mechanisms of sustained contraction in vascular smooth muscle of rat aorta. *Jpn J Pharmacol* 1990;52(3):509-12.
33. Karamenderes C, Apaydin S. Antispasmodic effect of *Achillea nobilis* L. subsp. *sipylea* (O. Schwarz) Bässler on the rat isolated duodenum. *J Ethnopharmacol* 2003;84(2-3):175-9.
34. Lahlou S, Figueiredo AF, Magalhães PJ, Leal-Cardoso JH. Cardiovascular effects of 1, 8-cineole, a terpenoid oxide present in many plant essential oils, in normotensive rats. *Can J Physiol Pharmacol* 2002;80(12):1125-31.
35. Jiang H, Xia Q, Wang X, Song J, Bruce IC. Luteolin induces vasorelaxation in rat thoracic aorta via calcium and potassium channels. *Pharmazie* 2005;60(6):444-7.
36. Peixoto-Neves D, Silva-Alves KS, Gomes MD, et al. Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. *Fundam Clin Pharmacol* 2010;24(3):341-50.