●مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره نهم، شمارهٔ ۲، خرداد – تیر ۱۳۸٦، صفحه ۷-۱۰
دریافت: ۸۵/۸/۹، ارسال جهت اصلاح: ۸۵/۱۰/٦، پذیرش: ۸٦/۲/۲٦

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

مهرداد روغنی [*1]، محمد واسعی [2]
۱- دانشیار گروه فیزیولوژی مرکز تحقیقات گیاهان داروئی دانشگاه علوم پزشکی شاهد۲- 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 برتون 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 ۱٤±۲۵۱ 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 حلقه‌های آئورت سینه‌ای 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 معنی‌دار در میزان تون استراحتی در گروههای 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 نتیجه‌گیری: 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.*

مجلهٔ 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 آترواسکلروز و بیماریهای قلبی-عروقی می گردد (۱). در همین ارتباط پاسخ انقباضی برخی نواحی عروقی شامل آئورت سینه ای به نورآدرنالین و کلرور 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 منقبض کننده قوی عضلات صاف عروق، افزایش تولید برخی از پروستاگلاندین های تنگ کننده عروقی و کاهش توانائی تولید فاکتورهای گشاد کننده عروقی با منشأ اندوتلیال نظیر نیتریک اکسید مطرح می باشد (۲). با توجه به افزایش دانش بشری در مورد هتروژنیته این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات مؤثر در درمان دیابت با عوارض جانبی کمتر به شدت احساس می‌گردد. 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

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.2.1.4]

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 (۴و۵).

به علاوه، اثرات حفاظتی سیاهدانه از نظر کاهش دادن میزان پراکسیداسیون لیپیدی و تجزیه ذخایر پروتئینی داخل سلول تحت شرایط استرس زا در گلبولهای 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 تائید 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 صحرائی مورد بررسی قرار گرفت

مواد و روشها

مطالعه به صورت تجربی بر روی ۱۸ سر موشهای صحرایی نر بالغ سفید نژاد ویستار با وزن ۱۴±۲۵۱ گرم استفاده گردید. تمام حیوانات در آزمایشگاه حیوانات دانشکده پزشکی در دمای ۲۲-۲۰ ^{o}C در گروههای ۴-۳ 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:

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

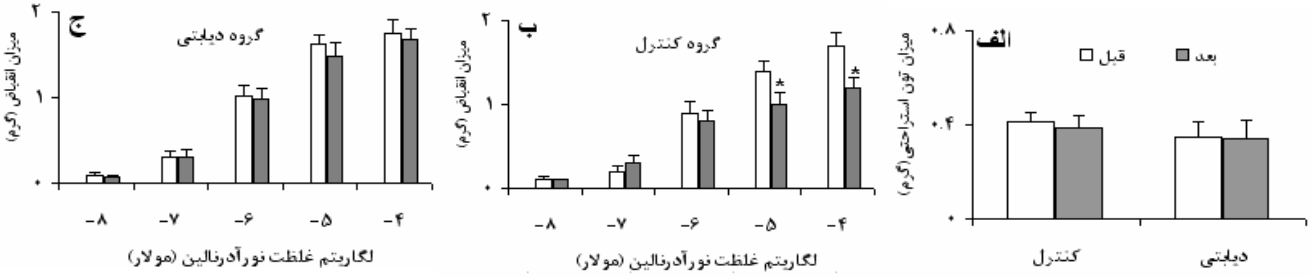
در داخل محلول کربس سرد، آئورت به حلقه هایی به طول حدوداً ۴ میلیمتر تقسیم گردید. برای ثبت پاسخ حلقه های آئورتی، آنها به کمک سیمهای پلاتینی L شکل که بموازات هم قرار می گرفتند از یک طرف به قلاب فلزی و از طرف دیگر به ترانس دیوسر ایزومتریک F-60 متصل شدند. در این بررسی کشش اولیه اعمال شده ۲ گرم بود. پس از 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 تأئید 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 ساتتی گراد منتقل گردید. جهت ثبت و تفسیر داده‌ها از نرم‌افزار فیزیوگراف ۱ (شرکت بهینه آرمان، تهران) استفاده گردید. میزان انقباض نیز بصورت گرم گزارش گردید.

از نظر آماری، تمامی نتایج بصورت Mean ± S.E.M. بیان گردید. برای مقایسه نتایج هر پارامتر در هر یک از گروه‌ها 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.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.2.1.4]

یافته ها

نتایج مطالعه نشان داد که در هفته قبل از بررسی از نظر وزن هیچگونه تفاوت معنی‌دار بین گروهها یافت نشد. به علاوه، در موشهای دیابتی یک کاهش معنی‌داری (p<۰/۰۵) 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<۰/۰۰۱). 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 معنی‌داری 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<۰/۰۵). 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<۰/۰۵

بحث و نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که اضافه نمودن عصاره متانولی سیاهدانه در دوز بکار رفته هیچگونه تغییر معنی‌داری 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. شفیعی و همکاران قبلاً اثر مهاری 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 اندوتلیوم 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 توانائی 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 (۱۰و۱۱). احتمالاً این تغییر در بررسی حاضر نیز به وقوع پیوسته است. در توجیه اثر سودمند عصاره سیاهدانه در کاهش حداکثر

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.2.1.4]

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 (۱۲و۱۳). 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 دراین خصوص تحت تاثیر قرار نمی گیرد.

****

References

1.Suji G, Sivakami S. Approaches to the treatement 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 a1-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: ۰۲۱-۸۸۹٦٤۷۹۲.
mehjour@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.2.1.4]