اثر ضدانقباضی عصاره برگ مو بر نای جدا شده موش صحرایی

محمدکاظم غریب‌ناصری[۱]*، اکبر حیدری[۲]

۱- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
۲- دانشجوی رشته داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
* آدرس مکاتبه: اهواز، دانشگاه علوم پزشکی اهواز، دانشکده پزشکی، صندوق‌پستی: ۱۸۹، کدپستی ۶۱۳۳۵
تلفن: ۵۰-۳۳۶۷۵۴۳ (۰۶۱۱)، نمابر: ۳۳۳۲۰۳۶ (۰۶۱۱)
پست الکترونیک: gharibnaseri_m@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۸۳/۴/۱۰ **تاریخ تصویب:** ۱۳۸۴/۳/۲۲

چکیده

مقدمه: تاکنون گزارش‌هایی درباره اثر آنتی‌اکسیدانی، کاهش فشار خون و اثر اتساعی عروقی عصاره دانه انگور و پوست میوه آن ارایه شده است. اثرات شل‌کننده برگ انگور بر انقباض ایلئوم، رحم و آئورت موش صحرایی و اثرات کاهنده نیروی انقباضی و ضربان قلب قورباغه نیز گزارش شده است.

هدف: در این تحقیق اثرات عصاره آبی الکلی برگ مو[۱] بر فعالیت انقباضی نای موش صحرایی بررسی شد. نای از موش‌های صحرایی نر جدا گردید و انقباضات آن به روش ایزومتریک درحمام بافت حاوی محلول کربس ـ هانسلیت اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهند که عصاره آبی الکلی برگ مو (۰/۵، ۱، ۲، ٤ و ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) انقباض ناشی از کلرورپتاسیم (۶۰ mM) و استیل‌کولین (۵۵ μM) را در نای جدا شده به صورت وابسته به غلظت و معنی‌دار کاهش داد ($p< ۰/۰۰۰۱$). حضور پروپرانولول (۱ μM) و یا L-NAME (مهارکننده نیتریک اکساید سنتاز، ۱۰۰ μM) اثری بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم نداشت. همچنین، عصاره در حضور پروپرانولول، L-NAME و آتروپین (۳۰ μM) همچنان اثر شل کننده خود را نشان داد.

نتیجه‌گیری: از نتایج این تحقیق می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که اثر شل‌کننده عصاره آبی الکلی برگ مو بر نای موش صحرایی احتمالاً از طریق انسداد کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ انجام می‌شود. همچنین به نظر می‌رسد که، رسپتورهای بتا آدرنرژیک،NO و رسپتورهای کولینرژیک در این عملکرد مهاری دخالتی ندارند.

گل‌واژگان: برگ مو، نای، موش صحرایی، آنتی اسپاسمودیک

[1] *Vitis vinifera* L.

مقدمه

مو گیاهی است از خانواده Vitaceae که منشای آن را آسیای صغیر می‌دانند [۱]. برگ انگور در بعضی از کشورها از جمله ایران به مقدار کم در رژیم غذایی (دلمه برگ مو) مصرف می‌شود. در کتب گیاهان دارویی در مورد خواص ضداسهال، ضداستفراغ و ضدواریس برگ مو اشاره شده است [۲]. درباره خواص عصاره دانه انگور و حتی پوست میوه انگور مطالعات زیادی انجام شده است. از جمله ترکیبات مهم شناخته شده در انگور، فلاوونوییدها از گروه پلی‌فنل‌ها می‌باشند [۱]. عصاره دانه انگور سبب کاهش غلظت لیپیدهای خون خرگوش‌های مبتلا به هیپرلیپیدیمیا شده ولی مصرف طولانی مدت این عصاره اثر سمی ندارد [۳،٤]. از انواع پلی‌فنل‌ها که به فراوانی در انگور یافت می‌شود می‌توان به فلاوونوییدها از جمله آنتوسیانیدین‌ها اشاره کرد و اخیراً نشان داده شده است که پروسیانیدین‌های موجود در دانه انگور موجب شل شدن وابسته به اندوتلیال در شریان انسانی می‌شود [۱،۵] و این اثر از طریق NO و با افزایش cGMP انجام می‌شود و احتمالاً باز شدن کانال‌های پتاسیمی حساس به تترا اتیل آمونیوم به وسیله پروسیانیدین‌ها عامل شل شدن آئورت باشد [٦،۷]. فلاوونویید Dioclein نیز با افزایش cGMP در آئورت، سبب شلی وابسته به اندوتلیال می‌شود [۸]. اثرات حفاظتی پروسیانیدین‌های دانه انگور در برابر استرس اکسیداتیو، کاتاراکت، سرطان پستان و کولون و نیز اثر افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی پلاسما گزارش شده است [۹،۱۰،۱۱،۱۲]. در مورد اثرات عصاره آبی الکلی برگ مو می‌توان به اثر مهاری این عصاره بر انقباضات ایلئوم ناشی از کلرورپتاسیم و استیل‌کولین و انقباضات ناشی از اکسی‌توسین در رحم در موش صحرایی و اثر مهاری بر نیروی انقباضی و ضربان قلب جدا شده قورباغه اشاره نمود [۱۳،۱٤،۱۵]. اثر مهاری اخیر بر قلب ناشی از عملکرد کولینرژیکی مواد تشکیل‌دهنده عصاره نبوده است، زیرا آتروپین قادر به حذف اثرات استیل‌کولین در قلب بوده ولی بر عملکرد مهاری عصاره بی‌اثر بوده است. همچنین عصاره اثرات کورونوتروپیک مثبت اپی‌نفرین را نیز کاهش داده است. بررسی انجام شده نشان می‌دهد که تاکنون در مورد اثرات فارماکولوژیکی دانه و یا برگ انگور بر فعالیت انقباضی عضله صاف سیستم تنفس تحقیق نشده است. لذا هدف تحقیق حاضر بررسی اثر عصاره آبی الکلی برگ مو بر عضله صاف نای جدا شده موش صحرایی و مطالعه مکانیسم آن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

الف ـ تهیه عصاره

برگ‌های انگور در فروردین ماه پس از خشک کردن در سایه، آسیاب شده و به صورت پودر درآمد. پودر برگ به مدت ۷۲ ساعت در الکل ۷۰ درصد خیسانده و در هر روز در چند نوبت مخلوط به هم زده شد [۱٦]. سپس، مخلوط از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده و حلال عصاره در دمای اتاق تبخیر شد. پودر عصاره تا زمان استفاده در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. نسبت استخراج عصاره از پودر برگ ۱۹ درصد بود.

ب ـ حیوانات و آماده‌سازی نای

موش‌های صحرایی نر از نژاد Sprague Dalwey (۵ ± ۲۰۰/۲ گرم) تهیه شده از اتاق حیوانات دانشکده پزشکی اهواز در قفس‌های پلی‌کربنات به صورت چند تایی و در دمای۲۰ تا ۲٤ درجه سانتی‌گراد و سیکل روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. موش‌ها با تزریق کتامین (۵۰ mg/kg, ip) بیهوش شده، قفسه سینه تا زیر فک پایین حیوان شکافته شد و حدود ۲ سانتی‌متر از نای جدا گردید. بلافاصله در محلول سرد و اکسیژنه کربس ـ هانسلیت قرار داده شد و بافت‌های پیوندی با دقت از آن جدا گردید. نای به چند قطعه به طول ۵ میلی‌متر (دارای ۵ تا ٦ حلقه غضروفی) تقسیم گردید. قطعه نای آماده شده بلافاصله به درون حمام بافت (۱۰ میلی‌لیتر) و بین دو میله افقی ازجنس استیل زنگ نزن قرار داده شد که یکی به طور ثابت در ته حمام بافت قرار داشت و دیگری از طریق نخ به ترانسدیوسر ایزومتریک (UF1 Harvard Transducer) متصل بود و انقباضات نای به وسیله دستگاه ثبات (Universal Harvard Osilloghraph) بر

روی کـاغذ با سرعت mm/S ۰/۱ ثبت می‌شد. محلول حمام کربس ـ هانسلیت (۳۷ درجه سانتی‌گراد، pH برابر ۷/٤) و ترکیب آن برحسب mM به قرار زیر می‌باشد [۱۷]: NaCl (۱۱۸)، KCl (٤/۷)، $CaCl_2$ (۲/۵۲)، $MgSO_4$ (۱/٦٤)، KH_2PO_4 (۱/۱۸)، $NaHCO_3$ (۷) و گلوکز (۵/۵). جریان دایم حباب‌های کوچک اکسیژن از ته حمام برقرار بود. میزان کشش اولیه ۱/۵ گرم و مدت دوره سازگاری ٦۰ دقیقه بود که طی آن، هر ۱۵ دقیقه محلول حمام تعویض می‌گردید.

ج ـ روش کار

پس از سپری شدن دوره سازگاری، قطعه نای توسط کلرورپتاسیم (٦۰ mM) منقبض گردید. سپس، در حالتی که انقباض به حالت کفه رسیده یکی از غلظت‌های عصاره برگ مو (با غلظت نهایی ۰/۵، ۱، ۲، ٤ و ۸ mg/ml) به حمام بافت اضافه گردید و میزان شلی پس از رسیدن به حالت کفه اندازه‌گیری شد. پس از استفاده از هر غلظت عصاره، محلول حمام سه بار تعویض و به مدت حداقل ۱۰ دقیقه و در نهایت، برگشت تون به حالت پایه و پس از کلرورپتاسیم، غلظت بعدی عصاره اضافه شد. در گروه دیگر از موش‌های صحرایی از استیل‌کولین (۵۵ μM) جهت انقباض نای استفاده شد و مشابه مرحله قبل، از غلظت‌های مختلف عصاره استفاده گردید. جهت بررسی نقش نیتریک اکساید (NO) بر عملکرد عصاره، ابتدا شلی ناشی از غلظت ۳ mg/ml عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم (٦۰ mM) ثبت گردید. پس از شستشو و استراحت بافت، همین مراحل پس از ۱۰ دقیقه حضور مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز (L-NAME) با غلظت ۱۰۰ μM تکرار شد. جهت بررسی دخالت رسپتورهای بتا آدرنرژیک نیز از پروپرانولول (۱ μM) به مدت ۱۰ دقیقه و با روشی مشابه L-NAME استفاده گردید. در پایان هر آزمایش، آب اضافه بافت با کاغذ صافی جذب و سپس دقیقاً توزین می‌گردید. در هر گروه، نیروی انقباضی و یا درصد تغییرات نیروی انقباضی نای به صورت mean ± SEM محاسبه شده‌اند. بررسی آماری نتایج گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون‌های آماری t-test و ANOVA یک‌طرفه انجام شد و مقادیر P کوچکتر از ۰/۰۵ قابل ملاحظه تلقی گردید. کلیه نمک‌های محلول حمام، محصول شرکت مرک (آلمان)، استیل‌کولین، آتروپین، پروپرانولول و L-NAME از شرکت سیگما (امریکا) تهیه شده‌اند. حلال عصاره و کلیه مواد، محلول کربس ـ هانسلیت بود.

نتایج

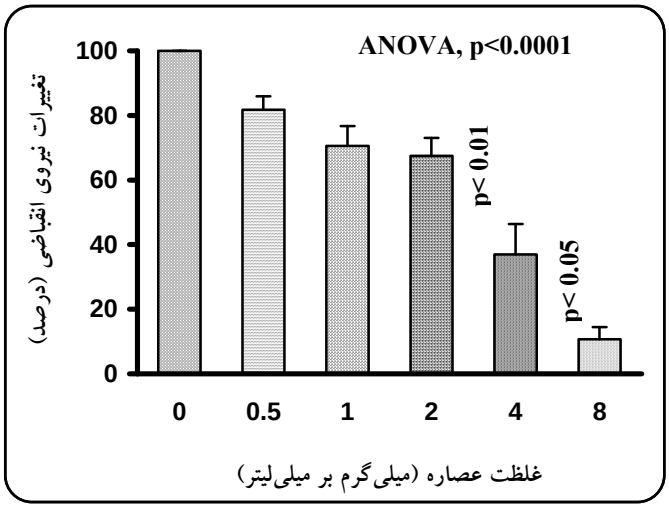
الف ـ اثر عصاره بر انقباض نای ناشی از کلرورپتاسیم

ابتدا طی دو مرحله جداگانه انقباض نای ناشی از کلرورپتاسیم با غلظت نهایی ٦۰mM ثبت گردید تا از تکرارپذیر بودن پاسخ‌ها به کلرورپتاسیم و ثبات نسبی کفه انقباض اطمینان حاصل شود [۱۸]. در مراحل بعد، پس از به کفه رسیدن پاسخ‌ها به کلرورپتاسیم، غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکلی برگ مو (۰/۵، ۱، ۲، ٤ و ۸ mg/ml) به حمام اضافه شد که به صورت وابسته به غلظت و قابل ملاحظه سبب شل شدن نای گردید (تعداد = ۸ و $p<$ ۰/۰۰۰۱ با ANOVA یک‌طرفه). در نمودار شماره ۱ نتایج این مرحله از تحقیق و در نمودار شماره ۷ (A) نمونه‌ای از ثبت حقیقی اثرات دو غلظت مختلف عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم در نای مشاهده می‌شود. از ویژگی‌های مهم اثر مهاری عصاره، برگشت‌پذیر بودن آن است و لذا با شستشو و تعویض محلول حمام بافت اثر مهاری ایجاد شده برطرف گردید و بافت مجدداً آماده انقباض بود. در نمودار شماره ۱ همچنین مقایسه آماری (t-test) بین اثر غلظت‌های مختلف عصاره نشان داده شده است.

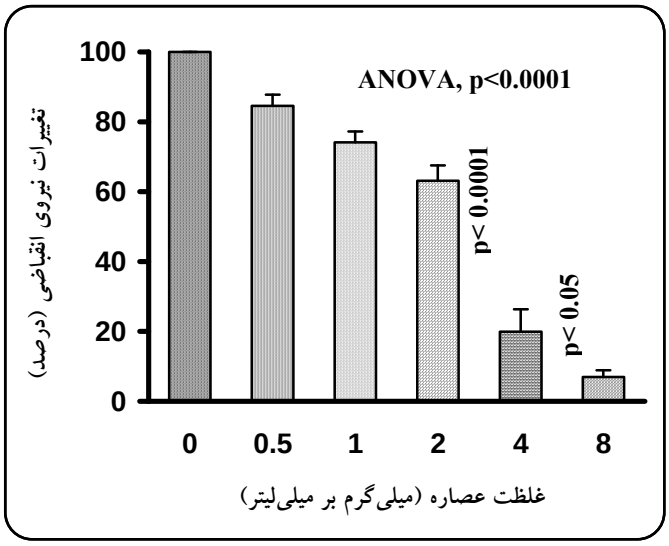
ب ـ اثر عصاره بر انقباض نای ناشی از استیل‌کولین

در ابتدای این قسمت نیز، طی دو مرحله جداگانه از تشابه پاسخ‌های انقباضی نای به استیل‌کولین (۵۵ μM) اطمینان حاصل شد. در مراحل بعد، پس از هر بار اضافه کردن استیل‌کولین به حمام بافت و رسیدن انقباض به حالت کفه، عصاره آبی الکلی برگ مو با غلظت‌های مختلف (۰/۵، ۱،۲، ٤ و ۸ mg/ml) به حمام اضافه شد [۱۹]. عصاره در این مرحله نیز به صورت وابسته به غلظت و قابل ملاحظه اثر انقباضی استیل‌کولین را کاهش داد (تعداد = ۸ و $p<$ ۰/۰۰۰۱ با ANOVA یک‌طرفه). بعد از استفاده از هر غلظت عصاره، حمام بافت سه بار شستشو و تعویض می‌گردید و حداقل ۱۰

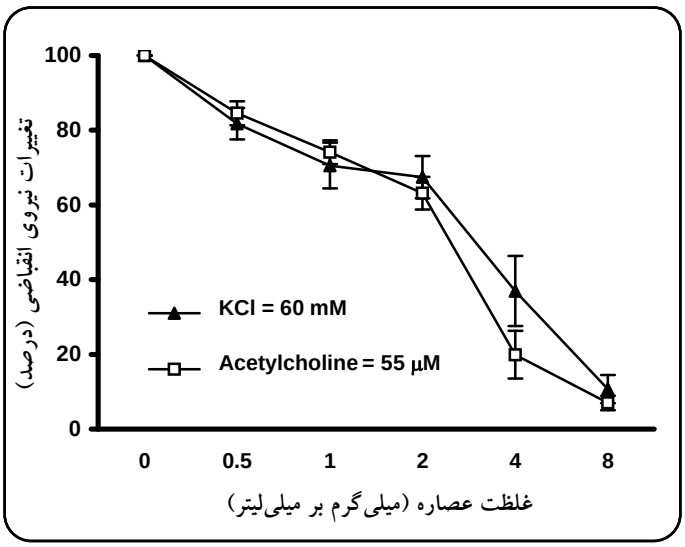
دقیقه به بافت استراحت داده می‌شد. نمودار شماره ۲ نتایج این مرحله و در نمودار شماره ۷ (B) نمونه ثبت حقیقی از تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره بر انقباض ناشی از استیل‌کولین در نای را نشان می‌دهند. همان‌طوری که در نمودار شماره ۳ مشاهده می‌شود، تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره بر انقباضات ناشی از کلرورپتاسیم و استیل‌کولین تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.



نمودار شماره ۱ ــ درصد عملکرد مهاری غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکلی برگ مو بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰mM) در نای جدا شده موش صحرایی (n = ۸). انقباض ناشی از کلرورپتاسیم به تنهایی (بدون حضور عصاره) به عنوان پاسخ ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شده است. مقدار P با روش ANOVA کوچکتر ۰/۰۰۰۱ و مقایسه آماری اثر غلظت‌های عصاره در نمودار نشان داده شده‌اند.



نمودار شماره ۲ ــ درصد عملکرد مهاری غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکلی برگ مو بر انقباض ناشی از استیل‌کولین (۵۵μM) در نای جدا شده موش صحرایی (n = ۸). انقباض ناشی از استیل‌کولین به تنهایی (بدون حضور عصاره) به عنوان پاسخ ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شده است. مقدار P با روش ANOVA کوچکتر ۰/۰۰۰۱ و مقایسه آماری اثر غلظت‌های عصاره در نمودار نشان داده شده‌اند.



نمودار شماره ۳ ـ مقایسه درصد عملکرد مهاری غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکلی برگ مو بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم (۶۰mM) و استیل‌کولین (۵۵µM) در نای جدا شده موش صحرایی (n در هر گروه = ۸). همان‌طوری‌که مشاهده می‌شود تاثیر مهاری عصاره همه غلظت‌ها در این دو گروه تفاوت معنی‌داری ندارند.

ج ـ اثر مهار سنتز اکسید نتیریک بر شلی ناشی از عصاره برگ مو در نای

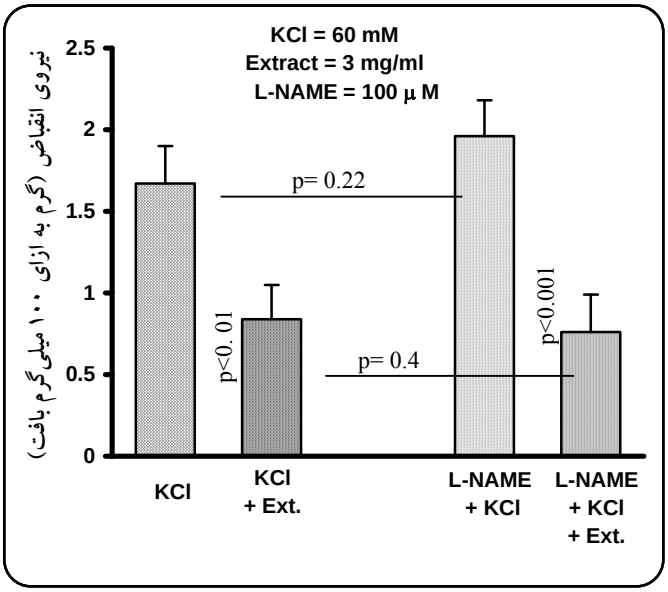
به منظور مشخص نمودن دخالت احتمالی NO در شلی ناشی از عصاره، ابتدا نای به وسیله کلرورپتاسیم (۶۰ mM) منقبض و سپس عصاره با غلظت ۳ mg/ml (با حدود ۵۰ درصد عملکرد مهاری) به حمام اضافه شد و شلی ناشی از عصاره ثبت گردید. در مرحله بعد، ابتدا L-NAME با غلظت ۱۰۰ µM به حمام افزوده و پس از ۱۰ دقیقه کلرورپتاسیم و عصاره با همان غلظت اضافه شد [۲۰]. همان‌طوری که در نمودار شماره ٤ مشاهده می‌شود حضور L-NAME سبب تغییر نیروی انقباضی ناشی از کلرورپتاسیم در نای نشده و همچنین مهار آنزیم نیتریک اکساید سنتاز تاثیری بر عملکرد مهاری عصاره نداشته است (تعداد = ۸). نمونه ثبت حقیقی این مرحله در نمودار شماره ۷ (C) دیده می‌شود.

د ـ اثر مهار رسپتورهای بتا ـ آدرنرژیک بر عملکرد مهاری عصاره

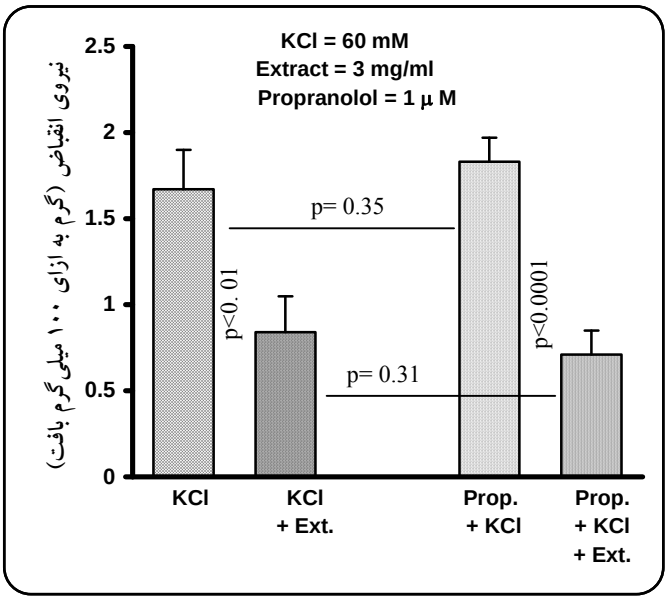
در این مرحله، پس از ثبت اثر انقباضی ناشی از کلرورپتاسیم (۶۰mM) و شلی ناشی از غلظت ۳ mg/ml (با حدود ۵۰ درصد عملکرد مهاری) عصاره و شستشو و استراحت بافت، ابتدا در حمام بافت پروپرانولول با غلظت ۱ µM افزوده و پس از ۱۰ دقیقه، مجدداً کلرورپتاسیم و عصاره به همان ترتیب قبلی اضافه شد [۲۱]. نمودار شماره ۵ نشان می‌دهد که حضور پروپرانولول اثری بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم و نیز بر عملکرد مهاری عصاره ندارد (تعداد = ۸). نمونه ثبت حقیقی این مرحله در نمودار شماره ۷ (D) دیده می‌شود.

ر ـ بررسی اثر آنتی‌کولینرژیکی احتمالی عصاره

با توجه به اینکه عصاره اثرات انقباضی استیل‌کولین را کاهش داد، به منظور تایید و یا رد وجود مواد آنتی‌کولینرژیکی در عصاره، روش زیر اجرا گردید. ابتدا به عنوان شاهد، بافت به وسیله کلرورپتاسیم (۳۰ µM) منقبض و پس از رسیدن انقباض به حالت کفه، استیل‌کولین (۲۷ µM) اضافه شد که موجب افزایش انقباض نای گردید. اضافه کردن آتروپین (۳۰ µM) سبب از بین رفتن انقباض ناشی از استیل‌کولین و حدود ۵۰ درصد پاسخ انقباضی کلرور پتاسیم شد. پس از شستشوی بافت و ۲۰ دقیقه استراحت، ابتدا آتروپین (۳۰ µM) به مدت ۱۰ دقیقه و سپس کلرورپتاسیم (۳۰ mM) اضافه شد که سبب انقباض نای گردید. پس از رسیدن انقباض به حالت کفه،

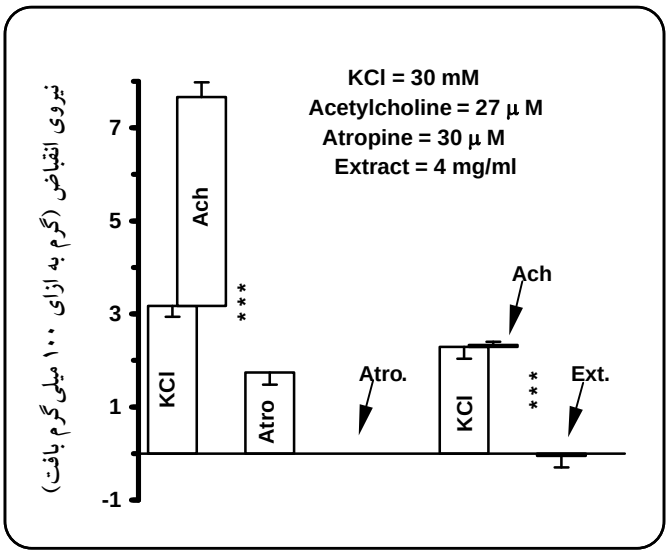


نمودار شماره ٤ ــ مقایسه تاثیر مهاری عصاره آبی الکلی برگ مو بر انقباض ناشی از کلروپتاسیم (٦٠mM) در نای موش صحرایی در غیاب و در حضور مهار کننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز (n = ٨). به طوری‌که مشاهده می‌شود حضور L-NAME تاثیری بر انقباض و نیز عملکرد مهاری عصاره نداشته است.

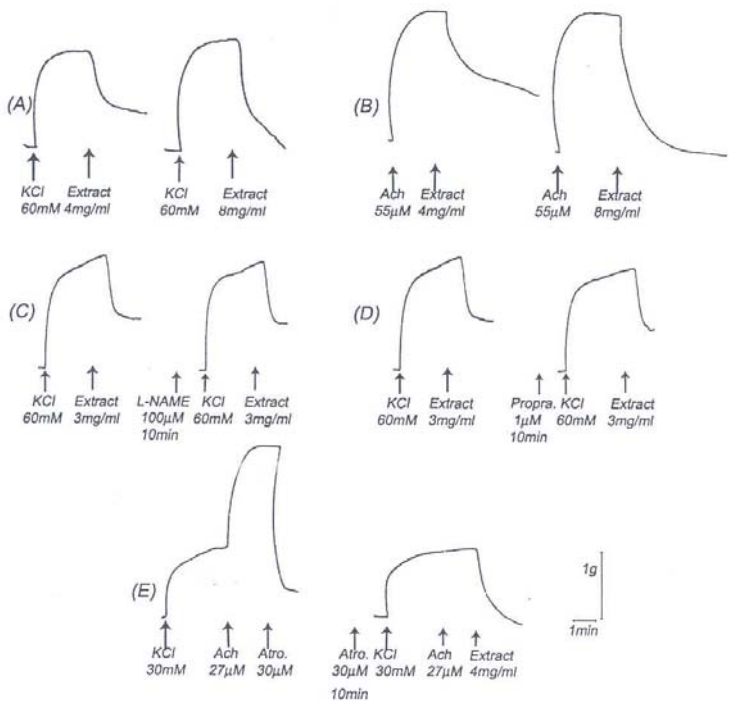


نمودار شماره ٥ ــ مقایسه تاثیر مهاری عصاره آبی الکلی برگ مو بر انقباض ناشی از کلروپتاسیم (٦٠mM) در نای موش صحرایی (n= ٨) در غیاب و پس از ١٠ دقیقه حضور آنتاگونیست بتا ــ آدرنوسپتور (propranolol ،١ μM). به طوری که مشاهده می‌شود پروپرانولول تاثیری بر انقباض و نیز عملکرد مهاری عصاره نداشته است.

استیل‌کولین (۲۷ μM) اضافه شد که بـه دلیـل وجـود آتـروپین، انقباض اضافی حاصل نگردید. اضافه کردن عصـاره (٤ mg/ml) به حمام، انقباض قبلی ناشی از کلرورپتاسیم را کاملاً از بین بـرد. نتایج این مرحله در نمودار شماره ٦ و نمونه ثبت حقیقی آن در نمودار شماره ۷ (E) مشاهده می‌شود.



نمودار شماره ٦ ــ مقایسه تاثیر مهاری آتروپین و عصاره بر عملکرد انقباضی کلرورپتاسیم و استیل‌کولین بر نای جدا شده موش صحرایی (n = ۷).
همان‌طوری‌که مشاهده می‌شود آتروپین ضمن حذف اثر استیل‌کولین بخشی از پاسخ به کلرورپتاسیم را نیز کاهش داده به طوری‌که کل اثر مهاری، قابل ملاحظه می‌باشد.
عصاره در حضور آتروپین، جمع پاسخ انقباضی به این دو محرک را به طور کامل از بین برده است (* * * = ۰/۰۰۰۱ >p).



نمودار شماره ۷ ــ نمونه ثبت حقیقی از مراحل مختلف این تحقیق نشان داده شده است.

بحث

در تجربه حاضر، عصاره آبی الکلی برگ مو انقباض ناشی از کلروپتاسیم و استیل‌کولین را در نای موش صحرایی به صورت وابسته به غلظت کاهش داد. طی تحقیقات قبلی مشخص گردید که عصاره آبی الکلی برگ مو انقباضات ناشی از کلروپتاسیم و استیل‌کولین را در ایلئوم و انقباضات ناشی از کلروپتاسیم و اکسی‌توسین را در رحم موش صحرایی مهار کرده و پیشنهاد شده است این عمل مهاری از طریق مسدود شدن کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ انجام می‌شود [۱۳،۱٤]. وقوع دپولاریزاسیون به وسیله غلظت زیاد پتاسیم خارج سلولی و به دنبال آن بروز انقباض در عضله صاف نای موش صحرایی و دخالت کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ نوع L به اثبات رسیده است [۲۲]. تاثیر کاهنده وراپامیل (مسدود کننده کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ نوع L) بر انقباض ناشی از کلروپتاسیم در نای موش صحرایی، مؤید این نظریه می‌باشد [۲۳]. نتایج حاصل از تاثیر عصاره حاضر بر انقباض ناشی از کلروپتاسیم با نتایج به دست آمده در ایلئوم، رحم و آئورت همخوانی دارد [۱۳،۱٤،۲٤]. لذا می‌توان پیشنهاد نمود که عملکرد مهاری عصاره برگ مو نتیجه مهار کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ نوع L بوده است و مشابه همین استنتاج نیز قبلاً ارایه شده است [۲۱]. همچنین عملکرد مهاری این عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین و کلروپتاسیم در آئورت جدا شده موش صحرایی نیز گزارش گردیده است [۲٤]. در این گزارش آمده است مهارکننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز و متیلن بلو عملکرد مهاری عصاره را کاهش داده و لذا پیشنهاد شده است که در مورد آئورت موش صحرایی، رهایش NO و cGMP عامل اصلی شل شدن آئورت می‌باشد و فلاوونوییدهای موجود در برگ مو را مسؤول این اثر دانسته‌اند [۲٤]. این نتایج با اثرات مشاهده شده از تاثیر عصاره دانه انگور بر شریان جدا شده انسان نیز همخوانی داشته است [۵]. با این وجود، عدم تاثیر مهار آنزیم نیتریک اکساید سنتاز به وسیله L-NAME در تجربه حاضر موید آن است که عملکرد مهاری عصاره در این تجربه بدون دخالت روند سنتز NO بوده است. گزارش شده که cGMP سبب بازگردانیدن کلسیم به داخل رتیکولوم سارکوپلاسمیک و بروز شلی در عضله صاف نای می‌گردد و از طرف دیگر، فلاوونویید Dioclein نیز با افزایش cGMP در آئورت، سبب شلی آن می‌شود [۸،۲۵]. لذا اگر چه در تحقیق حاضر L-NAME نتوانست مانع بروز اثر مهاری عصاره گردد ولی ممکن است شلی نای ناشی از عصاره نتیجه تاثیر فلاوونوییدهای برگ مو در افزایش cGMP ولی بدون دخالت آنزیم نیتریک اکساید سنتاز باشد [۲٦]. زیرا گزارش شده است که نای موش صحرایی بدون فعال کردن آنزیم نیتریک اکساید سنتاز می‌تواند NO و cGMP سنتز نماید. از طرف دیگر، مشخص گردیده که ایزوپرترنول (آگونیست رسپتورهای بتاـ آدرنرژیک) سبب شل شدن نای می‌گردد [۲۵]. لذا این احتمال وجود دارد که عصاره حاضر دارای خاصیت آگونیستی بتارسپتورها باشد. ولی عدم تاثیر پروپرانولول (آنتاگونیست غیر انتخابی بتا رسپتورها) بر عملکرد مهاری عصاره این پیشنهاد را رد می‌کند. همین استنتاج نیز در مورد عدم تاثیر پروپرانولول بر عملکرد مهاری عصاره بر انقباض ایلئوم و رحم نیز شده است [۱۳،۱٤] و نیز مهار اثر کرونوتروپیک مثبت آدرنالین توسط این عصاره در قلب پرفیوز شده قورباغه نیز تایید دیگری بر این ادعا می‌باشد [۱۵]. در تجربه حاضر امکان استفاده از هیستامین به عنوان منقبض کننده نای وجود نداشت زیرا نای موش صحرایی برخلاف خوکچه هندی به هیستامین حساس نیست [۲۷،۲۸،۲۹]. استیل‌کولین سبب دپولاریزاسیون سلول‌های عضله صاف نای خرگوش و موش صحرایی شده و از طریق افزایش غلظت کلسیم درون سلولی سبب انقباض نای می‌گردد و از طرف دیگر، استیل‌کولین از طریق افزایش IP_3 نیز سبب افزایش رهایش کلسیم از منابع درون سلولی رتیکولوم سارکوپلاسمیک می‌شود [۳۰،۳۱،۳۲]. اثر مهاری عصاره بر انقباض ناشی از استیل‌کولین در نای که در ایلئوم نیز مشاهده شده می‌تواند دلیلی بر وجود مواد آنتی‌کولینرژیک در عصاره باشد [۱۳]. ولی همان‌طوری که در قسمت نتایج اشاره شد، آتروپین حدود ۷۵ درصد مجموع انقباض ناشی از این دو محرک را کاهش داد که پس از حذف اثر انقباضی ناشی از استیل‌کولین مازاد آن می‌تواند نتیجه از بین بردن تون کولینرژیکی بافت باشد. عدم پاسخ‌گویی بافت به

استیل‌کولین و کمبود پاسخ به کلرورپتاسیم در مرحله بعد نیز به علت حضور آتروپین نیز به همین دلیل می‌باشد. در همین حال، اضافه نمودن عصاره (۳ mg/ml) سبب از بین رفتن کامل انقباض گردیده است که نشان می‌دهد، عملکرد عصاره نتیجه فعالیت آنتی‌کولینرژیکی آن نبوده بلکه روند عملکرد کلرورپتاسیم را مهار نموده است. این نتایج با گزارش‌های ارایه شده قبلی هم‌خوانی دارد که در طی آنها آتروپین قادر به حذف اثر مهاری ناشی از عصاره بر نیرو انقباضی و ضربان قلب پرفیوزشده قورباغه نبوده و نیز در حالی‌که آتروپین قادر به حذف اثر شل‌کننده استیل‌کولین در آئورت موش صحرایی بوده ولی عدم توانایی آتروپین در حذف اثر عصاره در همین بافت احتمال وجود خاصیت آنتی‌کولینرژیک را در عصاره منتفی می‌سازد [۱۵،۲٤]. لذا با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر و نیز سایر گزارش‌های مربوط به تاثیر این عصاره، بار دیگر احتمال انسداد کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ توسط عصاره برگ مو تایید و تقویت می‌گردد. همان‌طوری‌که در قسمت نتایج اشاره گردید، از بین رفتن سریع اثرات مشاهده شده از عصاره با شستشوی بافت و تعویض محلول حمام، نشان می‌دهد که عملکرد عصاره در سطح خارجی سلول‌ها رخ داده است. زیرا چنانچه مواد موثر عصاره از طریق مکانیسم‌های درون سلولی عمل کرده بودند این اثرات با شستشوی بافت به سرعت حذف نمی‌شدند. اینکه مصرف خوراکی عصاره آبی الکلی برگ مو بتواند روشی درمانی مناسبی برای بیماری آسم باشد و آیا بخور آن نیز بتواند مقاومت مجاری تنفسی بیماران مبتلا به آسم را کاهش دهد و اینکه آیا عصاره توانایی رفع انقباض ناشی از سایر عوامل منقبض‌کننده در نای را داشته باشد، نکاتی قابل توجه می‌باشد و خود می‌توانند زمینه‌ای برای تحقیقات آینده باشند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش به عنوان طرح تحقیقاتی از سوی شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اهواز تصویب شده و از حمایت مالی این دانشگاه برخوردار بوده است. لذا، مجری طرح از مسؤولان ذی‌ربط صمیمانه تشکر می‌نماید.

منابع

1. Bombardelli E, Morazzoni P. *Vitis vinifera* L. *Fitoterapia.* 1995; 66: 291-317.

۲. زرگری علی. *گیاهان دارویی*. جلد اول، انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳۷۱، صفحات ۳٦۵-۳٦۲.

3. Yu H, Zhao X, XU G and Wang SE. Effect of grape seed extracts on blood lipids in rabbits model with hyperlipidemia. *Wei Sheng Yan Jiu* 2002; 31: 114-116.

4. Rays S, Bagchi D, Lim PM, Bagchi M, Gross SM, Kothari SC, Preuss HG and Stohs SJ. Acute and long-term safety evaluation of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* 2001; 109: 165-197.

5. Aldini G, Carini M, Piccoli A, Rossoni G and Maffei Facino R. Procyanidins from grape seeds protect endothelial cells from peroxynitrite damage and enhance endothelium-dependent relaxation in human artery: new evidences for cardio-protection. *Life Sci.* 2003; 73: 2883-2898.

6. Fitzpatrick DF, Bing B, Maggi DA, Fleming RC and O'Malley RM. Vasodilating procyanidins derived from grape seed. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2002; 957: 78-89.

7. Kim SH, Kang KW, Kim KW and Kim ND. Procyanidins in crataegus extract evoke endothelium-dependent vasorelaxation in rat aorta. *Life Sci.* 2000; 67: 121-131.

8. Lemos VS, Fretas MR, Muller B, Lino YD, Queirogo CEG and Cortes SF. Dioclein, a new nitric oxide-and endothelium-dependent vasodilattor flavonoid. *Eur. J. Pharmacol.* 1999; 386: 41-46.

9. Sato M, Maulik G, Ray PS, Bagchi D and Das DK. Cardioprotective effects of grape seed

موش صحرایی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اهواز. دی ماه ۱۳۸۱. صفحه ۳۵.

18. Teixeira MCL, Coelho RR, Leal-Cardoso JH and Criddle DN. Comparative effects of niflumic acid and nefipine on 5-hydroxytryptamine-and acetylcholine-induced contraction of the rat trachea. *European Journal of Pharmacology*. 2000; 394: 117-122.

19. Agbonon A, Eklu-Gadegbeku K, Aklikokou K, Essien K, Akpagana K and Gbeassor M. The effect of *Mangifera indica* stem bark and *Pluchea ovalis* roots on tracheal smooth muscle *in vitro*. *Fitoterapia*. 2002; 73: 619- 622.

20. Chiu CC, Wu RJ, Lee CH, Liou SF, Dai ZK, Chen IJ and Yeh JL. Anti-hypertension effect vanylidilol: a phenylaldehyde alpha/beta-adrenoceptor blocker with endothelium-dependent and K^+ channels opening- associated vasorelaxant activities. *Pharmacology*. 2004; 70: 140-151.

21. Liao JF, Shi CC, Chen SY, Fu YT and Chen CF. Spasmolytic effect of water extract of Stemonae radix on the guinea-pig tracheal smooth muscle *in vitro*. *J. Ethnopharmacol.* 1997; 57: 57-62.

22. Bova S, Cavalli M, Cima L, Luciani S, Saponara S, Sgaragli G, Cargnelli G and Fusi F. Relaxant and Ca^{2+} channel blocking properties of norbormide on rat non-vascular smooth muscles. *Eur. J. Pharmacol.* 2003; 470: 185-191.

23. Chang KC, Ko HJ, Cho SD, Yoon YJ and Kim JH. Pharmacological charactristization of effects of verapamil and GS 283 on isolated guinea pig and rat trachealis. *Eur. J. Pharmacol.* 1993; 236: 51-60.

۲٤. غریب‌ناصری محمد کاظم، نوید حمیدی مژده و حیدری اکبر. اثر شل‌کننده عروقی عصاره برگ مو بر آئورت جدا شده موش صحرایی. *فصلنامه گیاهان دارویی*. ۱۳۸۲، شماره ۹، صفحات ٥٤- ٤٣.

25. McGrogan I, Lu S, Hipworth S, Sormaz L, Eng R, Preocanin D and Daniel EE. Mechanisms of cyclic nucleotide-induced relaxation in canine proanthocyanidins against ischemic reperfusion injury. *J. Mol. Cell Cardiol.* 1999; 31: 1289-1297.

10. Yamakoshi J, Saito M, Kataoka S and Tokutake S. Procyanidin-rich extract from grape seeds prevents cataract formation in hereditary cataractous (ICR/f) rats. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 4983-4988.

11. Singletary KW and Meline B. Effect of grape seed proanthocyanidins on colon aberrant crypts and breast tumors in a rat dual-organ tumor model. *Nutr. Cancer* 2001; 39: 252-258.

12. Koga T, Moro K, Nakamori K, Yamakoshi J, Hosoyama H, Kataoka S and Arigo T. Increase of antioxidative potential of rat plasma by oral administration of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *J. Agric. Food Chem.* 1999; 47: 1892-1897.

۱۳. غریب‌ناصری محمدکاظم، اعتماد ندا و نجفی اردکانی زلیخا. اثر عصاره آبی الکلی برگ مو (*Vitis vinifera*) برفعالیت مکانیکی ایلئوم موش صحرایی. *مجله علمی پژوهشی دانشگاه شهید صدوقی یزد*، ۱۳۸۳، شماره ۳، صفحات ٤١ – ۳۵.

١٤. غریب‌ناصری محمدکاظم و احسانی پروین. اثر عصاره آبی الکلی برگ مو (*Vitis vinifera* L.) بر رحم جدا شده موش صحرایی باکره. *مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی*. ۱۳۸۲، شماره ۲، صفحات ١١٤–١٠٧.

۱۵. غریب‌ناصری محمدکاظم. اثر عصاره آبی الکلی برگ مو (*Vitis vinifera*) بر قلب پرفیوز شده قورباغه. *مجله طبیب شرق*. ۱۳۸۲، شماره ٤، صفحات ۲۳۵–۲۲۷.

١٦. صمصام‌شریعت هادی. *عصاره‌گیری مواد موثره گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آنها*. انتشارات مانی، اصفهان ۱۳۷۱، صفحات ۷–۱۳.

۱۷. گودینی علی‌اشرف. بررسی اثرات عصاره آبی الکلی برگ کنار (*Zizyphus spina christi*) بر سیستم قلب و عروق در

tracheal smooth muscle. *Am. J. Physiol.* 1995; 268: L407- L413.

26. Jia Y, Zacour M, Tolloczko B and Martin JG. Nitric oxide synthesis by tracheal smooth muscle cells by a nitric oxide synthase-independent pthway. *Am. J. Physiol.* 275: L895-L901.

27. Freire SM, Torres LM. Souccar C and Lapa AJ. Sympathomimetic effects of Scoparia dulcis L. and catecholamines isolaed from plant extracts. *J. Pharm. Pharmacol.* 1996; 48: 624-628.

28. Ikawati Z, Hayashi M, Nose M and Maeyama K. The lack of compound 48/80-induced contraction in isolated trachea of mast cell-deficient Ws/Ws rats *in vitro*: the role of connective tissue mast cells. *Eur. J. Pharmacol.* 2000; 402: 297-306.

29. Joos GF, Lefebvre RA, Bullock GR and Pauwels RA. Role of 5-hydroxytryptamine and mast cells in the tachykinin-induced contraction of rat trachea *in vitro*. *Eur. J. Pharmacol.* 1997; 338: 259-268.

30. Kamei K, Nabata H, Kuriyama H, Watanabe Y and Itoh T. Effect of KC399, a newly synthesized K^+ channel opener, on acetylcholine-induced electrical and mechanical activities in rabbit tracheal smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* 1995; 115: 1493-1501.

31. Roux E, Hyvelin J-M, Savineau J-P and Marthan R. Calcium signaling in airway smooth muscle cells is altered by *in vitro* exposure to the aldehyde acrolein. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1998; 19: 437-444.

32. Haberichter T, Roux E, Marhl M and Mazat J-P. The influence of different InsP3 receptor isomers on Ca^{2+} signaling in tracheal smooth muscle cells. *Bioelectrochemistry*. 2002; 57: 129-138.