اثر ضدانقباضی عصاره برگ آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) بر رحم موش صحرایی

محمدکاظم غریب‌ناصری[1*]، حمیده مظلومی[2]، مریم گشایش[2]، گلاره وکیل‌زاده[3]، اکبر حیدری[4]

۱- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
۲- دانشجوی رشته پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
۳- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
٤- دانشجوی رشته داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
* آدرس مکاتبه: اهواز، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، دانشکده پزشکی،
تلفن: ۳۳۳۰۰۷٤ (۰٦۱۱)، نمابر: ۳۳۳۲۰۳٦ (۰٦۱۱)
پست الکترونیک: gharibnaseri_m@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۳/۵/۲٦ **تاریخ تصویب:** ۸۳/۱۲/۳

چکیده

مقدمه: آویشن شیرازی یا آفیشن (*Zataria multiflora* Boiss) گیاهی از تیره نعناع است که ضدانقباض ایلئوم و کاهنده تشنج، التهاب و مسکن دردهای قاعدگی می‌باشد. ولی تاکنون تحقیق علمی درباره اثر این گیاه بر رحم گزارش نشده است. لذا هدف این تحقیق، بررسی اثر عصاره آبی الکلی برگ آویشن شیرازی بر انقباضات رحم موش صحرایی و تا حد امکان تعیین مکانیسم این اثر می‌باشد.

روش بررسی: از پودر برگ آویشن به روش خیساندن و با کمک الکل ۷۰ درصد عصاره‌گیری شد. رحم موش صحرایی بالغ و باکره (۱ تا ۱/۵ cm) تهیه و در حمام بافت حاوی محلول تایرود و یا دیژالون قرار داده شد. انقباضات بافت ناشی از کلرورپتاسیم، استیل‌کولین، اکسی‌توسین و کلروربااریم به روش ایزومتریک تحت نیم گرم کشش اولیه ثبت گردید.

یافته‌ها: عصاره (۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲ و ٤mg/ml) انقباضات رحم ناشی از کلرورپتاسم (٦۰mM) را به صورت وابسته به غلظت کاهش داد ($p<0/0001$). حضور پروپرانولول (۱ μM) تاثیری بر عملکرد عصاره نداشت. عصاره (۲mg/ml) انقباض رحم ناشی از کلروربااریم (٤ mM) را نیز کاهش داد ($p<0/001$). همچنین عصاره انقباض رحم ناشی از اکسی‌توسین (۱۰mU/ml) را به صورت وابسته به غلظت کاهش داد ($p<0/0001$). در محلول دیژالون بدون کلسیم، انقباض ناشی از اکسی‌توسین کمتر بود ولی اثر مهاری عصاره پایدارتر بود. حضور آتروپین (۰/۵μM) و نالوکسون (۱μM) تاثیری بر عملکرد عصاره نداشت.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که اثرات مهاری عصاره آبی الکلی برگ آویشن بر انقباض رحم نتیجه وجود مواد آگونیستی آدرنرژیک، آنتی‌کولینرژیک و اوپیوییدی در عصاره نبوده و احتمالاً عصاره تاثیر مهاری خود را از طریق انسداد کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ و نیز مهار رهایش کلسیم از منابع درون سلولی اعمال می‌کند. نتایج به دست آمده، تاییدی بر مصرف این گیاه در طب سنتی در کاهش دردهای قاعدگی می‌باشد.

گل‌واژگان: *Zataria multiflora* boiss، ضداسپاسم، موش صحرایی، رحم، اکسی‌توسین، کلرورپتاسیم

مقدمه

آویشن شیرازی[1] از تیره نعناع[2] گیاهی بوته مانند با ساقه‌های متعدد و نازک و بسیار منشعب، برگ‌های کوچک و گل‌های سفید رنگ است. این گیاه در کشورهای افغانستان، پاکستان و در ایران نیز در استان‌های لرستان، خوزستان، اصفهان، فارس، کرمان و خراسان می‌روید [۱،۲]. از ترکیبات این گیاه می‌توان به zatatriol، p-cymene، thymol و β-sitosterol اشاره نمود [۳]. اعضای مختلف این گیاه دارای خواص درمانی مشابه انواع دارویی مرزنگوش[3] و از جمله ضدتشنج، تقویت‌کننده دستگاه عصبی، مسکن درد معده و دردهای قاعدگی بوده و برگ آن، التهاب و درد را کاهش می‌دهد [۱،۲]. در همین مورد گزارش شده است که این گیاه التهاب مزمن را مهار نموده و چون نالوکسون مانع بروز عملکرد ضددرد این عصاره می‌گردد لذا، احتمال داده شده است که این عصاره از طریق رسپتورهای اپیوییدی عمل می‌کند [۱]. بنا به یک گزارش، عصاره آبی الکلی برگ آویشن در مقایسه با دیگر عصاره‌های این گیاه به طور موثرتری درد پیچش شکم[4] را در موش سوری تسکین می‌دهد. اثرات درمانی این گیاه علیه برفک دهانی در انسان و قدرت ضدقارچی این گیاه و نیز فعالیت antiplasmodial این گیاه را مربوط به وجود Betulinic acid و عملکرد ضدمیکروبی اسانس آن‌را مربوط به تیمول و Carvacrol در آن می‌دانند [٤،٥،٦،٧،٨،٩]. علاوه بر این گزارش شده است که عصاره آبی الکلی برگ آویشن سبب کاهش انقباضات ناشی از استیل‌کولین و کلورپتاسیم در ایلئوم موش صحرایی می‌گردد و نتیجه‌گیری شده است که احتمالاً این اثر مهاری ناشی از انسداد کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ باشد [۱۰]. با توجه به اینکه تاکنون بررسی علمی دقیقی در مورد اثر آویشن بر انقباضات رحم گزارش نشده است، لذا هدف تحقیق حاضر بررسی اثر عصاره آبی الکلی برگ آویشن بر عملکرد چند محرک شناخته شده بر رحم جدا شده موش صحرایی بالغ و باکره و تا حد امکان، روشن نمودن مکانیسم این اثر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

الف ـ تهیه عصاره

گیاه آویشن از عطاری‌های معتبر اهواز خریداری و توسط کارشناسان مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان شناسایی و تایید گردید. برگ‌های آویشن از گل و ساقه جدا و آسیاب شد. عصاره‌گیری به روش خیساندن انجام شد [۱۱]. بدین منظور، پودر برگ در الکل ۷۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده و هر روز در چند نوبت مخلوط به هم زده شد. در پایان این دوره، محلول عصاره از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد. حلال عصاره در دمای آزمایشگاه تبخیر و عصاره خشک با نسبت استخراج ۱۳/۱ درصد تهیه گردید. عصاره تا زمان استفاده در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

ب ـ آماده‌سازی رحم و روش کار

موش‌های ماده بالغ باکره از نژاد Sprague Dawley (گرم ٤/٩ ± ۲۰۵/۲) در اتاق حیوانات دانشکده پزشکی اهواز (دمای۲۰ تا ٢٤ درجه سانتی‌گراد و سیکل روشنایی ۱۲ ساعته) نگهداری شده و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. موش‌ها با زدن ضربه به پشت گردن کشته شده و پس از باز کردن شکم، از بخش میانی هر شاخ رحم قطعه‌ای به طول۱ تا ۱/۵ سانتی‌متر جدا گردید. در محلول تایرود و یا دیژالون سرد و اکسیژنه، بافت‌های اضافی از قطعات رحم جدا گردید. در حمام بافت (۱۰ میلی‌لیتر) که دایماً اکسیژنه می‌شد، بافت از یک طرف به گیره استیل در ته حمام و از بالا به وسیله قلاب و نخ به ترانسدیوسر ایزومتریک[1] متصل و تحت نیم گرم کشش قرار داده شد. دمای حمام بافت ۲۹ درجه سانتی‌گراد و دوره سازگاری بافت ٤٥ تا ٦٠ دقیقه بود که طی این دوره، هر ۱۵ دقیقه محلول حمام تعویض می‌شد. انقباضات رحم به وسیله دستگاه ثبات[2] با سرعت mm/s ۰/۱ بر روی کاغذ ثبت می‌شد. به منظور جلوگیری از تغییر ترس‌کیب محلول حمام، عصاره و مواد استفاده شده همگی در محلول تایرود و یا

[1] *Zataria multiflora* Boiss
[2] Labiatae
[3] *Origanum* sp.
[4] writhing

[1] UF1 Harvard Transducer, UK
[2] Harvard Universal Oscilloghraph

دیژالون حل شدند. ترکیب محلول تایرود (برحسب mmol/l) شامل (۱۳۷) NaCl، (۲/٦۸) KCl، (۱/۸) $CaCl_2$، (۱۱/۹) $NaHCO_3$، (۱/۰۵) $MgCl_2$، (۰/٤۲) NaH_2PO_4 و گلوکز (۵/۵۵) بود [۱۲]. در آزمایش‌های مربوط به اکسی‌توسین از محلول دیژالون استفاده شد زیرا در این محلول میزان حرکات خودبه‌خودی رحم بسیار کمتر بوده و لذا انقباضات ناشی از اکسی‌توسین با انقباضات خودبه‌خودی بافت مخلوط نمی‌شوند. ترکیب این محلول (برحسب mmol/l) شامل (۱۵٤) NaCl، (۵/٦) KCl، (۰/۳) $CaCl_2$، (۱/۷) $NaHCO_3$، (۱/٤) $MgCl_2$ و (۵/۵) گلوکز می‌باشد [۱۳]. غلظت‌های به کار رفته عصاره (۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ mg/ml) قبل از تحریک بافت به وسیله اکسی‌توسین (۱۰ mU/ml) به حمام بافت اضافه می‌شدند [۱٤]. ترکیب محلول دیژالون بدون کلسیم نیز همان ترکیب قبلی ولی بدون اضافه کردن کلرورکلسیم بود. به موش‌های مربوط به آزمایش‌های اکسی‌توسین، ۲٤ ساعت قبل از آزمایش، استرادیول والریت (۵ mg/kg, s.c.) تزریق گردید [۱۳].

ج ـ مواد

همه نمک‌های استفاده شده محصول شرکت مرک (آلمان)، اکسی‌توسین از شرکت Weimer Pharma (آلمان)، استیل‌کولین کلراید، پروپرانولول و آتروپین از شرکت Sigma (آمریکا)، استرادیول والریت از شرکت ابوریحان (ایران) و نالوکسون از شرکت تولیددارو (ایران) بودند.

د ـ روش بررسی نتایج

نیروی انقباضی (گرم به ازای ۱۰۰ میلی‌گرم بافت) و یا درصد تغییرات نیروی انقباضی در مراحل مختلف تحقیق محاسبه، نتایج (خطای معیار ± میانگین) با استفاده از آزمون‌های t-test و ANOVA مقایسه و p کوچکتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

۱- اثر عصاره برگ آویشن بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم در رحم موش صحرایی

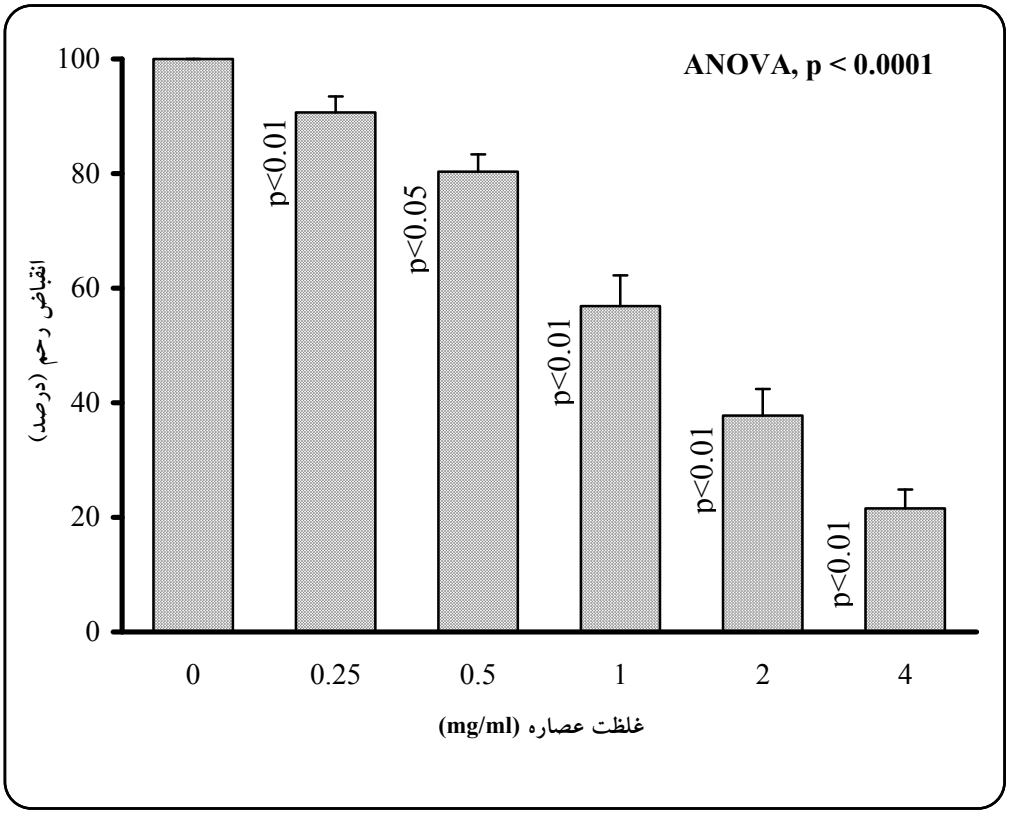
ابتدا طی دو مرحله ۳ دقیقه‌ای جداگانه، از تکرارپذیر بودن اثر انقباضی کلرورپتاسیم ٦۰ mM اطمینان حاصل شد [۱٤]. در مرحله بعد، پس از یک دقیقه حضور کلرورپتاسیم (٦۰ mM)، عصاره با غلظت نهایی ۰/۱۲۵ mg/ml به حمام بافت اضافه گردید و ۲ دقیقه فرصت داده شد تا تاثیر خود را نشان دهد. پس از شستشو و ۱۰ دقیقه استراحت، مشابه مرحله قبل مجدداً کلرورپتاسیم و عصاره، ولی با غلظت بالاتر (٤ mg/ml و ۲، ۱، ۰/۵، ۰/۲۵) به حمام اضافه شد. درصد تغییرات نیروی انقباضی نشان می‌دهد که عصاره به صورت وابسته به غلظت، انقباض رحم ناشی از کلرورپتاسیم را کاهش داده است (ANOVA, $p < ۰/۰۰۰۱$ و $n = ۹–۱۲$). مقایسه نیروی انقباضی ناشی از کلرورپتاسیم طی پنج مرحله متوالی نشان داد که این انقباضات اختلاف معنی‌داری با هم ندارند ($p = ۰/٦۳$). مقایسه‌های آماری بین اثرات مهاری غلظت‌های متوالی عصاره به روش t - test نیز در نمودار شماره ۱ ارایه شده‌اند. در نمودار شماره ۲ مشاهده می‌شود که عصاره (۲ mg/ml) به صورت قابل ملاحظه از بروز انقباض ناشی از کلرورپتاسیم (٦۰ mM) جلوگیری کرده است ($p< ۰/۰۰۰۱$ و $n = ۷–۱۰$).

۲ ـ اثر حضور پروپرانولول بر عملکرد مهاری عصاره

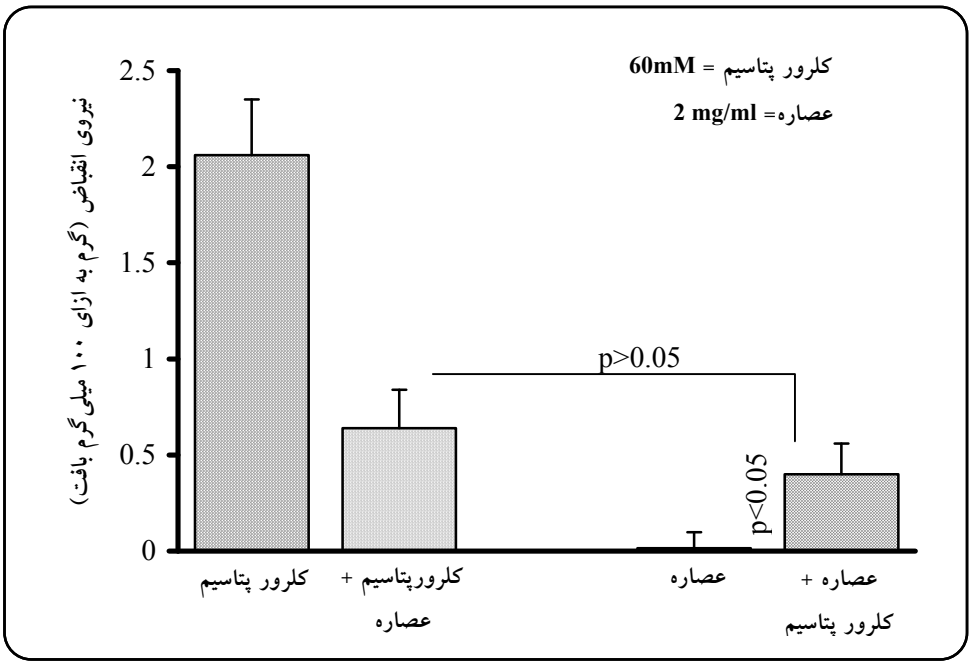
به منظور تعیین دخالت رسپتورهای آدرنرژیک در عملکرد مهاری عصاره، ابتدا اثر یک دقیقه کلرورپتاسیم (٦۰mM) و سپس تاثیر ۲ دقیقه عصاره (۲ mg/ml) در حضور کلرورپتاسیم ثبت شد. بعد از شستشوی بافت و ۱۰ دقیقه استراحت، مرحله قبلی تکرار گردید با این تفاوت که به مدت یک دقیقه پروپرانولول (۱ µM) بر بافت اثر داده شد [۱۵]. همان‌طوری‌که در نمودار شماره ۳ دیده می‌شود، حضور پروپرانولول تاثیری بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم و نیز عملکرد مهاری عصاره نداشته است ($n = ۸$).

۳ ـ اثر عصاره برگ آویشن بر انقباض رحم ناشی از کلرور باریم

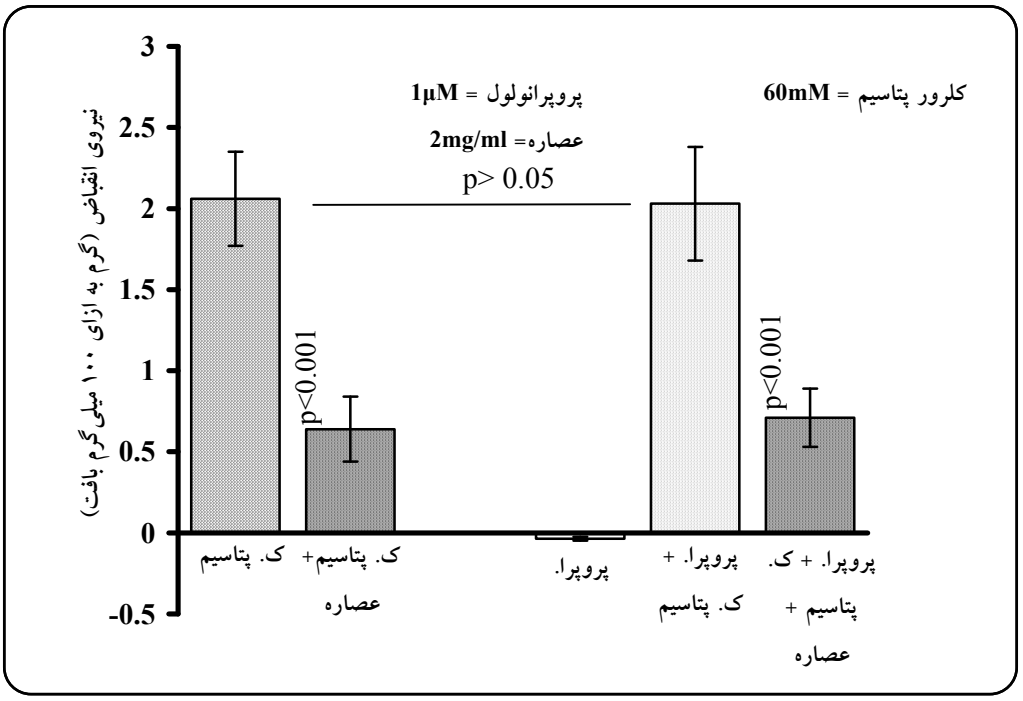
در این مرحله، ابتدا کلروربایم ٤mM طی دو دوره ۳ دقیقه‌ای بر بافت اثر داده تا از تکرارپذیر بودن و نیز پایداری انقباض بافت در حضور مستمر کلروربایم اطمینان حاصل شود [۱٦]. سپس، اثر انقباضی کلروربایم با غلظت قبلی به مدت یک دقیقه و بعد از آن، اثر ۲ دقیقه حضور عصاره (۲ mg/ml) ثبت شد. عصاره اثر انقباضی کلروربایم را به طور



نمودار شماره ۱ ــ مقایسه اثر مهاری غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکلی برگ آویشن بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم در رحم موش صحرایی
مقایسه آماری نتایج اثر غلظت‌های مجاور (t-test) در نمودار دیده می‌شوند (n = ۹–۱۲).



نمودار شماره ۲ ــ مقایسه اثر انقباضی کلرورپتاسیم قبل و بعد از به کاربردن غلظت ۲mg/ml عصاره برگ آویشن در رحم موش صحرایی
همان‌طوری‌که دیده می‌شود، این دو اثر مهاری تفاوت معنی‌داری ندارند (n = ۷–۱۰).



نمودار شماره ۳ ـ مقایسه اثر مهاری عصاره برگ آویشن بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم (۶۰mM) در غیاب و حضور پروپرانولول در رحم موش صحرایی. همان‌طوری‌که دیده می‌شود حضور پروپرانولول اثری بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم و عملکرد مهاری عصاره ندارد (۸ = n).

قابل ملاحظه کاهش داد (٦ = n و ۰/۰۱ > p). همچنین، اضافه نمودن عصاره قبل از به کاربردن کلروربااریم نیز مانع از بروز انقباض ناشی از کلروربااریم گردید (نمودار شماره ٤).

٤ ـ اثر عصاره برگ آویشن بر انقباض رحم ناشی از اکسی‌توسین

٤-١- در محلول دیژالون دارای کلسیم نرمال

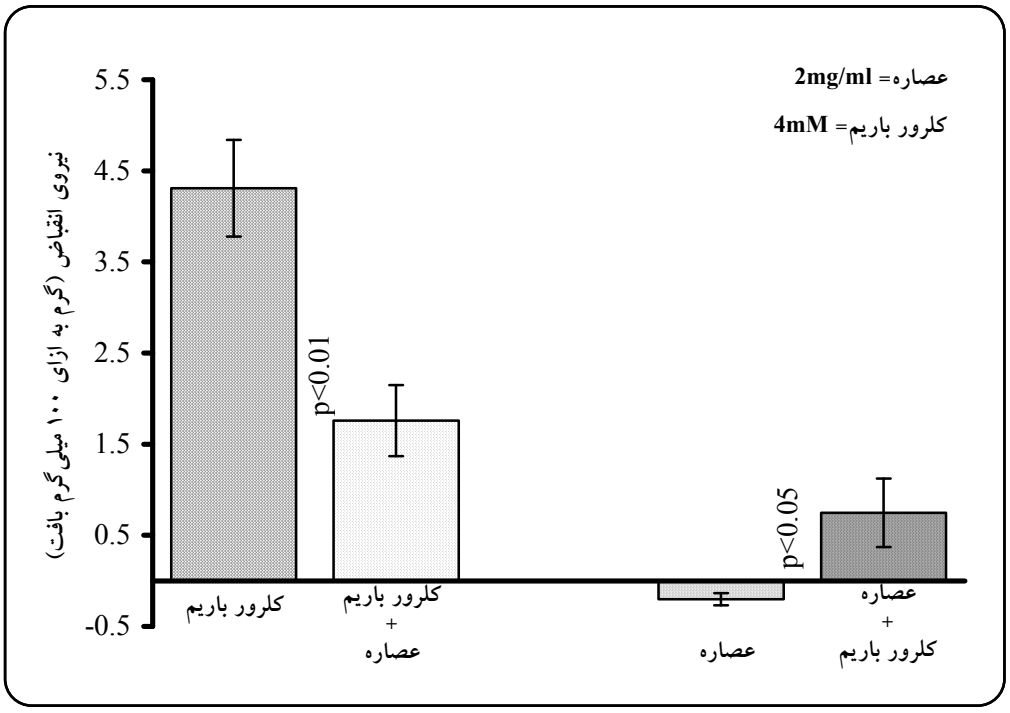
ابتدا تکرار پذیر بودن اثر انقباضی اکسی‌توسین با غلظت ۱۰ mU/ml و تغییرات نیروی انقباضی طی ۳ تا ٤ دقیقه حضور این هورمون ثبت شد [۱۷]. در نمودار شماره ۵ دیده می‌شود که غلظت‌های غیرتجمعی عصاره برگ آویشن (۲ و ۱، ۰/۵، ۰/۲۵ mg/ml) پس از ۳ دقیقه حضور خود به صورت وابسته به غلظت سبب مهار انقباض ناشی از اکسی‌توسین در رحم موش صحرایی شده‌اند (n =۸ و p<۰/۰۰۰۱، ANOVA). در همین نمودار مقایسه آماری (t-test) بین اثر غلظت‌های متوالی مشاهده می‌شود.

٤-٢- در محلول دیژالون بدون کلسیم

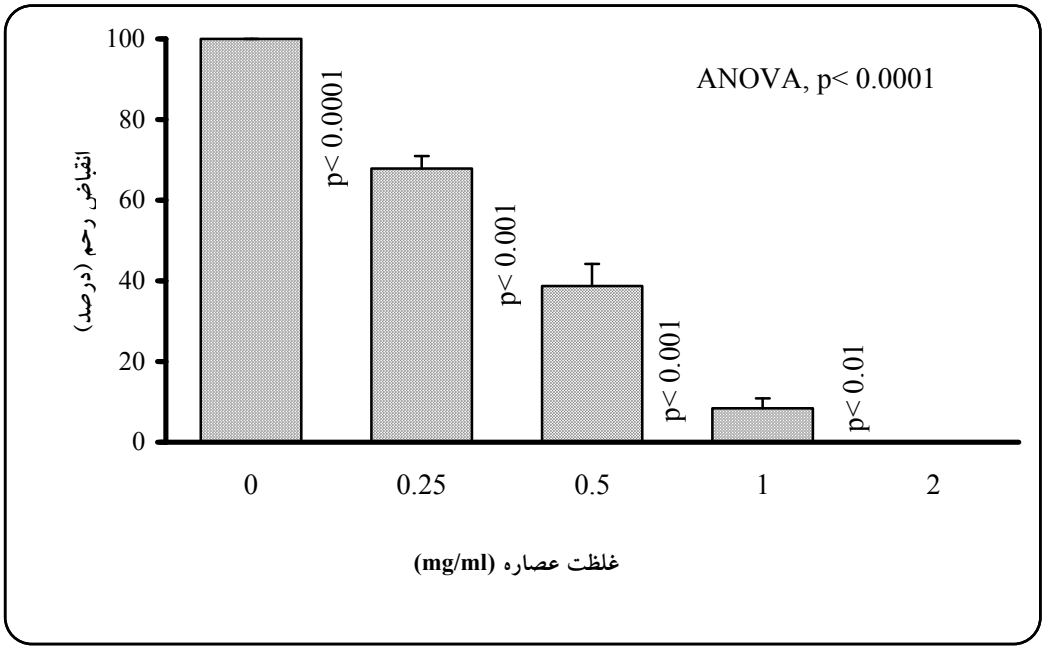
مراحل اجرای این بخش مشابه مرحله قبل بود. نمودار شماره ٦ نشان می‌دهد که اکسی‌توسین در محلول بدون کلسیم نیز سبب انقباض بافت و غلظت‌های غیرتجمعی عصاره (۱ و ۰/۵، ۰/۲۵ mg/ml) به صورت وابسته به غلظت سبب کاهش نیروی انقباضی ناشی از اکسی‌توسین گردیده است (n =۷ و p< ۰/۰۰۰۱، ANOVA). مقایسه نیروی انقباضی ناشی از اکسی‌توسین در مراحل مختلف نشان داد (نتایج ارایه نشده‌اند) که این اثر تحریکی تدریجاً کاهش یافته و ظاهراً اثر عصاره حتی در غلظت‌های کم، پایدار بوده و با شستشو و تعویض مکرر محلول حمام کاملاً برطرف نمی‌شود. در ضمن، نیروی انقباضی رحم در محلول بدون کلسیم کمتر از محلول با کلسیم می‌باشد (نمودار شماره ۷).

۵- اثر نالوکسون بر عملکرد مهار عصاره

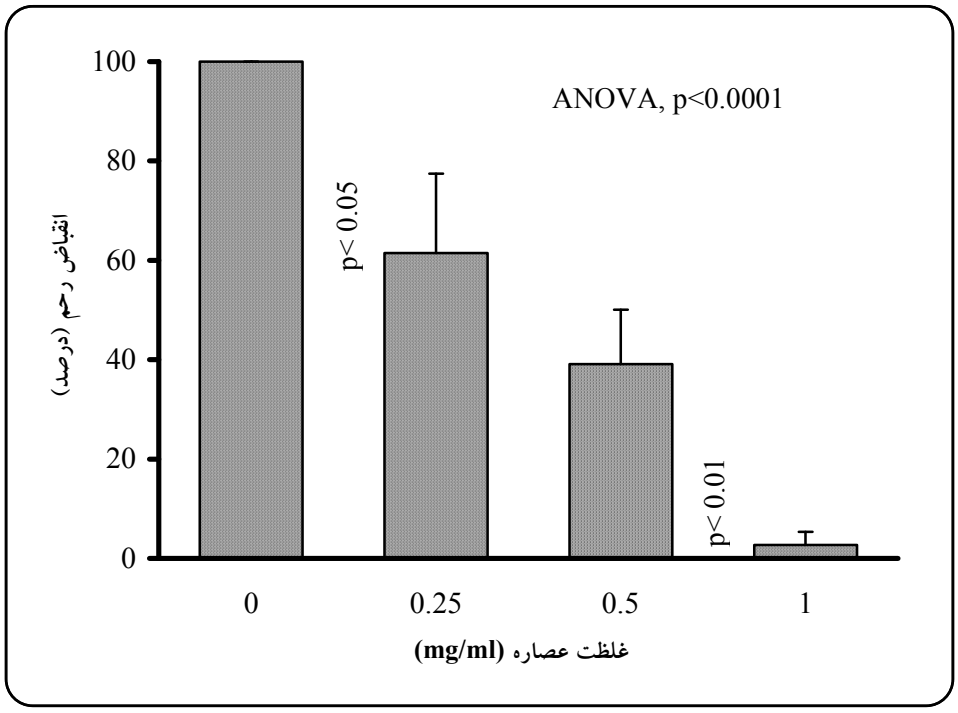
به منظور بررسی نقش احتمالی ترکیبات اوپوییدی در عملکرد مهاری عصاره، در حمام بافت حاوی محلول دیژالون با کلسیم، پس از ثبت اثر انقباضی کلرورپتاسیم (کنترل)، ابتدا



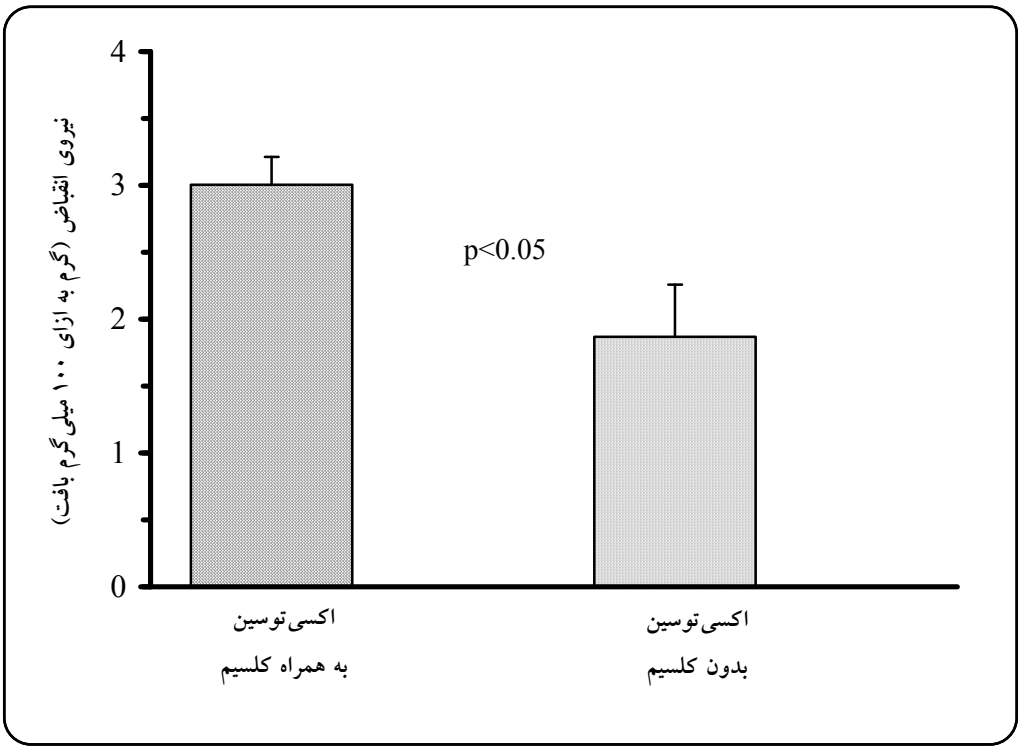
نمودار شماره ٤ ــ مقایسه اثر انقباضی کلروربا‌ریم قبل و بعد از به کار بردن غلظت ۲mg/ml عصاره برگ آویشن در رحم موش صحرایی همان‌طوری‌که مشاهده می‌شود، این دو اثر مهاری تفاوت معنی‌داری ندارند (n = ٦).



نمودار شماره ٥ ــ مقایسه اثر مهاری غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکلی برگ آویشن بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم در رحم موش صحرایی در محلول دیژالون دارای کلسیم. مقایسه آماری نتایج اثر غلظت‌های مجاور (t-test) در نمودار دیده می‌شوند (n = ٨).



نمودار شماره ٦ ـ مقایسه اثر مهاری غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکلی برگ آویشن بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم در رحم موش صحرایی در محلول دیژالون فاقد کلسیم. مقایسه آماری نتایج اثر غلظت‌های مجاور (t-test) در نمودار دیده می‌شوند (n = ۷).



نمودار شماره ۷ ـ مقایسه نیروی انقباضی رحم موش صحرایی در پاسخ به اکسی‌توسین (۱۰mU/ml) در دو محلول دیژالون دارای کلسیم و فاقد کلسیم. حذف کلسیم محیط موجب کاهش نیروی انقباضی رحم شده است (n = ۷).

به مدت ۳ دقیقه عصاره (۲mg/ml) بر بافت اثر داده شد. سپس کلرورپتاسیم (۶۰mM) اضافه گردید که موجب کاهش قابل ملاحظه انقباض شد. بعد از چند بار شستشوی بافت حداقل ۱۵ تا ۲۰دقیقه استراحت به بافت، ابتدا ۵ دقیقه غلظت ۱ μM نالوکسون در حمام بافت ایجاد و سپس در حضور نالوکسون، مراحل قبلی تکرار شد [۱۸]. در نمودار شماره ۸ دیده می‌شود که حضور نالوکسون اثری بر عملکرد مهاری عصاره نداشته و اثرات عصاره در غیاب و در حضور نالوکسون اختلاف معنی‌داری ندارند (n = ۹ و p= ۰/۲۱).

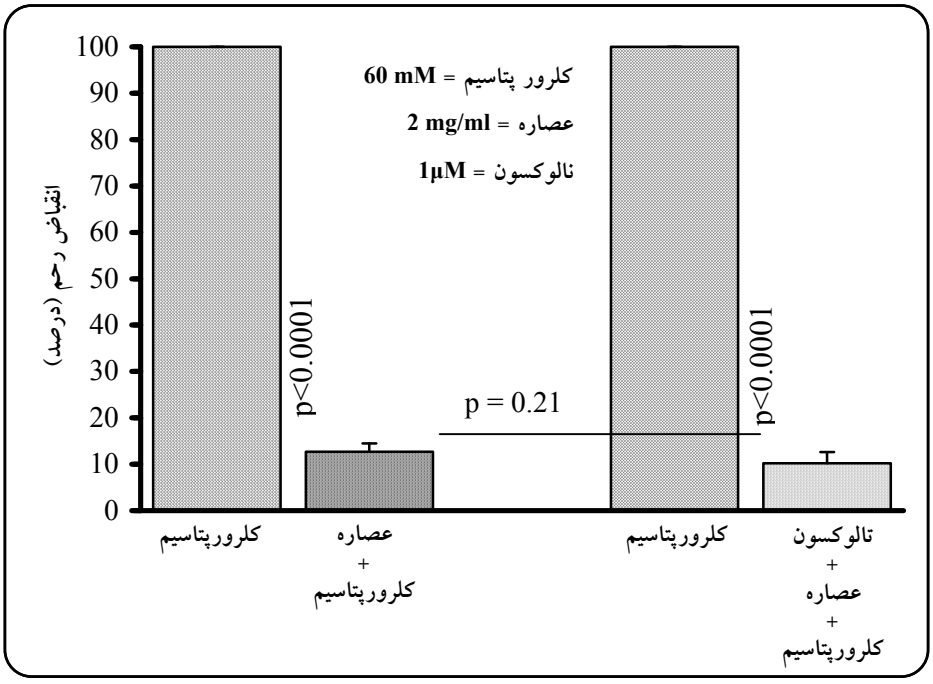
۶- بررسی فعالیت آنتی‌کولینرژیکی عصاره

به منظور تعیین خاصیت آنتی‌کولینرژیکی عصاره، ابتدا با اضافه کردن کلرورپتاسیم (۳۰mM) بافت منقبض و پس از رسیدن انقباض به حالت کفه، استیل‌کولین (۰/۵ μM) اضافه شد. پس از سه بار شستشوی بافت و حداقل ۲۰ دقیقه استراحت، ابتدا آتروپین (۰/۵ μM) به حمام اضافه و پس از ۵ دقیقه، مراحل قبلی در مورد کلرورپتاسیم و استیل‌کولین تکرار شد (n = ۷). در نمودار شماره ۹ مشاهده می‌شود که پس از ایجاد انقباض به وسیله کلرورپتاسیم، به دلیل حضور آتروپین، استیل‌کولین اثر انقباضی نداشته ولی اضافه کردن عصاره با غلظت قبلی موجب کاهش شدید انقباض ناشی از کلرورپتاسیم شده است.

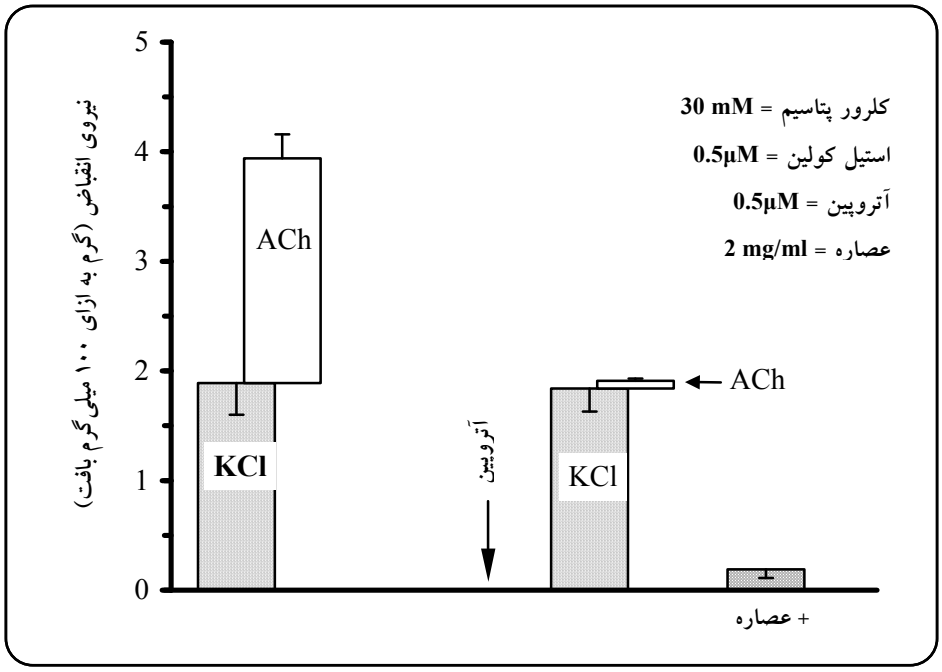
بحث

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهند که عصاره آبی الکلی برگ آویشن شیرازی سبب کاهش انقباضات رحم موش صحرایی ناشی از محرک‌های به کار برده (کلرورپتاسیم، کلروربایریم، اکسی‌توسین و استیل‌کولین) گردید. اگر چه اثرات ضدقارچ و میکروب و ضدالتهاب و درد گیاه آویشن گزارش شده ولی در مورد اثرات عصاره آبی الکلی برگ آن بر فعالیت انقباضی رحم تحقیقاتی انجام نشده است [۱،۴،۷،۹]. با این وجود، اثر ضداسپاسم *Thymus vulgaris* (از تیره نعناع) بر ایلئوم و تراشه خوکچه هندی گزارش گردیده است [۱۹،۲۰]. کلرورپتاسیم از شناخته شده‌ترین عوامل بازکننده کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ بوده و چون وراپامیل (مسدود کننده کانال‌های نوع L) اثر انقباضی کلرورپتاسیم را کاملاً از بین می‌برد لذا، پیشنهاد شده است موادی که انقباض ناشی از کلرورپتاسیم را در عضله صاف مهار کنند این اثر را از طریق انسداد کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ اعمال کرده‌اند [۲۱،۲۲]. با توجه به اثبات وجود کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ نوع L در عضله صاف رحم موش صحرایی، بنابراین می‌توان احتمال داد که حداقل بخشی از عملکرد مهاری عصاره حاضر نتیجه انسداد این کانال‌ها و کاهش ورود کلسیم بوده است [۲۳]. این نتایج با نتایج حاصل از تاثیر همین عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم در ایلئوم موش صحرایی همخوانی دارد [۱۰]. از طرف دیگر نتایج نشان دادند که عملکرد مهاری این عصاره (به جز در مورد محلول دیژالون بدون کلسیم) برگشت‌پذیر بوده و با خارج کردن عصاره از محیط، بافت مجدداً آمادگی انجام انقباض را خواهد داشت. این نکته نشان می‌دهد که این بخش از اثر مهاری عصاره روی سطح غشای سلولی انجام شده است زیرا، شستشوی بافت قادر به حذف اثر مهاری عصاره بوده است. همچنین تشابه انقباضات طی مراحل مختلف (به جز در مورد محلول دیژالون بدون کلسیم)، نشان می‌دهد کاهش نیروی انقباضی رحم ناشی از خستگی عضله صاف نبوده است. عدم تاثیر پروپرانولول بر عملکرد مهاری عصاره در این تجربه و در ایلئوم که قبلاً نیز گزارش شده می‌تواند مؤید آن باشد که عملکرد مهاری عصاره از طریق فعال شدن بتا-آدرنوسپتورها که موجب شل شدن عضله رحم می‌گردند، نبوده است [۱۰،۲۴،۲۵].

در مورد عملکرد انقباضی کلروربایریم پیشنهاد شده است که باریم مسدودکننده کانال‌های پتاسیم بوده و از این طریق سبب دپولاریزه شدن غشا و انقباض در عضله صاف می‌شود، ضمن آنکه باریم سبب رهایش کلسیم از منابع درون سلولی در رحم و معده نیز می‌گردد [۲۶،۲۷،۲۸]. با توجه به اثرات مهاری عصاره بر انقباض ناشی از کلروربایریم، می‌توان احتمال داد که اثر مشاهده شده از عصاره، نتیجه ممانعت از پیامدهای دپولاریزاسیون و نیز جلوگیری از رهایش کلسیم از منابع درون سلولی باشد.



نمودار شماره ۸ ــ مقایسه اثر مهاری عصاره برگ آویشن بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم (۶۰mM) در غیاب و در حضور غلظت µM ۱ نالوکسون در رحم موش صحرایی. به طوری‌که مشاهده می‌شود حضور نالوکسون تاثیری بر عملکرد مهاری عصاره برگ آویشن ندارد (n = ۹).



نمودار شماره ۹ ــ اثر انقباضی و متوالی دو محرک رحم موش صحرایی (کلرورپتاسیم و استیل کولین) در غیاب و در حضور دو مهارکننده (آتروپین و عصاره). به طوری‌که دیده می‌شود حضور آتروپین فقط اثر انقباضی ناشی از استیل‌کولین را از حذف نموده و عصاره بـرگ آویشن اثر کلرورپتاسیم را از بین برده است (n = ۷).

در بخش بعدی این تحقیق از محلول دیژالون (با غلظت کم کلسیم) استفاده شد تا از بروز انقباضات خودبه خودی رحم و تداخل این انقباضات با فعالیت حرکتی ناشی از به کاربری اکسی‌توسین جلوگیری شود [۲۹]. در مورد نحوه عملکرد تحریکی اکسی‌توسین گزارش شده است که باند شدن اکسی‌توسین به رسپتورهای پیوسته به G-protein موجب تولید اینوزیتول تری فسفات[1] و از این طریق موجب رهایش کلسیم از منابع درون سلولی (به ویژه رتیکولوم سارکوپلاسمیک) شده که به نوبه خود سبب انقباض عضله صاف رحم می‌گردد [۳۰،۳۱]. لذا انقباض رحم به وسیله اکسی‌توسین می‌تواند بدون نیاز به کلسیم خارج سلولی انجام شود [۳۲]. همچنین اکسی‌توسین سبب باز شدن کانال‌های کلسیمی نوع L و در نتیجه موجب انقباض می‌شود [۳۳]. همچنین در این تجربه نشان داده شده که عصاره با غلظت کمتر سبب کاهش شدیدتر انقباض ناشی از اکسی‌توسین در مقایسه با انقباض ناشی از کلرورپتاسیم گردید که با توجه به تاثیر دو گانه تامین کلسیم توسط اکسی‌توسین، این امر نشان‌دهنده اثر عصاره در جلوگیری از افزایش کلسیم درون سلولی از منبع خارج و درون سلولی است. در تجربه حاضر همچنین، انقباض ناشی از اکسی‌توسین (پس از ۳ دقیقه حضور) در محیط بدون کلسیم کمتر بود که این امر نیز می‌تواند نتیجه کاهش و یا حذف سهم انقباض ناشی از ورود کلسیم از طریق کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ باشد (نمودار شماره ۷). از طرف دیگر، ممکن است عصاره دارای خاصیت آنتاگونیستی برای رسپتورهای اکسی‌توسین باشد. ولی در محیط با کلسیم، این تاثیر ناپایدار و با شستشوی عصاره، این اثر نیز از بین می‌رفت، اما در محیط بدون کلسیم (حتی پس از شستشوی مکرر بافت) این اثر پایدارتر بود که برای این پدیده نمی‌توان توجیهی داشت.

اگر چه گزارش شده است که نالوکسون موجب کاهش اثر ضددرد آویشن می‌گردد، ولی در تجربه حاضر، عدم توانایی نالوکسون در کاهش عملکرد ضدانقباضی عصاره بیانگر آن است که حداقل در این تجربه، رسپتورهای اوپوییدی در مهار انقباض دخالت نداشته‌اند [۱]. در بخش نتایج مشاهده شد که آتروپین مانع از بروز اثر انقباضی ناشی از استیل‌کولین گردید ولی اثری بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم نداشت. در حالی‌که عصاره اثر انقباضی باقیمانده را به طور قابل ملاحظه کاهش داد. با توجه به اینکه آتروپین در محیط وجود داشته و بر روی رسپتورهای کولینرژیک رحم مستقر بوده، چنانچه عصاره دارای خاصیت آنتی‌کولینرژیکی بود استقرار آتروپین بر این رسپتورها مانع از بروز اثر مهاری عصاره می‌گردد. لذا این مطلب پیشنهاد می‌کند که تاثیر مهاری عصاره نتیجه مسدود شدن رسپتورهای کولینرژیکی نبوده است. اگر چه گزارش شده است که عصاره قادر به مهار انقباض ناشی از استیل‌کولین در ایلئوم موش صحرایی بوده است ولی این اثر احتمالاً نتیجه مهار پیامد به کاربردن استیل‌کولین یعنی رهایش کلسیم از منابع درون سلولی از طریق IP_3 بوده ضمن آنکه افزایش کلسیم درون سلولی ناشی از IP_3 تحت تاثیر وراپامیل قرار نمی‌گیرد [۱۰،۳٤،۳۵].

براساس نتایج از این تحقیق می‌توان گفت که عصاره آبی الکلی برگ آویشن شیرازی بدون دخالت رسپتورهای آدرنرژیکی، کولینرژیکی و اوپوییدی سبب کاهش انقباض رحم می‌گردد. مکانیسم اثر این عصاره احتمالاً انسداد کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ و ممانعت از رهایش کلسیم از منابع درون سلولی می‌باشد. جداسازی مواد تشکیل‌دهنده، به کارگیری سایر روش‌های عصاره‌گیری، بررسی دخالت کانال‌های پتاسیم و نوع این کانال‌ها و نیز تاثیر این عصاره بر رحم موش حامله می‌تواند زمینه تحقیقات آینده باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز انجام گردیده و مجریان طرح در این مورد، از آن حوزه صمیمانه تشکر می‌نمایند.

[1] IP_3

منابع

۱۰. غریب‌ناصری محمد کاظم، اثر عصاره آبی الکلی برگ آویشن Boiss *Zataria multiflora* بر ایلئوم موش صحرایی. *فصلنامه بهبود دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه*. ۱۳۸۲، شماره سوم، صفحات ۲۶- ۱۸.

۱۱. صمصام‌شریعت هادی. *عصاره‌گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آنها*. چاپ اول. انتشارات مانی. اصفهان. ۱۳۷۱، صفحات ۱۶- ۱٤.

12. Tugay M, Utkan T and Utkan Z. Effects of caustic lye injury to the esophagus smooth muscle reactivity: in vitro study. *J. Surgical Research.* 2003; 113: 128-132.

13. Ostad SN, Soodi M, Shariffzadeh M, Khorshidi N and Marzban H. The effect of fennel essentail oil on uterine contraction as a model for dysmenorrhea, pharmacology and toxicology study. *J. Ethnopharmacol.* 2001; 76: 299-304.

14. Oropeza MV, Ponce-Monter H, Villanueva-Tello T, Palma-Aguirre JA and Campos MG. Anatomical differences in uterine sensitivity to prostaglandin $F_{2\alpha}$ and serotonin in non-pregnant rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2002; 446: 161-6.

15. Goyache FM, Gutierrez M, Hidalgo A and Cantabrana B. Non-genomic effects of catecholestrogens in the in vitro rat uterine contraction. *Gen. Pharmac.* 1995; 26: 219-223.

16. Yarim M, Sarac S, Ertan M, Batu OS and Erol K. Synthesis, structural elucidation and pharmacolgical properties of some of 5-acetyl-3, 4-dihydro - 6- methyl-4- (substituted phenyl)-2 (1H)-pyrimdinones. *Farmaco.* 1999; 54: 359-363.

17. Nwaigwe CI, Adegunloye BJ and Sofola OA. Effect of chloroquine on the contractility of the smooth muscles of the rat uterus, trachea and urinary bladder. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* 1997; 8: 279-285.

18. Faletti A, Bassi D, Franchi AM, Gimeno AL, Gimeno MA. Effects of morphine on arachidonic

1. Hosseinzadeh H, Ramazani M, Salmani G. Antinociceptive, anti-inflammantory and acute toxicity effects of *Zataria multiflora* Boiss extracts in mice and rats. *J. Ethnopharmacol.* 2000; 73(3): 379-85.

۲. زرگری علی. *گیاهان دارویی*. چاپ پنجم. انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۱۳۷۲، جلد چهارم، صفحات ۵۹- ۵٦.

3. Ali MS, Saleem M and Ahmad VU. Zatatriol: A new aromatic constituent from *Zataria multiflora*. *Z. Naturforsch.* 1999; 54b: 807-810.

4. Ramezani M, Hosseinzadeh H and Samizadeh S. Antinociceptive effects of *Zataria multiflora Boiss* fractions in mice. *J. Ethnopharmacol.* 2004; 91: 167-170.

5. Mansoor P, Hadjiakhoondi A, Ghavami R and Shafiee A. Clinical evaluation of *Zataria multiflora* essential oil mouthwash in the management of recurrent Aphthous stomatitis. *Daru.* 2002; 10: 74-7.

6. Jafari S, Amanlou M, Borhan-Mojabi K, and Farsam H. Comparative study of *Zataria multiflora* and *Anthemis nobelis* extracts with *Myrthus communis* preparation in the treatment of recurrent aphthous stomatitis. *Daru.* 2003; 11: 23-7.

7. Sardari S, Amin G, Micetich RG. Daneshtalab M. Phytopharmaceuticals. Part 1. Antifungal activity of selected Iranain and Canadian plants. *Pharmaceutical Biology.* 1998; 36: 180-8.

8. Ziegler HL, Franzyk H, Sairafianpour M, Tabatabai M, Tehrani MD, Bagherzadeh K, Hagerstrand H, Staerk D and Jaroszewski JW. Erythrocyte membrane modifying agents and the inhibition of *Plasmodium falciparum* growth. Stracture-activity relationships for betulinic acid analogues. *Bioorg. Med. Chem.* 2004; 2: 119-127.

9. Shafiee A, Javidnia K, Tabatabai M. Volatile constituents and antimicrobbial activity of *Zataria multiflora*, population Iran. *Iran. J. Chem. & Chem. Eng.* 1999; 18: 1-5.

acid metabolism, on Ca^{2+}-uptake and on cAMP synthesis in uterine strips from spayed rats. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 1990; 41: 151-155.

19. Van Den Broucke CO and Lemli JA. Spasmolytic activity of the flavonoids from *Thymus vulgaris*. *Pharm. Weekbl. Sci.* 1983; 25: 9-14.

20. Meister A, Bernhardt G, Christoffel V, Buschauer A. Antispasmodic activity of *Thymus vulgaris* extract on the isolated guinea-pig trachea discrimination between drug and ethanol effects. *Planta Med.* 1999; 65: 512-6.

21. Gutierrez M, Gracia de Boto KJ, Cantabrana B and Hidalgo A. Mechanisms involved in the spasmolytic effect of extracts from *Sabal serrulata* fruite on smooth muscle. *Gen. Pharmac.* 1996; 27: 171-6.

22. Kim BK, Ozaki H, Lee SM and Karaki H. Increased sensitivity of rat myometrium to the contractile effect of platelet activating factor before delivery. *Br. J. Pharmacol.* 1995; 115: 1211-4.

23. Jmari K, Mironneau C and Mironneau J. Inactivation of calcium channel current in rat uterine smooth muscle: evidence for calcium and voltage-mediated mechanisms. *J. Physiol.* 1986; 380: 112-126.

24. Tolszczuk M and Pelletier G. Autoradiographic localization of beta-adrenoreceptors in rat uterus. *J. Histochem. Cytochem.* 1988; 36: 1475-9.

25. Engstrom T, Bratholm P, Vilhardt H and Christensen NJ. $Beta_2$-adrenoceptor desensitization in non-pregnant estrogen-primed rat myometrium involved modulation of oxytocin receptor gene expression. *J. Mol. Endocrinol.* 1998; 20: 261-270.

26. Huang Y. $BaCl_2$- and 4-aminopyridine-evoked phasic contractions in the rat vas deferens. *Br. J. Pharmacol.* 1995; 115: 845-851.

27. Rahwan RG, Faust MM and Witiak DT. Pharmacological evaluation of new calcium anatagonists: 2-substituted 3-dimethylamino-5,6-methylenedioxyindenes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1977; 201: 126-137.

28. Smaili SS, Jurkiewicz NH, Gracia AG and Jurkiewicz A. Comparison of the effect of calcium withdrawal from the medium and of blockade of extracellular calcium entry by isradipine on the contractile responses of the isolated rat stomach. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1991; 24: 953-956.

29. Gilani AH, Janbaz KH, Zaman M, Lateef A, Suria A and Ahmed HR. Possible presence of calcium channel blocker (s) in *Rubia cordiflora*: an indigenous medical plant. *J. Pak. Med. Assoc.* 1994; 44: 82-85.

30. Grazzini E, Guillon G, Mouillac B and Zingg HH. Inhibition of oxytocin receptor function by direct binding of progesterone. *Nature* 1998; 392: 509-512.

31. Wassdal I, Nicolaysen G and Iversen JG. Bradykinin causes contraction in rat uterus through the same signal pathway as oxytocin. *Acta Physiol. Scand.* 1998; 164: 47-52.

32. Luckas MJ, Taggart MJ and Wray S. Intracellular stores and agonist-induced contractions in isolated human myometrium. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1999; 181: 468-476.

33. Sanborn BM. Hormones and calcium: mechanisms controlling uterine smooth muscle contractile activity. *Exp. Physiol.* 2001; 86: 223-237.

34. Wess J. Molecular basis of muscarinic acetylcholine receptor function. *Trends Pharmacol. Sci.* 1993; 14: 308-313.

35. Martin C, Hyvelin JM, Chapman KE, Marthan R, Ashley RH, Savineau JP. Pregnant rat myometrial cells show heterogenous ryanodine- and caffeine-sensitive calcium stores. *Am. J. Physiol.* 1999; 277: C243-C252.