

بررسی اثر عصاره متانولی گیاه سرخاب کولی (*Phytolacca decandra* L.) بر روی خواص الکتروفیزیولوژیک گره دهلیزی - بطنی ایزوله رت نر

عباس حاجی آخوندی^{۱*}، محسن نایب پور^۲، محمدرضا وردیان ریزی^۳، یونس اشرفیان^۴

۱- دانشیار فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- استادیار فارماکولوژی، توکسیکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- دانشجوی سال آخر داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- داروساز، محقق

* آدرس مکاتبه: دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده داروسازی، گروه فارماکولوژی

کدپستی: ۱۴۱۷۴، تلفن: ۶۱۱۲۳۰۶ (۰۲۱)، نمابر: ۶۴۶۱۱۷۸ (۰۲۱)

پست الکترونیک: abbhadji@sina.tums.ac.ir

چکیده

هدف از این تحقیق ارزیابی اثرات عصاره تام متانولی گیاه سرخاب کولی (*Phytolacca decandra* L.) بر روی قلب ایزوله رت نر و اختصاصاً اثرات این عصاره بر روی خواص الکتروفیزیولوژیکی گره دهلیزی-بطنی بود. قلب رت نر پس از خارج شدن تحت انفوزیون Antrograde با محلول تیروید (Tyrode) قرار گرفته و با استفاده از روش‌های الکتروفیزیولوژیکی کلیه پارامترهای الکتریکی قلب از قبیل ثبت از دهلیزها، ثبت از بطن‌ها، ثبت از نیروی انقباضی عضله قلب و اندازه‌گیری سرعت هدایت در گره دهلیزی - بطنی مورد مطالعه قرار گرفت (روش لانگندروپ). جهت بررسی اثرات عصاره و پی‌بردن مکانیسم عمل این عصاره پروتکل‌های مختلفی برای اندازه‌گیری کینتیک recovery گره دهلیزی-بطنی، بررسی wenckebach cycle length (W.B.C.L)، اندازه‌گیری سرعت هدایت از دهلیز به بطن (AVCT) و زمان تحریک‌ناپذیری موثر گره AV (AVERP) در حضور و عدم حضور عصاره انجام شد. نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره متانولی گیاه سرخاب‌کولی در یک مدل وابسته به غلظت با تاثیر بر روی شاخص‌های پایه و عملکردی گره سبب دپرسیون نسبی پارامترهای فوق گردیده و احتمالاً می‌تواند نقش ضدآریتمی فوق بطنی گیاه فوق را مطرح کند.

کلواژگان: سرخاب‌کولی، گره دهلیزی - بطنی، آریتمی فوق بطنی، پارامترهای الکتریکی قلب



مقدمه

هر ساله حدود ۱۵۰۰۰۰۰ نفر در آمریکا به خاطر مرگ ناگهانی قلبی از بین می‌روند که علت بیشتر از ۸۰ درصد این مرگ‌ها آریتمی قلبی می‌باشد [۱]. یکی از انواع مهم آریتمی‌های قلبی تاکی آریتمی‌های فوق بطنی است که با توجه به دامنه وسیع وقوع حملات و میانگین پایین سن افراد مبتلا نیاز جهت یافتن دارویی با کارایی بالا و سمیت حداقل را آشکار می‌سازد. داروهای موثر در تاکی آریتمی‌های فوق بطنی به علت وجود عوارض جانبی به‌خصوص عوارض آریتمی‌زایی نتوانسته‌اند به عنوان داروی ایده‌آل در درمان این آریتمی‌ها مطرح شوند. در این ارتباط تحقیقات گسترده‌ای در دهه‌های اخیر در جهت نیل به هدف فوق به عمل آمده که مطالعه خواص ضدآریتمی ترکیبات طبیعی (مواد آندروژن بدن، گیاهان دارویی و ...) سهم قابل توجهی از این تلاش را دربرمی‌گیرد [۲].

سرخاب‌کولی با نام علمی *Phytolacca decandra* L. از تیره *Phytolaccaceae* می‌باشد. این گیاه در تمام قسمت‌های ایالات متحده، جنوب اروپا و شمال آفریقا رشد می‌کند [۳]. قسمت‌های مختلف این گیاه دارای گلیکوزید ساپونینی به نام فیتولاتوکسین است [۴]. این گیاه دارای آلکالوئید [۵] کاتشین و فلاوونوئید [۶] دو نوع اکسیم آزاد [۷] اسیدهای فنولیک آزاد [۸] بتاسیانین [۹] و تانن [۴] می‌باشد. از کاربردهای درمانی این گیاه می‌توان به اثرات مسهلی و قی‌آوری [۲، ۴، ۱۰]، درمان روماتیسم [۱، ۳، ۱۰]، اسکوریبت [۳] و دیسمنوره [۱، ۱۰] اشاره کرد. مصرف مقادیر غیردرمانی این گیاه ایجاد اختلالات گوارشی و التهاب دستگاه گوارش و کندی تنفس می‌کند و حرکات قلب را به تدریج کاهش می‌دهد [۱، ۳، ۱۰].

در این مطالعه تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره

متانولی سرخاب‌کولی در آزمایش‌های جداگانه بر روی خواص الکتروفیزیولوژیک پایه و عملکردی گره دهلیزی - بطنی مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش کار

شناسایی و جمع‌آوری گیاه

گیاه سرخاب‌کولی از امیرآباد واقع در بین شهرهای نور و محمودآباد جمع‌آوری شد. شناسایی گیاه توسط بخش مفردات پزشکی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد.

عصاره‌گیری

گیاه ابتدا در سایه خشک شد و سپس توسط سوکسله و حلال متانول عصاره‌گیری گردید. عصاره حاصل بعد از صاف شدن توسط خلا تغلیظ شد.

تهیه محلول مغذی (Tyrode)

برای تهیه محلول مغذی از آب استفاده می‌کنیم که هدایت الکتریکی آن زیر ۱ میکرو زیمنس است. به آب دو بار تقطیر مواد زیر افزوده می‌شود:

NaCl	۸ g/lit
KCL	۰/۰۷ g/lit
Glucose	۱/۱ g/lit
NaHCO ₃	۰/۰۵ g/lit
CaCl ₂	۰/۱ g/lit

تهیه قلب ایزوله

در تمامی آزمایش‌ها از رت نر با محدوده وزنی ۳۵۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. به حیوان‌ها پس از وزن شدن مقدار ۵۰۰ unit/kg هپارین زیر صفاقی تزریق شد. برای بیهوش کردن حیوانات از پنتو باربیتال به مقدار ۴۰ mg/kg استفاده شد. بعد از بیهوشی کامل از طریق بازکردن نای و لوله‌گذاری، حیوان تحت

کنترل و نتیلاتور قرار گرفته و سپس با بازکردن قفسه سینه و قرار دادن یک کانول در آئورت به سرعت به سیستم پرفیوژن متصل شد. محلول تیروید با فشار ثابت 2 ± 68 میلی‌متر جیوه رگ‌های کرونر را تغذیه می‌کرد.

جهت کار با قلب ایزوله شرایطی لازم است که تقریباً شرایط موجود در بدن حیوان را ایجاد نماید از جمله فشار، اکسیژن، املاح، جریان مداوم محلول و pH. فشار برای قلب ایزوله 3 ± 71 میلی‌متر جیوه باید باشد که با بالا و پایین بردن مخزن محلول تیروید تنظیم می‌شود. اکسیژن در طول آزمایش به محلول وارد می‌شود. با جریان مناسبی از اکسیژن pH تنظیم می‌گردد. دمای محلول باید 37 سانتی‌گراد باشد که با بالا و پایین بردن دمای آب تنظیم می‌شود. جریان خروجی از قلب در فشار 3 ± 71 میلی‌متر جیوه 2 ± 10 میلی‌لیتر در دقیقه بود که در صورت تغییر در این جریان قلب دیگری جایگزین می‌شد.

ثبت امواج

امواجی که باید ثبت شود شامل ثبت از بطن، دهلیز و انقباضات قلب است. ثبت امواج دهلیزی و بطنی توسط الکترودهای نقره‌ای صورت گرفت. تحریکات به کار رفته توسط کامپیوتر ایجاد شد. جهت تقویت، فیلتر و ثبت امواج از دستگاه فیزیوگراف ۸ کاناله استفاده گردید.

پروتکل‌های تحریکی

BCL (Basic Cycle Length): طولانی‌ترین فاصله دو تحریک متوالی که در طول آزمایش به نمونه مورد نظر وارد می‌شود و معمولاً 30 تا 50 میلی‌ثانیه سریع‌تر از سرعت ضربان‌های خودبه‌خودی قلب مورد آزمایش انتخاب می‌گردد.

LC (long Cycle): همان BCL است که در طول پروتکل‌های تحریکی به منظور رهایی از تاثیر فشار وارد به بافت به‌طور متناوب به نمونه وارد می‌شود. **PC (Premature Cycle):** ضربانی که در هر لحظه از زمان وضعیت گره نسبت به آن ارزیابی می‌گردد و می‌تواند مقادیر خیلی زیاد (BCL) تا مقادیر خیلی کم (ERP) در نوسان باشد.

AVCT (Atrio- Ventricular Conduction Time): فاصله زمان بین ظهور اولین انحراف در الکتروکاردیوگرام ثبت دهلیزی تا اولین انحراف در ثبت بطن‌ها بوده و مقادیر بین 160 - 120 میلی‌ثانیه را دربرمی‌گیرد. برای اندازه‌گیری آن قلب با سرعت BCL تحریک شده و فاصله مورد نظر اندازه‌گیری می‌شود.

WBCL (Wenckbach Cycle Length): افزایش تدریجی در سرعت تحریک دهلیزها به گونه‌ای که بعد از مدتی به ایست دو به یک دهلیزی- گره‌ای ختم شود. جهت اجرای پروتکل فوق قلب را با سرعت BCL شروع به تحریک کرده و هر 10 ضربه سرعت تحریک را افزایش داده تا ایست دو به یک مشاهده گردد.

Recovery: بازیابی مجدد قابلیت تحریک‌پذیری در گره متعاقب یک تحریک تاخیری که با افزایش AVCT همراه است. جهت اجرای آن بعد از 5 دقیقه به تحریک پایه، 10 تحریک LC و سپس یک تحریک PC به بافت وارد و به تدریج بسامد تحریک تاخیری را کمتر کرده تا حدی که گره قادر به عبور ایмпالس وارده از دهلیزها نباشد. با رسم فاصله زمان (Recovery) V_1A_2 در مقابل A_2V_2 (هدایت موج) منحنی تک توان نزولی به‌دست می‌آید که شیب منحنی (T_{rec}) ، محل برخورد با محور عمودی (AV_{∞}) و محل تلاقی با محور افقی (β) شاخص‌های قابل گزارش این پروتکل هستند.

Bartlett و جهت مقایسه بین گروه شاهد و دریافت‌کننده دارو از T-test استفاده شد.

نتایج

بر اساس نتایج حاصل گیاه سرخاب‌کولی در یک مدل وابسته به غلظت سبب افزایش میزان شاخص‌های الکتروفیزیولوژیک پایه شامل ERP، AVCT و WBCL شد که AVCT حساس‌ترین و ERP مقاوم‌ترین آنها بود. در مورد AVCT بیشترین تغییرات در غلظت $w/v \times 10^{-v} \%$ ۲ و در مورد WBCL بیشترین تغییرات در غلظت $w/v \times 10^{-v} \%$ ۵ مشاهده شد (شکل شماره ۱). در مورد پروتکل Recovery تحت تاثیر غلظت‌های مختلف گیاه مذکور تغییرات معنی‌داری در پارامتر β مشاهده شده ولی AV_{∞} و T_{rec} تغییرات معنی‌داری را نشان ندادند (جدول شماره ۱)

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه اثرات عصاره این گیاه بر روی شاخص‌های قلب وابسته به غلظت می‌باشد. عصاره این گیاه باعث طولانی شدن زمان هدایت در گره دهلیزی-بطنی می‌شود و با کاهش سرعت هدایت ایмпالس اجازه زیاد شدن بیش از حد تعداد ضربان‌های قلب را نمی‌دهد و از طرف دیگر با افزایش زمان تحریک‌ناپذیری موثر گره دهلیزی-بطنی از ضربان‌های نامرتب بطنی در اثر

ERP (زمان تحریک‌ناپذیری موثر): طولانی‌ترین فاصله دو ثبت متوالی دهلیزی است که متعاقب آن ایست دو به یک دهلیزی - گره‌ای رخ دهد.

قبل از شروع آزمایش، قلب‌های موردنظر باید حداقل ۳۰ دقیقه از نظر قابلیت انقباضی، جریان عروق کرونر و زمان AVCT و WBCL پایدار باشند. در صورت تغییر مشخص هر یک از پارامترهای فوق قلب مورد نظر کنار گذاشته می‌شود. پروتکل WBCL به عنوان نمای پایداری الکتروفیزیولوژیک قلب در طول آزمایش مدنظر قرار می‌گیرد. این پروتکل قبل و بعد از اضافه کردن دارو و در انتهای آزمایش بعد از شستشوی قلب اجرا گردیده و میانگین تغییرات حاصل نباید از ± 0.05 میلی ثانیه تجاوز کند.

تعداد نمونه‌ها در این آزمایش ۴۲ قلب ایزوله در دو گروه شاهد (۲۱ قلب) و گروه دریافت‌کننده دارو (۲۱ قلب) بود که برای هر غلظت ۷ عدد قلب استفاده شد. در مورد نمونه‌های شاهد پروتکل‌های تحریکی در حضور محلول تیروید انجام شد. در مورد نمونه‌های دریافت‌کننده دارو ابتدا دارو به مدار اضافه شد و ۱۰ دقیقه در تماس با قلب بود. سپس پروتکل‌ها بار دیگر انجام شد. برای تهیه غلظت‌های موردنظر از محلول تیروید استفاده شد که شامل غلظت‌های $w/v \times 10^{-v} \%$ ۱، $w/v \times 10^{-v} \%$ ۲ و $w/v \times 10^{-v} \%$ ۵ بود. این غلظت‌ها بر اساس آزمایش‌های مقدماتی که روی قلب انجام گرفت انتخاب گردید. جهت مشخص کردن توزیع طبیعی و غیرطبیعی داده‌ها از آزمون

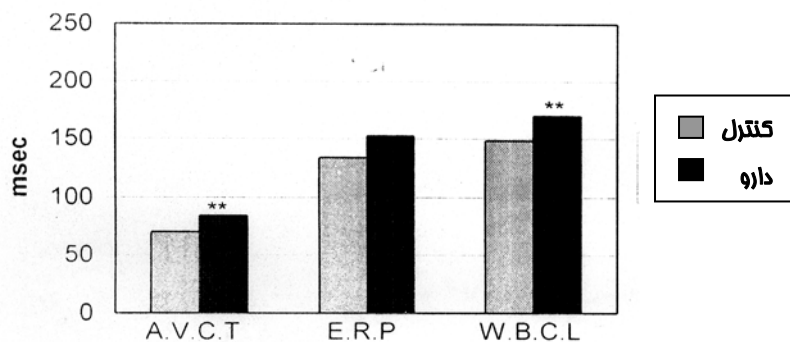
جدول شماره ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف سرخاب‌کولی بر روی شاخص‌های حاصل از اجرای پروتکل Recovery

β (ms) (mean $\pm$ SE)		T_{rec} (ms) (mean $\pm$ SE)		AV_{∞} (ms) (mean $\pm$ SE)		
دارو	کنترل	دارو	کنترل	دارو	کنترل	
410 ± 78	266 ± 41	40 ± 4	39 ± 3	88 ± 5	81 ± 5	$1 \times 10^{-v} \% w/v$
343 ± 104	195 ± 22	48 ± 6	54 ± 6	$86^{**} \pm 4$	76 ± 3	$2 \times 10^{-v} \% w/v$
540 ± 125	317 ± 56	40 ± 8	36 ± 2	$91^{*} \pm 2$	81 ± 4	$2 \times 10^{-v} \% w/v$

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

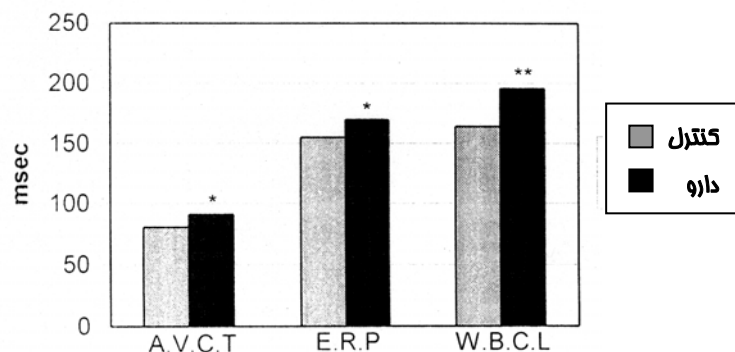


$$C = 2 \times 10^{-7} \% W/V$$



** $P < 0.01$

$$C = 5 \times 10^{-7} \% W/V$$



* $0.01 < P < 0.05$ ** $P < 0.01$

شکل شماره ۱- اثر غلظت‌های مختلف سرفاب‌کولی بر روی پروتکل‌های A.V.C.T، E.R.P و W.B.C.L

سرعت باز شدن کانال‌های آهسته کلسیمی و پتاسیمی باعث اثرات مذکور روی قلب ایزوله گردد ولی آنچه مسلم است عصاره روی کینتیک کانال‌های کلسیمی و تأثیری ندارد زیرا اگر روی کینتیک این کانال‌ها تأثیر می‌گذاشت باید به‌طور significant باعث تغییر در T_{rec} می‌شد.

پژوهش‌هایی برای پیدا کردن ماده یا موادی که در گیاه مذکور باعث طولانی شدن زمان هدایت گره دهلیزی - بطنی و زمان تحریک‌ناپذیری موثر می‌شوند، باید انجام گیرد و این مواد باید شناسایی کردند که با توجه به اثر روی AV, ERP و AVCT

ایمپالس‌های نامنظم صادره از گره سینوسی - دهلیزی جلوگیری می‌کند و جلوی تحریک بیش از حد بطن را می‌گیرد. افزایش AVCT و ERP با اثر بر روی چگونگی تحریک و سرعت هدایت گره دهلیزی - بطنی صورت می‌گیرد. کانال‌ها و پمپ‌هایی در این امر دخیل هستند که عبارتند از کانال‌های آهسته کلسیمی که با بازشدنشان باعث ورود کلسیم به داخل سلول و ایجاد پتانسیل عمل می‌شوند. سپس با باز شدن کانال‌های پتاسیمی، پتاسیم داخل سلولی از سلول خارج می‌شود و رپلاریزاسیون صورت می‌گیرد. عصاره این گیاه ممکن است با کم کردن

موثر واقع شوند و در درمان آن به کار روند.

می توانند در تاکی آریتمی های سوپراونتریکولار

منابع

1. Tamargo J, Valenzuela C and Deplon E. New insights into the pharmacology of sodium channel blockers. *Eur. Heart J.* 1992; 13: 2- 13.
2. Cobbe SM. Drug therapy of supraventricular tachyarrhythmias based on efficacy or futility. *Eur. Heart J.* 1994; 15: 22- 60.
3. Tyler VE, Brady LR and Robbers JE. *Pharmacognosy*. 9th ed. Lea and Febiger. Philadelphia. 1998, pp: 484- 85.
4. زرگری علی. گیاهان دارویی، چاپ چهارم. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳۷۱، جلد چهارم، صفحات ۲۱۳-۲۰۸.
5. Kang SS and Woo WS. Triterpenes from the berries of *Phytolacca Americana*. *Llyodia*. 1980; 510-13.
6. Billette J. and Nattle S. Dynamic behavior of atrioventricular node. *J. cardiovascular electrophysiology*. 1994; 5: 90-102.
7. Woo M, Wonskick L and Smick J. Ferredoxin in *Phytolacca Americana*. *Yakha Hoe Chi*. 1998; 28: 546-52.
8. Bylka W and Matlawska L. Flavonoids and free phenolic acids from *phytolacca americana* L. leaves. *Acta. Pol. Pharm. Drug Res.* 2001; 58: 69- 72.
9. Schliemann W, Joy RW, Komamine A, Metzger JW, Nimtz M, Wray V and Strack D. Betacyanins from plants and cell cultures of *Phytolacca americana*. *Phytochem*. 1996; 42: 1039-46.
۱۰. آیینہ چی یعقوب. مفردات پزشکی و گیاهان دارویی. چاپ دوم. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳۷۰، صفحات ۷۲-۶۷.