اثر بلوک کنندگی کانال های کلسیمی بر اتساع رگی ناشی از عصاره گیاه کلپوره در آئورت ایزوله موش صحرایی

الهه فریدونی*[۱]، سعید نیازمند[۲]، سید محمود حسینی[۲]، مریم محمود آبادی[۲]

۱. گروه هوشبری دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۲. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

* عهده دار مکاتبات: کرمانشاه ، میدان ایثار ، گروه هوشبری E-mail: efereidouni2009@yahoo.com

---

چکیده

زمینه : کلپوره (*Teucrium polium*) گیاهی علفی از تیره نعناع است که دارای خواص فارماکولوژیکی زیادی نظیر اثرات ضد دیابتی، ضد التهابی، ضد دردی می باشد. گزارشات متعددی از اثرات قلبی عروقی از قبیل اثرات کاهنده فشارخون و نیز اثرات اینوتروپیک و کرونوتروپیک مثبت این گیاه وجود دارد. هدف از این مطالعه، بررسی نقش احتمالی کانال های کلسیمی در حضور بلوک کننده های کانال های کلسیمی بر اثر گشاد کنندگی عصاره کلپوره می باشد.

روش ها: در این مطالعه تجربی، ۲۸ سر رت نر نژاد ویستار بطور تصادفی به ٤ گروه ۷ تایی تقسیم گردیدند. درگروه های اول و دوم اثر غلظت های تجمعی عصاره (۱،۲،٤،۸mg/ml) بر انقباض ناشی از فنیل افرین (10^{-6}مولار) در حضور و غیاب اندوتلیوم، در گروه سوم اثر غلظت های تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور دیلتیازم (10^{-5} مولار) و در گروه چهارم اثر غلظت های تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین در حضور هپارین (۵۰ mg/ml) بررسی گردید. به منظور تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS 13 و آزمون های تحلیل واریانس و تی استفاده شد.

یافته ها: عصاره انقباضات ناشی از فنیل افرین را در حضور و غیاب اندوتلیوم به صورت وابسته به غلظت بطور معنی داری کاهش داد ($P<۰/۰۰۱$ ، $P=۰/۰۰۲$). غلظت های تجمعی عصاره غیر از غلظت های mg/ml **۲و۱** انقباض القا شده فنیل افرین را در حضور دیلتیازم و هپارین مهار کرد ($P<۰/۰۰۱$).

نتیجه گیری: کلپوره دارای اثر شل کنندگی بر عضله صاف عروق است، بنظر میرسد بخشی از این اثر از طریق مهار جریان روبه داخل کلسیمی از طریق کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ و وابسته به گیرنده و بخش دیگر نیز از طریق مهار رهایش کلسیم از منابع داخل سلولی به انجام می رسد.

کلید واژه ها : کلپوره، آئورت، اندوتلیوم، کانال های کلسیمی، موش صحرایی

مقدمه:

شیوع بیماری های قلبی- عروقی در جوامع انسانی امروزی بسیار بالاست و پیشگیری و درمان این بیماری ها جز اولویت های بهداشتی در غالب کشور ها به شمار میرود (۱). در سال های اخیر گرایش به مصرف دارو های گیاهی در درمان و پیشگیری از بیماری ها در سطح جهان بطور چشمگیری افزایش یافته است. یکی از گیاهانی که کم و بیش در طب سنتی برای رفع درد قلب استفاده می شود، کلپوره است. کلپوره یا چز (*Teucrium polium*) متعلق به شاخه گیاهان گلدار، رده دولپه ای ها (*Dicotyledoneae*)، راسته نعناسانان (*Lamiales*) و تیره نعناع (*Labiatae*) می باشد. این گیاه نسبتا کوچک، علفی، پایا به ارتفاع ۱۰ تا ۳۰ سانتیمتر، دارای ظاهر سفید پنبه ای است که معمولا در نواحی سنگلاخی و ماسه زارهای نواحی مختلف اروپا، منطقه مدیترانه، شمال آفریقا و جنوب غربی آسیا از جمله ایران در نواحی مختلف شمال، غرب، جنوب و مرکز ایران و کوهستان های نیمه خشک پراکندگی دارد (۲). مصرف دارویی آن به زمان بقراط و جالینوس بر می گردد و بخش دارویی آن سرشاخه های گلدار آن می باشد (۲). در بررسی های انجام شده بر روی گیاه کلپوره مشخص شده است که این گیاه حاوی مقادیری تانن، ترپنوئیدها، ساپونین، استرول، فلاونوئید، گلیکوزید، آلفا و بتا پینن و لوکوآنتوسیانین است (۳). وجود ۱۰ ترکیب ترپنوئیدی از جمله cedrol، guaiol وlinalool در روغن آن مشخص شده است (٤). تحقیقات علمی نشان داده اند که این گیاه دارای اثرات ضد دیابت (۵)، کاهنده کلسترول و تری گلیسرید سرم (٦)، ضد التهاب (۷)، آنتی اکسیدان (۸)، ضد تب و ضد میکروب (۹)، ضد درد (۱۰) و ضد اسپاسم (۱۱) می باشد. اثر این گیاه بر ترشح اسید معده و نیز حرکات معده موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته است (۱۳،۱۲). در مورد اثرات قلبی عروقی این گیاه گزارشاتی در دست است. در تحقیقی اثر اینوتروپیک و کرنوتروپیک مثبت این گیاه بر قلب ایزوله خوکچه هندی نشان داده شده است (١٤). در بررسی دیگری اثر کاهنده فشار خون و نیز اثر اینوتروپیک مثبت آن در خرگوش گزارش شده است (۱۵). در پژوهشی دیگر، اثر اتساعی عصاره آبی الکلی کلپوره بر آئورت جدا شده موش صحرایی بررسی شده است (١٦). در مطالعه حاضر اثر گشاد کنندگی رگی عصاره آبی الکلی کلپوره در حضور بلوک کننده های کانال های کلسیمی بر آئورت ایزوله موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها:

عصاره کلپوره به روش خیساندن تهیه شد. سر شاخه های گلدار گیاه کلپوره، تهیه شده از منطقه فردوس در خراسان جنوبی، بعد از شناسایی علمی توسط هرباریم دانشگاه فردوسی مشهد، پس از خشک شدن در سایه، آسیاب شده و بصورت پودر ریز درآمد و در مقدار کافی الکل اتیلیک ۵۰ درصد، در دمای آزمایشگاه به مدت ٤۸ ساعت خیسانده شد. سپس محلول بدست آمده با استفاده از کاغذ صافی، صاف گردید. جهت تهیه عصاره خشک، محلول بدست آمده به مدت ۷۲ ساعت در بن ماری ٤۰ درجه قرار گرفت. مقدار بازده عصاره ۹٪ بود. غلظت های مورد استفاده (۱،۲،٤،۸ mg/ml) از این عصاره خشک تهیه گردید.

مطالعه به روش تجربی و بر روی رت های نر بالغ صورت گرفت. موش های صحرایی بالغ نر از نژاد ویستار (با محدوده وزنی ۲۵۰- ۲۰۰ گرم) تهیه شده از حیوان خانه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، در قفس های پلی کربنات بصورت چندتایی و در دمای ٢٤-٢٠ درجه سانتیگراد و سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. موش ها دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. موش ها با دی اتیل اتر بیهوش شده، قفسه سینه باز شد و از آئورت سینه ای حدود ۲ سانتیمتر جدا گردید و بلافاصله در محلول سرد و اکسیژنه کربس- هانسلیت قرار داده و بافت های پیوندی با دقت از آن جدا گردید. آئورت به چند قطعه به طول ۵ میلیمتر تقسیم شد. در تمام مراحل آماده سازی آئورت، دقت فراوان گردید تا به لایه آندوتلیال آن آسیب وارد نشود. در گروه های فاقد آندوتلیوم، برای حذف اندوتلیوم، از یک میله نازک فلزی استفاده می‌شد که با مالش آرام میله به مدت ٦۰ ثانیه در سطح داخلی حلقه های آئورت، اندوتلیوم تخریب می‌گردید. برای حصول اطمینان

از تخریب اندوتلیوم آئورت، پس از ایجاد انقباض به وسیله غلظت $۱۰^{-۶}$ مولار فنیل افرین، استیل کولین با غلظت $۱۰^{-۵}$ مولار به حمام بافت اضافه می‌گردید، این دارو در صورت وجود اندوتلیوم موجب انبساط آئورت می گردد. عدم مشاهده هر گونه اثر شل کنندگی در انقباض ناشی از فنیل افرین نشان دهنده تخریب کامل اندوتلیوم بود. قطعه آئورت آماده شده بلافاصله به درون حمام بافت (۵۰ میلی لیتر) و بین دو میله افقی از جنس استیل زنگ نزن قرار داده شد که یکی بصورت ثابت در ته حمام بافت قرار داشت و دیگری از طریق نخ به ترانسدیوسر ایزومتریک (AD instrument, Australia) متصل شده بود و انقباضات آئورت به وسیله دستگاه ثبات (Power Lab) بر روی کاغذ ثبت گردید. محلول کربس- هانسلیت حمام ۳۷ درجه سانتیگراد، pH برابر ۷/٤ و ترکیب آن (بر حسب میلی مولار) به قرار زیر بود:

$NaCl$ 118.5; KCl 4.74; $CaCl_2$ 2.5; $MgSO_4$ 1.18; $NaHCO_3$ 24.9; Glucose 10

جریان دائم حباب های اکسیژن از ته حمام برقرار بود. میزان کشش اولیه ۲ گرم و مدت دوره سازگاری ٦۰ دقیقه بود که طی این مدت هر ۱۵ دقیقه محلول حمام تعویض می گردید.

در گروه اول، پس ازاعمال کشش استراحت و تثبیت شرایط بافت، عضله صاف آئورت با استفاده از فنیل افرین ($۱۰^{-۶}$ مولار) منقبض گردیده و سپس اثر غلظتهای تجمعی عصاره (۱،۲،٤،۸mg/ml) در حضور اندوتلیوم بررسی گردید، (n= ۷).

در گروه دوم، پس ازاعمال کشش استراحت و تثبیت شرایط بافت، عضله صاف آئورت با استفاده از فنیل افرین ($۱۰^{-۶}$ مولار) منقبض گردیده و سپس اثر غلظتهای تجمعی عصاره (۱،۲،٤،۸mg/ml) در غیاب اندوتلیوم بررسی گردید، (n= ۷).

در گروه سوم، پس ازاعمال کشش استراحت و تثبیت شرایط بافت، ابتدا بافت به مدت ۳۰ دقیقه با دیلتیازم ($۱۰^{-۵}$ مولار) انکوبه شده و سپس عضله صاف آئورت با استفاده از فنیل افرین ($۱۰^{-۶}$ مولار) منقبض گردیده و اثر غلظتهای تجمعی عصاره (۱،۲،٤،۸mg/ml) بررسی گردید، (n= ۷).در گروه چهارم، پس زاعمال کشش استراحت و تثبیت شرایط بافت، ابتدا بافت به مدت ۳۰ دقیقه با هپارین (۵۰ mg/ml) انکوبه شده و سپس عضله صاف آئورت با استفاده از فنیل افرین ($۱۰^{-۶}$ مولار) منقبض گردیده و اثر غلظت های تجمعی عصاره (۱،۲،٤،۸mg/ml) بررسی شد، (n= ۷).

نتـایج به صـورت مـیانگین ± انحراف معیار ارائه شد و داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 13 تحلیل یافت. برای مقایسه نتایج هر متغیر در هر یک از گروه ها قبل و بعد از هر بررسی از آزمون تی زوجی و برای مقایسه گروه ها با هم با توجه به توزیع نرمال داده ها با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف، از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و مقایسات پسین (توکی) استفاده و$P<۰/۰۵$ بعنوان سطح اختلاف معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته ها:

عصاره کلپوره اثر شل کنندگی معنی داری بر انقباض ناشی از فنیل افرین در شرایط حضور و غیاب اندوتلیوم نشان داد. در شرایط حضور و غیاب اندوتلیوم تفاوت معنی داری در اثر شل کنندگی عصاره در تمامی غلظت ها وجود داشت($P<۰/۰۰۱$ ، $P=۰/۰۰۲$). همچنین در مقایسه این دو گروه با هم، تفاوت معنی داری در اثر شل کنندگی عصاره بین دو گروه دارای اندوتلیوم و فاقد اندوتلیوم در غلظت های ۸mg/ml و٤ مشاهده شد ($P<۰/۰۰۱$ ، $P=۰/۰۱$) (جدول ۱) .

به منظور تائید بیشتر این امر که عصاره اثر شل کنندگی خود را از طریق مهـار جـریان ورودی کلسیمی توسط کانال های کلسیمی اعمال می کند، اثر عصاره در حضور یک مهار کننده کانال های کلسیمی نوع L (دیلتیازم) در غیاب اندوتلیوم بررسی شد. عصاره کلپوره در غلظت ۱mg/ml، اثر شل کنندگی بر انقباض ناشی از فنیل افرین نشان نداد و حتی سبب تشدید انقباض شد. اثر شل کنندگی عصاره با غلظت ۲mg/ml نسبت به مقدار پایه (غلظت فنیل افرین)، معنی دار نبود. همچنین اثر شل کنندگی معنی داری بر انقباض ناشی از فنیل افرین در غلظت های٤mg/ml و ۸ نسبت به غلظت پایه مشاهده گردید

($P<۰/۰۰۱$). در مقایسه دو گروه دیلتیازم با گروه فنیل افرین در غیاب اندوتلیوم، تفاوت معنی داری در اثر شل کنندگی عصاره در همه غلظت ها مشاهده شد ($P=۰/۰۰۶$، $P=۰/۰۳$, $P۰/۰۰۱$)، (جدول ۱و ۲).

برای بررسی اثر عصاره بر رهایش کلسیم از منابع داخل سلولی با واسطه اینوزیتول تری فسفات (IP_3)، پاسخ های انقباضی حلقه های آئورتی فاقد اندوتلیوم به فنیل افرین در حضور هپارین، بلوک کننده اثر IP_3 بر کانال های کلسیمی وابسته به IP_3 مورد بررسی قرار گرفت. عصاره کلپوره اثر شل کنندگی معنی داری بر انقباض ناشی از فنیل افرین در شرایط حضور هپارین در غلظت های ۸mg/ml و٤، ۱ نشان داد ($P<۰/۰۰۱$)، در مقایسه دو گروه هپارین با گروه فنیل افرین در غیاب اندوتلیوم، تفاوت معنی داری در اثر شل کنندگی عصاره در همه غلظت ها مشاهده شد ($P<۰/۰۰۱$) (جدول ۱و۲و۳).

نتایج تجزیه واریانس یک طرفه (جدول ٤)، تفاوت معنی داری در غلظت های ۸mg/ml و٤، ۲ ، ۱ بین سه گروه فاقد اندوتلیوم منقبض شده با فنیل افرین، گروه هپارین و دیلتیازم نشان داد ($P=۰/۰۱$ و$P<۰/۰۰۱$). همچنین نتایج مقایسه میانگین با روش توکی (نمودار ۱)، نشان داد که بین گروه فاقد اندوتلیوم منقبض شده با فنیل افرین با گروه های هپارین (برای غلظت های mg/ml ۲و۱، $P <۰/۰۰۱$ و برای غلظت های mg/ml ۸و٤، $P =۰/۰۰$) و دیلتیازم (برای غلظت های mg/ml ۲و۱، $P <۰/۰۰۱$ و برای غلظت های mg/ml ۸ و٤، $P =۰/۰۵$) اختلاف معنی دار داشتند. اما بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی داری بین دو گروه هپارین و دیلتیازم منقبض شده با فنیل افرین در غلظت های مختلف وجود نداشت.

جدول ۱: مقادیر آماره **t**، **سطح معنی‌داری، درجه آزادی برای آزمون های تی زوجی برای غلظت های مختلف عصاره بر اساس تیمارهای مختلف**

غلظت های عصاره (mg/ml)	درجه آزادی	آزمون تی زوجی			
		فنیل افرین در غیاب اندوتلیوم در مقایسه با غلظت پایه	فنیل افرین در حضور اندوتلیوم در مقایسه با غلظت پایه	فنیل افرین در غیاب اندوتلیوم در حضور دیلتیازم در مقایسه با غلظت پایه	فنیل افرین در غیاب اندوتلیوم در حضور هپارین در مقایسه با غلظت پایه
۱	٦	$-٤/٢٨^{**}$	$-٣/٧٧^{**}$	$٤/٠٢^{**}$	$٧/٢٢^{***}$
۲	٦	$-٢٤/٦^{***}$	$-١٥/١٦^{***}$	$-٠/٣٥^{ns}$	$١/٥٧^{ns}$
٤	٦	$-٤٨/٠٩^{***}$	$-٢٠/٦١^{***}$	$-٦/٨٦^{***}$	$-٨/٩٣^{***}$
۸	٦	$-٧٣/٢^{***}$	$-٤١/٣٥^{***}$	$-٢٥/٦١^{***}$	$-٢٧/٣٣^{***}$

***معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۱، **–معنی‌دار در سطح ۰/۰۱، ns–غیر معنی‌دار

جدول ۲: مقادیر آماره t، سطح معنی‌داری، درجه آزادی برای آزمون های تی مستقل برای غلظت های مختلف عصاره بر اساس تیمارهای مختلف

آزمون تی مستقل				
غلظت های عصاره (mg/ml)	درجه آزادی	فنیل افرین در حضور اندوتلیوم در مقایسه با فنیل افرین در غیاب اندوتلیوم	فنیل افرین در غیاب اندوتلیوم در مقایسه با دیلتیازم	فنیل افرین در غیاب اندوتلیوم در مقایسه با هپارین
۱	۱۲	۱/۴۲ ns	۴/۰۲**	-۸/۲۷***
۲	۱۲	۰/۹ ns	-۵/۳۵***	-۷/۳۲***
۴	۱۲	-۳/۰۵**	-۲/۴*	-۵/۰۸***
۸	۱۲	-۸/۰۷***	-۳/۲۹**	-۴/۲۸***

*** معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۱، ** -معنی‌دار در سطح ۰/۰۱، * -معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ ، ns -غیر معنی‌دار

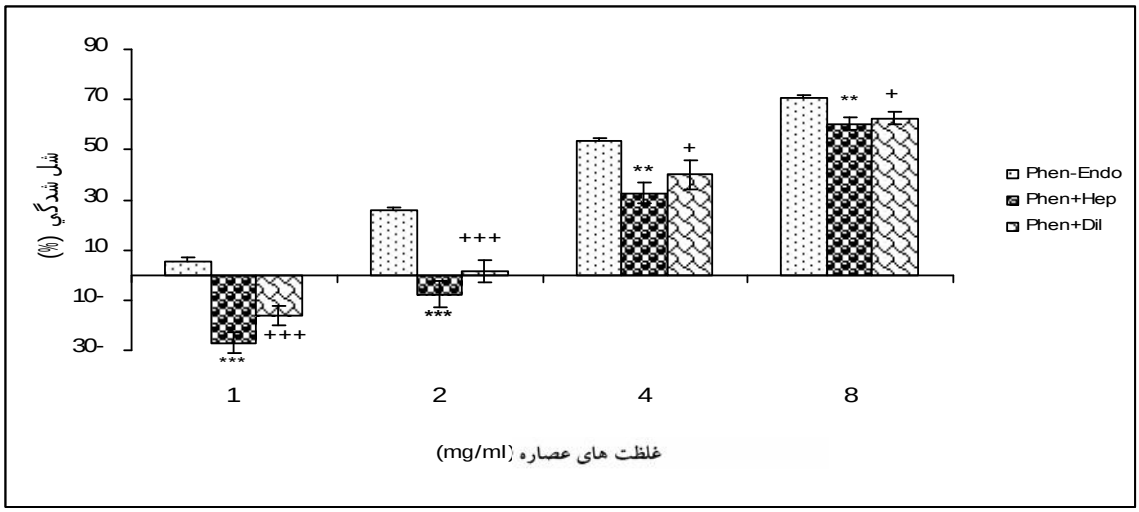
جدول ۳: مقادیر میانگین و انحراف معیار برای غلظت های مختلف عصاره بر اساس تیمارهای مختلف

میانگین و انحراف معیار				
غلظت های عصاره (mg/ml)	فنیل افرین در غیاب اندوتلیوم در حضور دیلتیازم	فنیل افرین در غیاب اندوتلیوم	فنیل افرین در حضور اندوتلیوم	فنیل افرین در غیاب اندوتلیوم در حضور هپارین
۱	-۱۶/۲(±۴/۰۲)	۵/۷(±۱/۳۴)	۱۰/۰۳(±۲/۶۵)	-۲۵/۹(±۳/۵)
۲	۱/۵(±۴/۴)	۲۵/۹۶(±۱/۰۵)	۲۷/۸۹(±۱/۸۳)	-۶/۸(±۴/۳)
۴	۴۰/۰۳(±۵/۸)	۵۴/۲۷(±۲/۶۵)	۴۶/۵۶(±۲/۲۵)	۳۴/۰۶(±۳/۸)
۸	۶۲/۴۱(±۲/۴)	۷۱/۰۶(±۰/۹)	۵۷/۳۹(±۱/۳۸)	۶۰/۶(±۲/۲)

جدول ۴: تجزیه واریانس یکطرفه در غلظت های مختلف عصاره برای گروه های **فاقد اندوتلیوم منقبض شده با فنیل افرین و گروه های هپارین، دیلتیازم**

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		غلظت ۱ mg/ml	غلظت ۲ mg/ml	غلظت ۴ mg/ml	غلظت ۸ mg/ml
تیمار	۲	۱۸۳۶/۲۵***	۲۰۲۴/۵۳***	۸۴۶/۵۶**	۲۲۴/۰۶**
خطا	۱۸	۷۲/۴۷	۹۳/۱۳	۱۱۱/۶۱	۲۷/۲۰

*** -معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۱، ** -معنی‌دار در سطح ۰/۰۱



نمودار۱: نمودار ستونی اثر شل کنندگی تیمار های مختلف در چهار غلظت مورد بررسی به همراه نتایج معنی داری حاصل از مقایسه میانگین به روش توکی.

تفاوت معنی داری بین گروه فاقد اندوتلیوم منقبض شده با فنیل افرین و گروه های هپارین، دیلتیازم وجود دارد. $P<۰/۰۰۱$ ***، $P=۰/۰۱$ **

اثر شل کنندگی عصاره در حضور هپارین در مقایسه با نمونه های فاقد اندوتلیوم منقبض شده با فنیل افرین. $P<۰/۰۰۱$ ***، $P<۰/۰۵$ *

اثر شل کنندگی عصاره در حضور دیلتیازم در مقایسه با نمونه های فاقد اندوتلیوم منقبض شده با فنیل افرین. تفاوت معنی داری بین گروه های هپارین و دیلتیازم مشاهده نشد ($n=۷$ در هر گروه).

بحث:

یافته های پژوهش حاضر نشان داد که عصاره کلپوره انقباض ناشی از فنیل افرین را در عضله صاف آئورت کاهش می دهد. کلسیم فاکتور اصلی در جفت شدن تحریک – انقباض در سلول‌های عضله صاف است (۱۷،۱۸). مسیرهای شناخته شده افزایش کلسیم داخل سلولی از طریق کانال های کلسیمی عمل کننده توسط رسپتور ($ROCC_S$)[۱] ، کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ ($VDCC_S$)[۲] ، آزاد شدن کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی به وسیله فعال‌سازی IP_3 و رسپتورهای رایانودینی است (۱۹) که باعث افزایش کلسیم درون سلولی شده و منجر به انقباض عضله صاف می‌گردد.

فنیل افرین آگونیست گیرنده های α_1 آدرنرژیک است که باعث انقباض عضله صاف آئورت به وسیله جریان رو به داخل کلسیم از طریق کانال‌های کلسیمی وابسته به گیرنده (۲۰)، کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ(۲۱،۲۲) و نیز ترشح کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی با اتصال IP_3 به گیرنده های IP_3 در شبکه سارکوپلاسمی می شود (۲۰،۲۳).روند انقباض حاصل از ترکیباتی که از طریق گیرنده های متصل شونده به پروتئین G عمل می کنند (نظیر گیرنده های آلفا-۱ آدرنرژیک)، غالبا با افزایش آزاد سازی کلسیم از منابع داخلی شروع شده و در تداوم انقباض، کانال های ROCCs نقش دارند، بعلاوه افزایش حساسیت پروتئین های انقباضی به یون کلسیم نیز مهم است (۲٤،۲۵). بنابراین احتمالا اثر شل کنندگی عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین با تداخل در جریان ورودی کلسیم از طریق این کانال ها اعمال می گردد. نتایج حاصل از اثر عصاره بر انقباض ناشی از فنیل افرین به تنهایی و در حضور دیلتیازم به خوبی نشان می دهد که عصاره بخش مهمی از اثر شل کنندگی خود را از طریق مهار جریان روبه داخل کلسیمی با واسطه کانال های کلسیمی نوع L به انجام می رساند. بنابراین عصاره آبی الکلی کلپوره توانسته است در رقابت با دیلتیازم اثر بلوک کنندگی کانال های کلسیمی نوع L را در غلظت های بالاتر حذف کرده و اثر اتساعی را بطور معنی داری افزایش دهد. عصاره بخشی از مکانیسم عمل خود را از طریق مهار رهایش کلسیم از منابع داخل سلولی اعمال می کند.

---

۱ Receptor- operated Ca^{+2} channels
۲ Voltage Receptor- operated Ca^{+2} channels

در انقباض عضله صاف جدار رگ مسیر های سیگنالینگ دیگری نیز می تواند به کار گرفته شود. تحریک گیرنده های آلفا می تواند سبب فعال شدن فسفولیپاز C و در نتیجه باعث تولید دی اسیل گلیسرول و IP_3 شود که متعاقبا دی اسیل گلیسرول، زنجیره سبک میوزین را از طریق فعالسازی پروتئین کیناز C فعال می کند و IP_3 آزاد شدن کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی را از طریق اتصال به رسپتور های IP_3 در شبکه سارکوپلاسمی القا میکند (۲۳،۲۰). بنابراین این احتمال نیز وجود دارد که بخشی از اثر عصاره از طریق تداخل با این مسیرهای سیگنالینگ، موجب بروز اثر شل کنندگی خود گردد. مقایسه نتایج حاصل از اثر شرایط حضور هپارین و دیلتیازم در غیاب اندوتلیوم بر انقباض ناشی از فنیل افرین نشان داد که کاهش اثر گشادکنندگی عصاره در تمامی غلظت ها در شرایط حضور هپارین بیشتر از دیلتیازم می باشد و این احتمال را مطرح می کند که کاهش اثر مهاری عصاره در غلظت های کمتر در شرایط حضور هپارین در غیاب اندوتلیوم، علاوه بر وابستگی اثر عصاره به اندوتلیوم در این غلظت ها به تاثیر هرچه بیشتر رهایش کلسیم از منابع داخل سلولی و کانال های کلسیمی وابسته به IP_3 مربوط می گردد. بنظر می رسد که در غلظت های بالاتر عصاره، اثر مهاری عصاره بر جریان رو به داخل کلسیمی نقش مهمتری بر شل کنندگی آن دارد. یافته ها نشان می دهد که برخی از ترکیبات موجود در عصاره کلپوره نظیر کارواکرول، ۱ و ۸- سینئول، آلفا ترپئول و کوئرستین دارای اثر شل کنندگی بر عضله صاف عروق است(۲٦). بنابراین می توان نتیجه گرفت که بخشی از اثرات مشاهده شده می تواند مربوط به حضور این ترکیبات در عصاره کلپوره باشد.

نتایج این پژوهش نشان می دهد که استفاده از کلپوره در طب سنتی برای درمان هایپرتانسیون میتواند مفید باشد. پیشنهاد می شود که برای درک بهتر این امر تاثیر عصاره کلپوره بر هایپرتانسیون و مکانیسم احتمالی این اثر مورد بررسی گردد.

نتیجه گیری:

یافته های پژوهش حاضر نشان می دهد که عصاره آبی الکلی کلپوره اثر شل کنندگی بر انقباض ناشی از فنیل افرین دارد. بخش مهمی از اثر شل کنندگی عصاره از طریق مهار جریان رو به داخل کلسیمی از طریق کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ و وابسته به گیرنده به انجام می رسد. به علاوه عصاره کلپوره بخش دیگری از اثر خود را با مهار رهایش کلسیم از منابع داخل سلولی از طریق IP_3 اعمال می کند.

تقدیر و تشکر:

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد و نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی مشهد به شماره قرارداد ۸۹۱٤٥ نگارش شده است. بدین وسیله نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که با حمایت مالی خود انجام این پژوهش را میسر ساختند، تشکر وقدردانی نمایند.

References :

1. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL. Hauser S, Longo DL, Jameson JL, et al J. Harrison's principles of internal medicine, 17th ed. New York: McGraw-Hill Inc; 2008: 1-22, 50-57.

2. Mirheydar H. Encyclopedia of Medical Plant: usage of plants in prevention and treatment of diseases. 5th ed. Tehran: Islamic Culture Press 2004: 1-5[Persian].

3. Zargari A. Medical Plant. 4th ed. Tehran: Tehran University Press 1997: 106-111[Persian].

5. Gharaibeh MN، Elayan HH, Salhab AS. Hypoglycemic effects of Teucrium polium. J Ethnopharmacol 1988; 24: 93-99.

6. Rasekh HR, Khoshnood-Mansourkhani MJ, Kamalinejad M. Hypolipidemic effects of Teucrium polium in rats. Fitoterapia 2001; 72: 937-939.

7. Tariq M, Ageel AM, Al-Yahya MA. Anti-inflamatory activity of Teucrium polium. Int J Tissue React 1989; 11(4): 185-188.

8. Couladis M, Tzakou O, Verykokidou E, Harvala C. Screening of some Greek aromatic plants for antioxidant activity. Phytother Res 2003; 17: 194-195.

9. Autore G, Capasoo F, De Fuso R, Fasulo MP, Lembo M, Mascolo N, et al. Anti-pyretic and antibacterial actions of Teucrium polium. Pharmacol Res 1984; 16: 21-29.

10. Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Roghani-Dehkordi F. Anti-nociceptive effects of Teucrium polium leaf extract in the diabetic rat formalin test. J Ethnopharmacol 2005; 97: 207-210.

11. Parsaee H, Shafiee-Nick R. Anti-spasmodic and Anti-nociceptive effects of Teucrium polium aqueous extract. Iran Biomed J 2006; 10 (3): 145-149.

12. Niazmand S, Hajzadeh M, Keshavarzi M. The effects of aqueous extract from Teucrium polium on rat gastric acid secretion in basal, vagatomized and vagal stimulated conditions. Journal of Babol University of Medical Sciences 2007; 9(13): 7-12[Persian].

13. Niazmand S, Hajzadeh M, Keshavarzi M. The effects of aqueous extract from Teucrium polium on rat gastric motility in basal and vagal stimulated conditions. Iranian J Basic Medical Sciences 2007; 10(1): 60-65[Persian].

14. Niazmand S, Erfanian Ahmadpoor M, Moosavian M, Derakhshan M. The positive inotropic and chronotropic effects of Teucrium polium L. extract on Guinea pig isolated heart. Pharmacology online 2008; 2: 588-594.

15. Niazmand S, Esparham M, Hassannia T, Derakhshan M. Cardiovascular effects of Teucrium polium L. extract in rabbit. Pharmacogn Mag 2011; 7(27): 240-260.

16. Fereidouni E, Niazmand S, Harandizadeh F, Hosseini SM, Mahmoudabadi M. Vasorelaxant effect of hydroalcoholic extract of Teucrium polium on isolated rat aorta. Journal of North Khorasan University of Medical Sciences 2012; 4(1): 35-43.

17. Wellman GC, Nelson MT. Signaling between SR and plasma lemma in smooth muscle: sparks and the activation of Ca^{+2} sensitive ion channels. Cell Calcium 2003; 34(3): 211-229.

18. Lohn M, Furstenau M, Sagach V, Elgar M, Schulze W, Luft FC, et al. Ignition of calcium sparks in arterial and cardiac muscle through caveolae. Circulation Research 2000; 87(11): 1034-1039.

19. Imtiaz MS, Katnik CP, Smith DW, Van Helden DF. Biophysical Journal 2006; 90(1): 1-23.

20. Thorneloe KS, Nelson MT. Ion channels in smooth muscle: regulators of intracellular calcium and contractility. Canadian Journal of Physiology & Pharmacology 2005; 83(3): 215-242.

21. 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. Pharmacol Japanese Journal of Pharmacology 1992; 58(1): 1-9.

22. Karaki H. Calcium regulation of smooth muscle contractility. Folia Pharmacol Japan 1990; 96(6): 289-299.

23. McCarron JG, Bradley KN, MacMillan D, Muir TC. Sarcolemma agonist induced interactions between IP3 and ryanodine receptors in Ca^{+2} oscillations and waves in smooth muscle. Biochemical Society Transactions 2003; 31(5): 920-924.

24. Ratz PH, Berg KM. 2-Aminoethoxydiphenyl borate inhibits KCl induced vascular smooth muscle contraction. European journal of Pharmacology 2006; 541(3): 177-183.

25. Hilgers RH, Webb RC. Molecular aspects of arterial smooth muscle contraction: focus on Rho. Exp Biol Med 2005; 230(11): 829-835.

26. Santos MRV, Moreira FV, Fraga BP, De Sousa DP, Bonjardim LR, Quintans-Junior LJ. Cardiovascular effects of monoterpenes: a review. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy 2011; 21(4): 764-771.

The effect of calcium blocker activity on vasorelaxant of Teucriumpolium extract on rat isolated aorta

Elahe Fereidouni* [1], Saeed Niazmand[2], Seyed Mahmoud Hosseini[2], Maryam Mahmodabadi[2]

1- Department of Anaesthetics, School of Paramedicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
2- Department of Physiology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

* Corresponding Author: School of Paramedicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.
E-mail: efereidouni2009@yahoo.com
Received : 2012/ September /8 Accepted : 2012/June/15

Abstract

Background: *Teucrium polium* (TP) is a herbaceous plant of the Lamiaceae family which has many pharmacological properties such as anti-diabetic, anti-inflammatory, anti-nociceptive effects. There are some reports indicating the cardiovascular effects of TP such ashypotensive responses and also positive inotropic and cronotropic effects. The aim of this study was to investigate the activity of calcium channels on vaso relaxant extract of TP on isolated rat aorta.

Methods: In this experimental study, 28 male Wistar rats randomlywere divided into 4 groups (n= 7). In groups 1 and 2, the effect of the extract (1, 2, 4 and 8 mg/ml) on contracted aorta by PE (10^{-6} M) in intact and denuded endothelium were investigated. In groups 3 and 4, the effect of the extract on contracted aorta by PE in the presence of Diltiazem (Dil), (10^{-5} M) and Heparin, (50 mg/ml) were investigated respectively.Statistical analysis was carried out by SPSS software version 13 and the results were analyzed by student's t-test and ANOVA.

Results: The extract significantly relaxed the contracted aorta by PE in both intact and denuded endothelium in concentration-dependent manner ($P<0.001$ ،P=0.002). All the extract concentrations (except 1, 2 mg/ml) significantly relaxed PE induced contraction in the presence of Dil (P<0.001). The extract concentrations (except 1, 2 mg/ml) significantly relaxed PE induced contraction in the presence of Heparin (P<0.001).

Conclusion: The extract of TP has the relaxation effect on vascular smooth muscle. It seems, the relaxation was mediated by inhibition of voltage-and receptor-dependent Ca^{+2}channels and may partly by inhibition the release of calcium from intracellular stores in vascular smooth muscle cells.

Key words: Teucrium Polium, Aorta, Endothelium, Calcium channels, Rat.