

اثر ضد انقباضی عصاره آبی- الکی برگ مو بر مجرای دفران جدا شده موش صحرائی

دکتر محمد کاظم غریب ناصری*؛ گلاره وکیل زاده**

چکیده:

سابقه و هدف: تاکنون گزارش‌هایی در باره اثر آنتی اکسیدانی، کاهش فشار خون و اثراتساعی عروقی عصاره دانه انگور و پوست میوه آن ارائه شده است. تأثیرات شل کننده برگ انگور در انقباض ایلئوم، رحم و آئورت موش صحرائی و تأثیرات کاهنده نیروی انقباضی و ضربان قلب قورباغه نیز گزارش شده است؛ لذا در این تحقیق اثر عصاره آبی- الکی برگ مو (*Vitis vinifera*) بر فعالیت انقباضی مجرای دفران موش صحرائی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: مجرای دفران از موش‌های صحرائی بالغ نر (*Sprague Dalwey*) جدا گردید و در حمام بافت حاوی محلول تایرود (pH=7/4 و 30°C) قرار داده شد و حباب‌های هوا به حمام دمیده می‌شد و انقباضات آن تحت 1 گرم کشش اولیه به روش ایزومتریک اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: عصاره آبی- الکی برگ مو (1، 2، 4 و 8 mg/ml) انقباض ناشی از کلروریتاسیم (80mM) را در مجرای دفران به صورت وابسته به غلظت کاهش داد ($P < 0/0001$). انقباض ناشی از آدرنالین (2 g/ml) نیز توسط عصاره (1، 2 و 4 mg/ml) در این بافت به صورت وابسته به غلظت کاهش یافت ($P < 0/0001$). در محلول تایرود فاقد کلسیم، انقباض نرمال ناشی از کلروریتاسیم (80mM) مشروط به اضافه کردن کلسیم (1/77mM) به محیط بود. در تکرار همین مرحله با حضور عصاره (3mg/ml) انقباض ناشی از کلسیم کاهش یافت ($P < 0/02$). حضور پروپرانولول (1?M) به مدت 5 دقیقه) و حضور L-NAME (300?M) به مدت 10 دقیقه) اثری بر عملکرد مهاری عصاره نداشت.

بحث: از اساس نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که اثر ضد انقباضی عصاره آبی- الکی برگ مو بر مجرای دفران موش صحرائی عمدتاً ناشی از انسداد کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ بوده است و رسپتورهای بتا آدرنرژیک و NO در این عملکرد مهاری دخالتی ندارند. همچنین عملکرد مهاری عصاره نیازمند به حضور کلسیم در مایع خارج سلولی است.

کلیدواژه‌ها: برگ مو (*Vitis vinifera*)، مجرای دفران، موش صحرائی، کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ.

«دریافت: 1383/4/17 پذیرش: بهار 1384»

* دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز.

** دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز.

*عهده‌دار مکاتبات: اهواز، دانشگاه علوم پزشکی اهواز، دانشکده پزشکی، صندوق پستی 189، کد پستی 61335، تلفن: 0611-3330074.

نمبر: 0611-3332036، پست الکترونیک: gharibnaseri_m@yahoo.com

مقدمه:

انگور (*Vitis vinifera*) گیاهی است از خانواده Vitaceae که منشأ آنرا آسیای صغیر می‌دانند (1). 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 تأثیرات ضد اسهال، ضد استفراغ و ضد واریس برگ مو اشاره شده است (2). از جمله ترکیبات مهم شناخته شده در انگور، فلاونوئیدها (مانند آنتوسیانیدین‌ها) از گروه پلی فنل‌ها می‌باشند (1). عصاره دانه انگور سبب کاهش غلظت لیپیدهای خون خرگوش‌های مبتلا به هیپرلیپیدمیا شده است (3). با وجود این، مصرف طولانی مدت این عصاره اثر سمی ندارد (4). اخیراً نشان داده شده که پروسیانیدین‌ها (از انواع دیگر پلی فنل‌ها) موجود در دانه انگور سبب شل شدن وابسته به اندوتلیال در شریان جدا شده انسان گردیده (5) و گزارش شده است که این اثر از طریق NO و با افزایش cGMP انجام شده (6 و 7) و احتمال داده شده است که پروسیانیدین‌ها از طریق باز کردن کانال‌های پتاسیمی حساس به تترائیل آمونیوم موجب این عمل می‌شوند (7). تأثیرات حفاظتی پروسیانیدین‌های دانه انگور در برابر کاتاراکت (8)، سرطان پستان و کولون (9) و نیز اثر افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی پلاسما (10) ذکر شده‌اند. تأثیرات مهاری عصاره آبی - الکلی برگ مو در انقباضات ایلتوم ناشی از کلرورپتاسیم و استیل کولین (11) و انقباضات ناشی از اکسی توسین در رحم در موش صحرایی (12) و اثر مهاری بر نیروی انقباضی و ضربان قلب جدا شده قورباغه (13)

نیز گزارش شده است، ولی اثر عصاره بر قلب ناشی از عملکرد کولینرژیک عصاره نبوده است. با توجه به تأثیرات ضد انقباضی عصاره برگ مو بر آنورت (14) و رحم جدا شده موش صحرایی و به منظور افزایش اطلاعات اثرهای فارماکولوژیکی برگ مو، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیرات عصاره آبی - الکلی برگ مو در یکی از عضلات صاف دستگاه جنسی موش صحرایی نر (مجرای دفران) طراحی گردید.

مواد و روش‌ها :**● روش تهیه عصاره:**

برگ‌های انگور در فروردین ماه پس از خشک کردن در سایه، آسیاب شد و به صورت پودر ریز درآمد. پودر برگ به مدت 72 ساعت در الکل 70 درصد خیسانده شد (15) و هر روز در چند نوبت مخلوط به هم زده شد. سپس، مخلوط از کاغذ صافی واتمن شماره 1 عبور داده و حلال عصاره در دمای اتاق تبخیر شد. پودر عصاره تا زمان استفاده در دمای 4°C نگهداری گردید. نسبت استخراج عصاره از پودر برگ مو 19 درصد بود.

● حیوانات و آماده سازی مجرای دفران:

موش‌های صحرایی نر از نژاد Sprague Dalwey (9/6 ± 188/9 گرم) از اتاق حیوانات دانشکده پزشکی اهواز تهیه و در دمای 20 تا 24 درجه سانتی‌گراد و سیکل روشنایی - تاریکی 12 ساعته نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. موش‌ها با تزریق کتامین (50 mg/kg ip) بیهوش شدند، شکم باز شد و از مجاری دفران از سمت

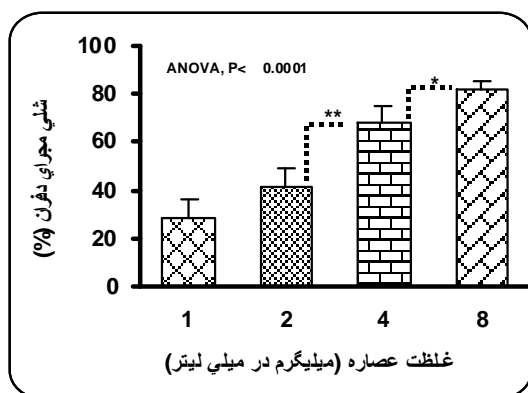
در حمام ایجاد شد و سپس کلرورپتاسیم با غلظت قبلی اضافه شد. در مراحل بعد نیز به همین ترتیب از غلظت‌های بیشتر عصاره (2، 4 و 8 میلی‌گرم در میلی‌لیتر) استفاده شد. قبل از استفاده از هر غلظت عصاره، یک مرحله کنترل با کلرورپتاسیم به تنهایی استفاده شد تا قابلیت انقباضی بافت ارزیابی شود. تفاوت بین پاسخ‌های انقباضی به کلرورپتاسیم در غیاب و در حضور عصاره به‌عنوان میزان مهار انقباض توسط عصاره تعیین گردید. در آزمایش‌های دیگر، برای انقباض مجرای دفران از آدرنالین (g/ml) (2) استفاده شد و غلظت‌های مختلف عصاره (1، 2 و 4 میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در حالتی که انقباض ناشی از آدرنالین به مرحله کفه رسیده به حمام بافت اضافه شد. جهت بررسی نقش نیتریک اکساید (NO) بر عملکرد عصاره، ابتدا شلی ناشی از غلظت $3 mg/ml$ عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم ($80 mM$) ثبت گردید و همین مراحل پس از 10 دقیقه حضور مهارکننده نیتریک اکساید سنتاز (L-NAME) با غلظت $300 \mu M$ (18) تکرار شد. به منظور بررسی خاصیت آدرنرژیکی عصاره، ابتدا اثر غلظت mg/ml 3 عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم ثبت شد و پس از شستشو و استراحت بافت، در حضور پروپرانولول ($3 \mu M$) به مدت 5 دقیقه) مشابه مرحله قبل، از کلرورپتاسیم و عصاره استفاده شد. در پایان آزمایش‌ها، مجرای دفران پس از جذب آب اضافی به دقت توزین می‌شد. بعد از به‌کاربردن هر غلظت عصاره و ثبت نتایج آن، محلول حمام بافت سه بار تعویض می‌گردید و حداقل 10 تا 15 دقیقه به بافت فرصت داده می‌شد. در هر صورت شروع مرحله بعدی

پروستات، قطعاتی به طول حدود 15 mm جدا شد و بلافاصله در محلول سرد و اکسیژنه تایرود بافت‌های پیوندی آن با دقت جدا گردید و فوراً به درون حمام بافت (10ml) و بین دو قلاب از جنس استیل زنگ‌نزن قرار داده شد که یکی به‌طور ثابت در ته حمام بافت قرار داشت و دیگری از طریق نخ به ترانسدیوسر ایزومتریک (UF1 Harvard Transducer) متصل بود. پاسخ انقباضی به‌وسیله دستگاه ثبت (Universal Harvard Osillograph) در روی کاغذ با سرعت $0/1 mm/s$ ثبت گردید. محلول تایرود حمام $30^\circ C$ و pH برابر $7/4$ داشت و ترکیب آن (برحسب mM) به قرار زیر بود (16): NaCl (136)، $(5/6) KCl$ ، $(1/77) CaCl_2$ ، $(3/6) NaH_2PO_4$ ، $(5/5) NaHCO_3$ و گلوکز (5/5). جریان دایم حباب‌های کوچک هوا از ته حمام برقرار بود. میزان کشش اولیه 1 گرم و مدت دوره سازگاری 30 دقیقه بود (16) که طی این مدت هر 10 دقیقه محلول حمام تعویض می‌گردید. در این تجربه از دمای $30^\circ C$ استفاده شد؛ زیرا در دمای کمتر از $37^\circ C$ انقباضات خودبه‌خودی مجرای دفران کاهش می‌یابد (17) و لذا تأثیرات منقبض‌کننده با انقباضات خودبه‌خودی آن مخلوط نمی‌شود.

● روش کار:

ابتدا، طی دو مرحله جداگانه پاسخ انقباضی مجرای دفران به کلرورپتاسیم ثبت شد تا از تکرارپذیری بودن پاسخ انقباضی بافت اطمینان حاصل شود. پس از سه بار تعویض محلول حمام با تایرود تازه و حداقل 10 دقیقه استراحت و یا برگشت تون بافت به حالت پایه، غلظت نهایی $1 mg/ml$ عصاره به مدت 3 دقیقه

حداقل 10 دقیقه بود. مقایسه نیروی انقباضی (بر حسب گرم به ازای 100 میلی گرم بافت) ناشی از چهار بار استفاده از کلروپتاسیم قبل از به کار بردن غلظت‌های مختلف عصاره (به ترتیب $8/71 \pm 1/5$ ، $8/92 \pm 1/58$ ، $9/23 \pm 1/6$ و $8/76 \pm 1/8$) نشان داد که این انقباضات اختلاف معناداری باهم ندارند (مقدار P بین 0/41 تا 0/49): بنابراین می‌توان گفت که اثر مهاری عصاره، برگشت پذیر می‌باشد و لذا با شستشو و تعویض محلول حمام بافت این اثر مهاری برطرف می‌گردد. همچنین، تأثیرات مهاری مشاهده شده نتیجه خستگی بافت ناشی از انقباضات مکرر بافت نبوده است. در نمودار 1 مقایسه آماری (t-test) بین اثر غلظت‌های مختلف عصاره نشان داده شده است.



نمودار 1- مقایسه درصد اثر مهاری غلظت‌های مختلف عصاره آبی - الکی برگ مو بر انقباض ناشی از کلروپتاسیم در مجرای دفران موش صحرایی ($n = 7$). رابطه بین غلظت و پاسخ مهاری عصاره (ANOVA یک طرفه) با مقدار P کمتر از 0/0001 معنادار می‌باشد. مقایسه آماری (t-test) اثر غلظت‌های 2 و 4 میلی گرم در میلی لیتر با P کمتر از 0/01 (***) و غلظت‌های 4 و 8 میلی گرم در میلی لیتر با P کمتر از 0/05 (*) اختلاف معنادار را نشان می‌دهند.

مشروط به بازگشت تون اولیه بافت بود. در هر گروه، نیروی انقباضی (گرم به ازای 100mg بافت) و یا درصد تغییرات نیروی انقباضی به صورت $\text{mean} \pm \text{SEM}$ محاسبه شدند. برای محاسبه تغییرات نیروی انقباضی بافت، ارتفاع حداکثر انقباض ناشی از محرک به تنهایی با حداکثر ارتفاع انقباض ناشی از محرک در حضور عصاره به صورت درصد تغییرات بیان گردید. به منظور مقایسه آماری اثر غلظت‌های مختلف عصاره از آزمون ANOVA یک طرفه و برای مقایسه دو میانگین از آزمون آماری تی استفاده شد و چنانچه مقادیر P کوچک‌تر از 0/05 بود، تفاوت قابل ملاحظه تلقی گردید. کلیه نمک‌ها محصول شرکت مرک (آلمان) بود. پروپرانولول و L-NAME از شرکت سیگما (امریکا) و آدرنالین از شرکت داروپخش تهیه شدند. حلال عصاره و کلیه مواد، محلول تایرود بود.

یافته‌ها :

● اثر عصاره بر انقباض مجرای دفران ناشی از کلروپتاسیم:

کلروپتاسیم با غلظت 80 mM (19) سبب انقباض مجرای دفران گردید و سه دقیقه حضور اولیه عصاره برگ مو (1، 2، 4 و 8 میلی گرم در میلی لیتر) به صورت وابسته به غلظت، انقباض ناشی از کلروپتاسیم را کاهش داد (تعداد = 7 و $P < 0/0001$). در نمودار 1 نتایج این مرحله از تحقیق و در نمودار 6A نمونه‌ای از ثبت حقیقی تأثیر بعضی از غلظت‌های عصاره بر انقباض ناشی از کلروپتاسیم در مجرای دفران مشاهده می‌شوند. فاصله زمانی بین تکرار پروتکل‌ها

مقایسه آماری اثر غلظت‌های مختلف نشان داده شده است و نمودار 6B، نمونه ثبت حقیقی از تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره را در این مرحله نشان می‌دهد.

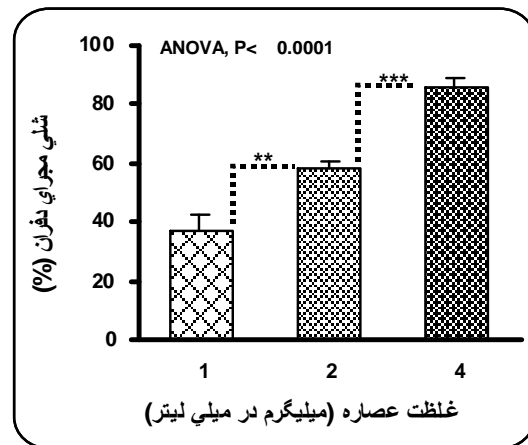
● اثر حذف کلسیم بر تأثیر انقباضی کلروپتاسیم و عملکرد مهارى عصاره: اضافه کردن کلروپتاسیم (80mM) به حمام بافت حاوی محلول تایرود فاقد کلسیم سبب انقباض ضعیفی در مجرای دفران گردید، ولی اضافه کردن کلروپتاسیم با غلظت نرمال در محلول تایرود (1/77mM) سبب انقباض قوی بافت گردید (تعداد =8 و $P<0/001$). در تکرار این مرحله، قبل از افزودن کلروپتاسیم از غلظت نهایی 3mg/ml عصاره به مدت 3 دقیقه استفاده شد. اضافه کردن کلروپتاسیم در این مرحله اگرچه سبب انقباض مجرای دفران گردید ($P<0/001$)، ولی این پاسخ کمتر از پاسخ انقباضی بافت بدون حضور عصاره بود ($P<0/02$). در نمودار 3 نتایج این مرحله و در نمودار C 6 نمونه ثبت حقیقی این مرحله نشان داده شده است.

● تأثیر مهار سنتز اکسید نیتریک بر شلی ناشی از عصاره:

به منظور تعیین دخالت NO بر عملکرد مهارى عصاره، ابتدا مجرای دفران به وسیله کلروپتاسیم (80 mM) منقبض گردید و سپس عصاره (3 mg/ml) به حمام اضافه شد و شلی ناشی از عصاره ثبت گردید. در مرحله بعد ابتدا L-NAME با غلظت 300 μM (18) به حمام اضافه شد و پس از 10 دقیقه کلروپتاسیم و عصاره با همان غلظت قبلی اضافه گردید. همان طوری که در نمودار 4 و ثبت

● اثر عصاره بر انقباض مجرای دفران ناشی از آدرنالین:

ابتدا طی دو مرحله جداگانه، از تکرار پذیر بودن پاسخ انقباضی مجرای دفران به آدرنالین (2 ?g/ml) اطمینان حاصل شد. پس از تعویض محلول حمام و برگشت تون اولیه بافت، آدرنالین با غلظت 2 ?g/ml (20) در حمام بافت ایجاد شد که موجب انقباض مجرای دفران گردید. در حالت کفه انقباض، طی مراحل جداگانه (غیرتجمعی) عصاره با غلظت‌های مختلف (1، 2 و 4 میلی گرم در میلی لیتر) به حمام بافت اضافه شد که به صورت وابسته به غلظت سبب کاهش انقباض ناشی از آدرنالین گردید (تعداد=7 و $P<0/0001$). در نمودار 2 نتایج این مرحله و نیز

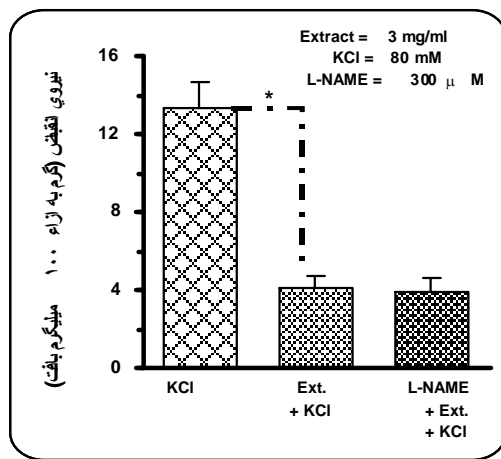


نمودار 2- مقایسه درصد اثر مهارى غلظت‌های مختلف عصاره آبی - الکلی برگ مو بر انقباض ناشی از آدرنالین در مجرای دفران موش صحرائی (n = 7). رابطه بین غلظت و پاسخ مهارى عصاره (ANOVA یک طرفه) با مقدار P کمتر از 0/0001 معنادار می‌باشد. مقایسه آماری (t-test) اثر غلظت‌های 1 و 2 میلی گرم در میلی لیتر ($P<0/01$ **) و غلظت‌های 4 و 8 میلی گرم در میلی لیتر ($P<0/0001$ ***) اختلاف معنادار را نشان می‌دهند.

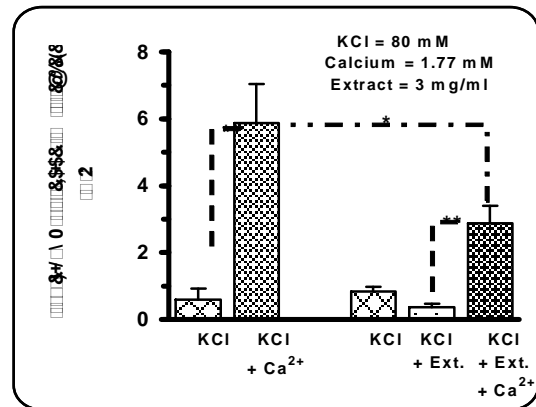
حقیقی 6 D مشاهده می‌شود، حضور L-NAME تأثیری در پاسخ انقباضی مجرای دفران و عملکرد مهاری عصاره نداشته است (تعداد=7).

● تأثیر مهار رسپتورهای بتا آدرنژیک در عملکرد مهاری عصاره:

بلوکرهای آدرنژیک سبب شلی مجرای دفران می‌گردند، لذا به منظور بررسی وجود خاصیت آنتاگونیستی عصاره، پس از ثبت اثر انقباضی ناشی از کلروپتاسیم (80 mM) و شلی ناشی از غلظت 3 mg/ml عصاره و شستشو و استراحت بافت، ابتدا در حمام بافت غلظت 3 μM پروپرانولول (به مدت 5 دقیقه) ایجاد و مجدداً مرحله قبل تکرار شد (21). نمودار 5 و نمونه ثبت حقیقی E 6 نشان می‌دهند که

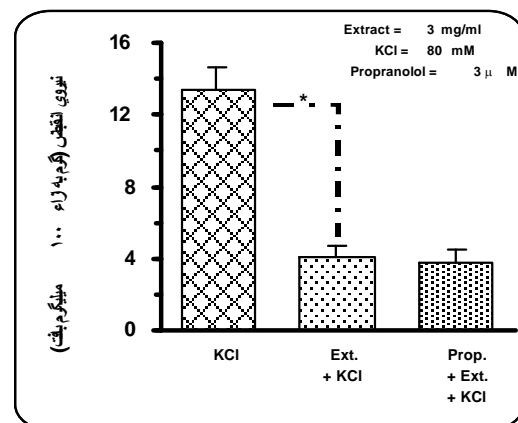


نمودار 5- اثر مهاری عصاره آبی - الکلی برگ مو بر نیروی انقباضی ناشی از کلروپتاسیم در غیاب و در حضور L-NAME (مهارکننده آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز) در مجرای دفران موش صحرائی (n = 8). مقایسه آماری (t-test) بین اثر کلروپتاسیم در غیاب و در حضور عصاره معنادار می‌باشد (P<0/001)*، ولی حضور L-NAME تأثیری در عملکرد مهاری عصاره نداشته است.

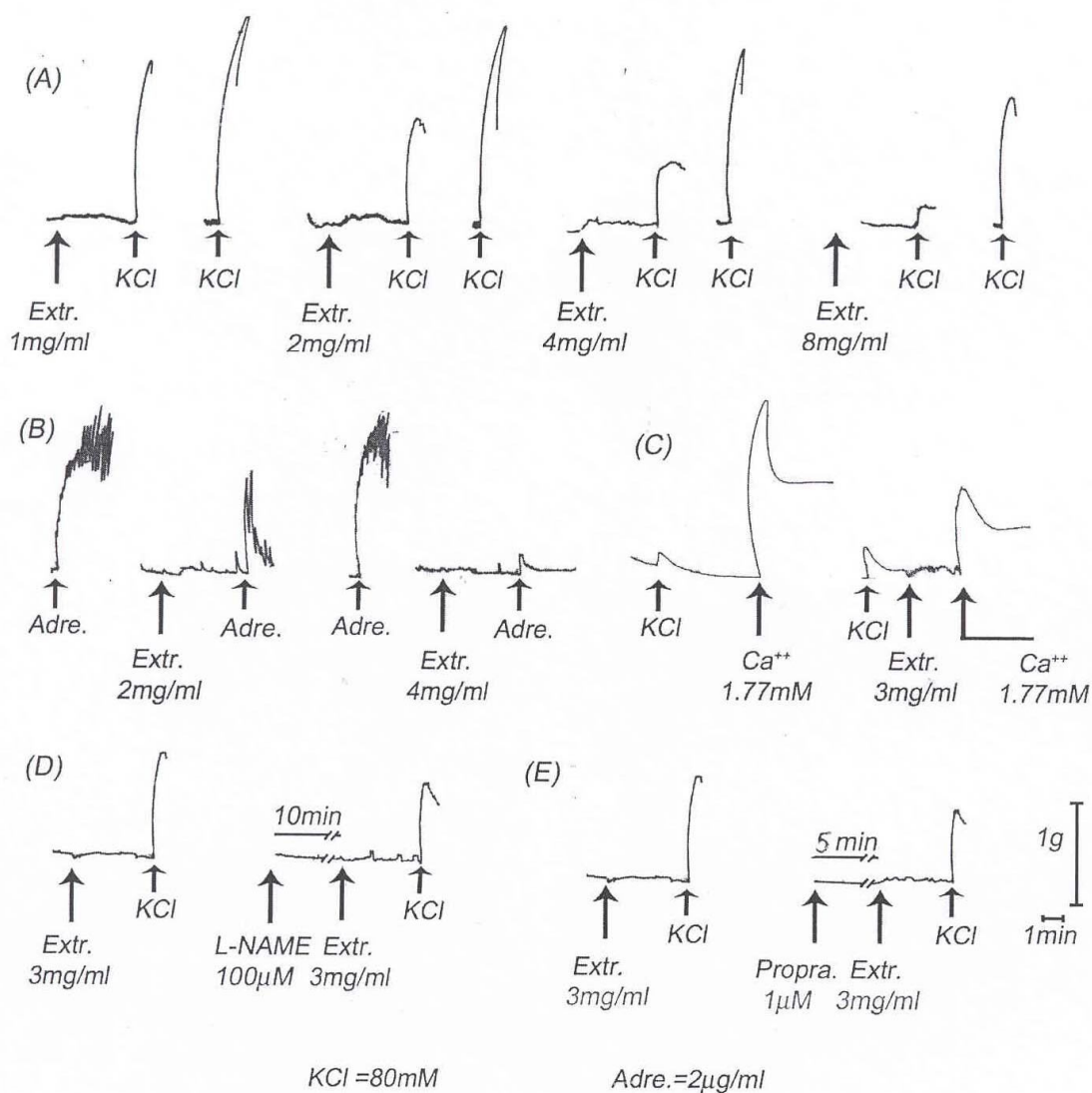


نمودار 3- اثر حضور عصاره آبی - الکلی برگ مو بر عملکرد انقباضی کلسیم (1/77 mM) پس از دیپولاریزاسیون ناشی از کلروپتاسیم (n = 7). اضافه کردن کلسیم بدون حضور عصاره موجب انقباض قابل توجهی گردیده، ولی در حضور عصاره انقباض ناشی از کلروپتاسیم کاهش قابل ملاحظه یافته است. مقایسه آماری (t-test) در نمودار نشان داده شده‌اند: P<0/02

* و ** P<0/001



نمودار 4- اثر مهاری عصاره آبی - الکلی برگ مو بر نیروی انقباضی ناشی از کلروپتاسیم در غیاب و در حضور پروپرانولول (n = 8) در مجرای دفران موش صحرائی. مشاهده می‌شود که پروپرانولول تأثیری در عملکرد مهاری عصاره نداشته است. مقایسه آماری (t-test) بین اثر کلروپتاسیم در غیاب و در حضور عصاره معنادار می‌باشد (P<0/001)*.



نمودار 6 - نمونه‌های ثبت حقیقی از مراحل مختلف این تحقیق از (A) تا (E) نشان داده شده‌اند.

وابسته به غلظت کاهش داد. نقش افزایش پتاسیم خارج سلولی در بروز دیپولاریزاسیون سلول‌های عضلانی صاف و بازکردن کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ مشخص گردیده است (22 و 23) و موادی که بتوانند انقباض ناشی از کلروپتاسیم را مهار کنند، به‌عنوان مسدودکننده کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ معرفی می‌گردند (24). همچنین وجود کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ نوع L در مجرای دفران موش

حضور پروپرانولول (آنتاگونیست بتا-آدرنوسپتور) تأثیری در انقباض ناشی از کلروپتاسیم و عملکرد مهاری عصاره ندارد (تعداد = 7).

بحث :

در تجربه حاضر، عصاره آبی-الکلی برگ مو انقباض ناشی از کلروپتاسیم و آدرنالین را در مجرای دفران جداشده موش صحرائی به‌صورت

اضافه نمودن کلسیم گردد که البته مشابه عملکرد تقریبی غلظت 3mg/ml بوده و انقباض ناشی از حضور توأم کلسیم و کلرور پتاسیم را حدود 50 درصد کاهش داده است. گزارش شده است که همین عصاره نیروی انقباضی و ضربان قلب پرفیوز شده قورباغه را نیز کاهش داده، ولی آتروپین به رغم کاهش اثر استیل کولین بر قلب قادر به کاهش عملکرد مهاری عصاره بر قلب نبوده است؛ لذا به نظر نمی رسد که عصاره حاوی مواد آنتی کولینرژیک باشد (13). از سوی دیگر، عصاره برگ مو اثر تحریکی آدرنالین بر قلب پرفیوز شده قورباغه را کاهش داده (13) که خاصیت آنتاگونیستی آدرنرژیک در عصاره را پیشنهاد می کند، ولی با توجه به اینکه آگونیست های بتا- آدرنوسپتور سبب شلی مجرای دفران شده (30) و در تجربه حاضر پروپرانولول (آنتاگونیست غیرانتخابی بتا- رسپتور) تأثیری در عملکرد مهاری عصاره نداشته، لذا می توان نتیجه گرفت که بتا- آدرنوسپتورها در عملکرد مهاری عصاره دخالتی ندارند. انقباض ضعیف ناشی از آدرنالین در تایرود بدون کلسیم مشابه گزارش ارائه شده در مورد انقباض ناشی از نورآدرنالین در کریس بدون کلسیم می باشد (31). بنا به این گزارش، ظاهراً نورآدرنالین از طریق فعال کردن پروتئین کیناز C موجب رهایش کلسیم از منابع کلسیم داخل سلولی شده و لذا ممکن است همین مکانیسم نیز در مورد اثر مشاهده شده صادق باشد، اما حتی در این حالت نیز تصور نمی شود که عصاره مستقیماً و در درون عضله صاف تأثیر کرده باشد؛ زیرا در بخش نتایج اشاره شد که اثر مهاری عصاره با تعویض محلول حمام بر طرف

صحرائی گزارش شده است (16 و 23). اگرچه بخش های اپیدیدیمال، میانی و پروستاتیک مجرای دفران تا حدودی در انجام انقباض با هم مخلتلفند، ولی در این سه بخش، مکانیسم انقباض به TTX حساس نبوده و انقباضات آنها با افزایش کلسیم درون سلولی همراه است (25). با وجود این تشابه، در تجربه حاضر فقط از بخش پروستاتیک مجرای دفران استفاده شد. بنا به یک گزارش، انقباض ناشی از کلرورپتاسیم و نورآدرنالین با افزایش cGMP درون سلولی انجام می شود (26). از طرف دیگر آدرنالین به عنوان آگونیست غیرانتخابی رسپتورهای آدرنرژیک بوده (27)، ولی بر رسپتورهای β_2 اثر بیشتری دارد (28). گزارش شده است که تحریک رسپتورهای آدرنرژیک با افزایش رهایش کلسیم از منابع درون سلولی و افزایش اینوزیتول تری فسفات سبب انقباض مجرای دفران در موش صحرائی می گردد (29)؛ لذا به نظر می رسد عصاره برگ مو به طریقی از رهایش کلسیم از منابع درون سلولی جلوگیری کرده باشد. از طرف دیگر، نتایج حاصل از تأثیر عصاره در انقباض ناشی از کلرورپتاسیم و در قسمت محلول تایرود فاقد کلسیم نیز کاهش عملکرد کلسیم اضافه شده، احتمال عملکرد عصاره را از طریق انسداد کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ مطرح می سازد. این نتایج با گزارش اثر مهاری همین عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم و استیل کولین در ایلنوم (11) و انقباض کلرورپتاسیم و اکسی توسین در رحم (12) موش صحرائی سازگاری دارد، اما در نمودار 3 دیده می شود که حضور عصاره نتوانسته است مانع از انقباض ناشی از

غشای سلولها بوده است. در عین حال، عدم دخالت نیتریک اکساید و نیز رسپتورهای بتا - آدرنرژیک روشن گردید. برای روشن ترشدن مکانیسم اثر می توان پیشنهاد نمود که از آنتاگونیست های دیگر استفاده گردد و نیز با روش های ویژه مواد مؤثره این عصاره استخراج و تأثیر آنها در عضله صاف دفران بررسی گردد. اگرچه نتایج حاصل از این تحقیق مؤثر بودن عصاره برگ مو را بر اسپاسم مجرای دفران نشان داد، ولی تأثیر این عصاره در عملکرد فیزیولوژیک مجرای دفران در انتقال اسپرم و مؤثر بودن آن بر فعالیت جنسی موش نر قابل بررسی می باشد.

تشکر و قدردانی :

هزینه اجرای این پژوهش از سوی حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تأمین گردیده است و لذا، نویسندگان از مسئولان ذریبط صمیمانه تشکر می نمایند.

می شد. گزارش شده است که عصاره آبی - الکلی برگ مو انقباض ناشی از فنیل افرین و کلروپتاسیم را در آنورت موش صحرایی کاهش داده (14) و این اثر توسط L-NAME کاهش یافته است؛ لذا افزایش رهایش NO ناشی از عملکرد فلاوونوئیدهای برگ مو (32) را موجب این اثر مهاری می دانند در تجربه حاضر، عدم تأثیر L-NAME نشان دهنده عدم دخالت NO در عملکرد ضدانقباضی عصاره در مورد عضله صاف مجرای دفران می باشد؛ لذا به نظر می رسد که مسیر اصلی عملکرد مهاری عصاره حاضر احتمالاً، انسداد کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ بوده و بخش دیگری از عملکرد عصاره نتیجه جلوگیری از رهایش کلسیم از منابع درون سلولی باشد. پاسخ های سریع مهاری، حذف تأثیر مهاری عصاره با خارج کردن آن از حمام بافت و برگشت تحریک پذیری بافت به کلروپتاسیم و آدرنالین نشان می دهد که عملکرد عصاره احتمالاً از سطح خارج

References:

- Bombardelli E, Morazzoni P. *Vitis Vinifera L. Fitoterapia* 1995; 66(4): 291-317.
- زرگری ع. گیاهان دارویی. جلد اول، انتشارات دانشگاه تهران، سال 1371، صفحات 362-365.
- Yu H, Zhao X, XU G, Wang SE. Effect of grape seed extracts on blood lipids in rabbits model with hyperlipidemia. *Wei Sheng Yan Jiu* 2002; 31(2): 114-116.
- Rays S, Bagchi D, Lim PM, Bagchi M, Gross SM, Kothari SC, et al. Acute and long-term safety evaluation of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2001; 109(3-4): 165-197.
- Aldini G, Carini M, Piccoli A, Rossoni G, 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(22): 2883-2898.

6. Fitzpatrick DF, Bing B, Maggi DA, Fleming RC, 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, Kim ND. Procyanidins in crataegus extract evoke endothelium-dependent vasorelaxation in rat aorta. *Life Sci* 2000; 67(2): 121-131.
 8. Yamakoshi J, Saito M, Kataoka S, Tokutake S. Procyanidin-rich extract from grape seeds prevents cataract formation in hereditary cataractous (ICR/f) rats. *J Agric Food Chem* 2002; 50(17): 4983-4988.
 9. Singletary KW, 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(2): 252-258.
 10. Koga T, Moro K, Nakamori K, Yamakoshi J, Hosoyama H, Kataoka S, 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(5): 1892-1897.
- ۱۱ - غریب ناصری م ک، نجفی اردکانی ذلیخا، اعتمادندا، اثر عصاره آبی الکلی برگ مو *Vitis vinifera* بر فعالیت مکانیکی ایلئوم موش صحرائی.
- مجله علمی پژوهشی شهید صدوقی یزد سال 12 دوازدهم شماره 3 پائیز 1383 صفحات 35-41.
- 12 - غریب ناصری م ک و احسانی پ. اثر عصاره آبی الکلی برگ مو (*Vitis vinifera* L.) بر رحم جداشده موش صحرائی باکره. مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی، جلد 7، شماره 2، 1382، صفحات 107-114.
- 13 - غریب ناصری م ک. اثر عصاره آبی الکلی برگ مو *Vitis vinifera* بر قلب پرفیوز شده قورباغه. مجله طبیب شرق، سال پنجم، شماره 4، 1382، صفحات 227-235.
- 14 - غریب ناصری م ک، نوید حمیدی م و حیدری ا اثر شل کننده عروقی عصاره برگ مو بر آنورت جداشده موش صحرائی. فصلنامه گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، سال سوم، شماره نهم، زمستان 1382، صفحات 43-54.
- 15 - صمصام شریعت ه. عصاره گیری مواد مؤثره گیاهان دارویی و روش های شناسایی و ارزشیابی آنها. انتشارات مانی، اصفهان 1371، صفحات 13-17.
16. Quintas LEM, Lafayette SSL, Caricati-Neto A, Jurkiewicz A, Noel F. Role of noradrenaline on the expression of the Na⁺/K⁺-ATPase α_2 isoform and the contractility of cultured rat vas deferens. *Biochemical Pharmacology* 2002; 64: 1431-1437.

17. Compos M, Lucena Morais P, Pupo AS. Effect of castration and of testosterone replacement on α_1 -adrenoceptors subtypes in the rat vas deferens. *European Journal of Pharmacology* 2003; 471: 149-155.
18. Capasso R, Mascolo N. Inhibitory effect of the plant flavonoid galangin on rat vas deferens in vitro. *Life Sciences* 2003; 72: 2993-3001.
19. Ribeiro RA, Garcez do Carmo L, Vladimirova I, Jurkiewicz NH, Jurkiewicz A. Nantenine blocks muscle contraction and Ca^{2+} transient induced by noradrenaline and K^+ in rat vas deferens. *European Journal of Pharmacology* 2003; 470: 37-43.
20. Basle R, Stuttgart H, Hugstetten H. Experiments on isolated smooth muscle preparations. English edition prepared by Burnden, HSE Biological measuring techniques 111/78, Linton instrumentation, Essex UK, 1980, 131.
21. Huang Y. BaCl₂- and 4 – aminopyridine – evoked phasic contractions in the rat vas deferens. *Br J Pharmacol* 1995; 115(5): 845-851.
22. Castillo CJ, Lafayette S, Caricati-Neto A, Sette M, Jurkiewicz NH, Gracia AG, et al. Low dihydropyridine receptor density in vasa deferentia of castrated rats. *Br J Pharmacol* 1992; 105(2): 257-258.
23. Burgos RA, Imilan M, Sanchez NS, Hancke JL. *Andrographis paniculata* (Nees) selectively blocks voltage-operated calcium channels in rat vas deferens. *Journal of Ethnopharmacology* 2000; 71:115-121.
24. Wang GJ, Wu XW, Lin YL, Ren J, Shum AYC, Wu YY, et al. Ca^{2+} channel blocking effect of iso-S-petasin in rat aortic smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol* 2002; 445: 239-245.
25. Kato K, Tsutsui I, Furuya K, Ozaki T, Yamagishi S. Regional differences in the contractile and intracellular Ca^{2+} responses of the guinea-pig vas deferens to neurotransmitters and excess K^+ . *Exp Physiol* 1995; 80(5): 721-733.
26. Schults G, Hardman JG. Regulation of cyclic GMP levels in the ductus deferens of the rat. *Adv Cyclic Nucleotide Res* 1975; 5: 339-351.
27. Laurence DR, Bennett PN. *Clinical pharmacology*. 6th edition, Churchill Livingstone, , Singapore: Longman Singapore Publishers; 1990, p.481.

28. Bray JJ, Cragg PA, Macknight ADC, Mills RG. Human physiology. 4th edition, USA: Blackwell Science; 1999, p.101-102.
29. Khoyi MA, Dalziel HH, Zhang L, Bjur RA, Gerthoffer WT, Buxton IL, Westfall DP. $[Ca^{2+}]_i$ -sensitive, IP3-independent Ca^{2+} influx in smooth muscle of rat vas deferens revealed by procaine. Br J Pharmacol 1993; 110(4): 1353-1358.
30. Diaz-Toledo A, Jurkiewicz A. Different mechanisms of action of agents acting on beta-adrenoceptors in barium-stimulated and electrically-stimulated rat vas deferens. Br J Pharmacol 1991; 104(1):277-283.
31. Haung Y, Pai RK, Lau CW, Chan FL, Chen ZY, Yao XQ. Modulatory effect of protein kinase C activator on contractility of rat vas deferens. Pharmacology 2001; 62(1): 2-9.
32. Diaz Lanza AM, Elias R, Maillard C, Faure R, de Sotto M, Balansard G. Flavonoids of 3 cultivars vine leaves, *Vitis vinifera* L. var. tinctoria (Alicante, Carignan, Garnd noir). Value in chemical control. Ann Pharm Fr 1989; 47(4): 229-234.