

اثر وابسته و غیر وابسته به اندوتلیوم مصرف خوراکی قره قاط سیاه بر خواص انقباضی آنورت سینه‌ای موش صحرایی دیابتی

مهرداد روغنی* (Ph.D)، مهدی شکوهی (M.D)

۱ - دانشگاه شاهد، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات گیاهان داروئی

چکیده

سابقه و هدف: بیماری دیابت شیرین با افزایش وقوع بیماری‌های قلبی-عروقی همراه می‌باشد. شواهدی دال بر اثر حفاظتی و ضد دیابتی گیاه قره قاط سیاه (*Vaccinium myrtillus*) وجود دارد، لذا در این تحقیق اثر مصرف خوراکی و وابسته و غیر وابسته به اندوتلیوم این گیاه به مدت ۶ هفته بر پاسخ انقباضی و رفع انقباضی آنورت سینه‌ای ایزوله در مدل تجربی دیابت در موش صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی نر به چهار گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با گیاه، دیابتی و دیابتی تحت درمان با گیاه تقسیم شدند. دو گروه تحت تیمار با گیاه نیز پودر برگ این گیاه مخلوط شده با غذای استاندارد موش را با نسبت وزنی ۵٪ دریافت نمودند. میزان وزن و گلوکز قبل از کار و در هفته‌های سوم و ششم پس از کار تعیین شد. در پایان، پاسخ انقباضی حلقه‌های آنورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم و فنیل‌افرین و رفع انقباضی به استیل‌کولین (با اندوتلیوم) و سدیم نیتروپروسید (بدون اندوتلیوم) با استفاده از بساط بافت ایزوله مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان گلوکز سرم در گروه دیابتی تحت تیمار به‌طور معنی‌دار کم‌تر از گروه دیابتی بود ($p=0/04$). بعلاوه، حداکثر پاسخ انقباضی آنورت سینه‌ای دارای اندوتلیوم در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه به کلرور پتاسیم و فنیل‌افرین به ترتیب به‌طور غیر معنی‌دار و معنی‌دار ($p=0/04$) کم‌تر از گروه دیابتی بود و با حذف اندوتلیوم این تفاوت کاهش یافت. بعلاوه، پاسخ شل‌شدگی حلقه‌های آنورتی دارای اندوتلیوم به استیل‌کولین در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده بیش‌تر و معنی‌دار بود ($p=0/02$).

نتیجه‌گیری: تجویز خوراکی و دراز مدت قره قاط سیاه از طریق تغییر دادن تولید و آزادسازی عوامل موثر بر عروق با منشا اندوتلیوم و با نیز با اعمال اثرات مستقیم بر عضله صاف عروقی موجب کاهش پاسخ انقباضی و افزایش پاسخ شل‌شدگی در بافت آنورت موش صحرایی دیابتی می‌گردد که این می‌تواند در جلوگیری از برخی عوارض عروقی دیابت در دراز مدت سودمند باشد.

واژه‌های کلیدی: قره قاط سیاه، دیابت شیرین، آنورت، خاصیت انقباضی، بافت ایزوله، موش صحرایی

مقدمه

دیابت شیرین از نظر بالینی یکی از مهم‌ترین عوامل خطر برای برخی عوارض نظیر نفروپاتی، رتینوپاتی، نوروپاتی، و بیماری‌های قلبی عروقی محسوب می‌شود که بر اساس پیش‌بینی به‌عمل آمده، شیوع آن در جامعه انسانی در آینده

افزایش خواهد یافت [۱]. کمبود و یا کاهش نسبی میزان انسولین در این بیماری با عوارض متابولیکی حاد و مزمن همراه می‌باشد [۲]. در بیماری دیابت شیرین عوامل مختلف شامل افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن به‌علت افزایش سطح گلوکز خون و تشدید پراکسیداسیون لیپیدی

[۷]. در این خصوص، گیاه قره‌قاپ یک گیاه دارویی با خواص ضد اسهال، جمع‌کننده رادیکال‌های آزاد، محافظ سلول در برابر آسیب‌های شیمیایی شامل سموم محیطی، کاهش دادن پراکسیداسیون لیپیدی، و محافظت کبد در برابر انواع استرس‌ها می‌باشد که علت اصلی آن سطح بالای مواد آنتی‌اکسیدانت در این گیاه می‌باشد. از طرف دیگر بر اساس منابع طب سنتی، دم کرده برگ و میوه برای بیماری قند و فشار خون بالا و تورم قولون و رفع اسهال مفید است. برگ آن نیز در دفع ناراحتی مخاطی مثانه و مجاری ادراری مفید است [۸-۱۲]. به‌علاوه، اضافه نمودن عصاره این گیاه به محیط کشت حاوی سلول‌های اندوتلیال انسانی به صورت وابسته به دوز موجب مهار آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین می‌گردد که از این طریق موجب جلوگیری و حفاظت در برابر بیماری‌های قلبی عروقی می‌گردد [۱۳]. ضمناً، اضافه نمودن عصاره این گیاه به صورت وابسته به دوز در حالت برون تن موجب بروز پاسخ شل‌شدگی وابسته به اندوتلیوم در شریان کورونری خوک می‌گردد. در این خصوص برای بروز اثرات گشاد کنندگی گیاه به حضور اندوتلیوم نیاز بوده و عصاره گیاه موجب حفاظت بافت عضله صاف رگی در برابر آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد و تجویز گیاه عملاً بر پاسخ عضله صاف به عوامل خارجی آزادکننده نیتریک اکسید نظیر سدیم نیتروپروسید تاثیری ندارد [۱۴]. از طرف دیگر، اثر کاهش‌دهندگی گلوکز یک ترکیب گیاهی حاوی قره قاط سیاه در مدل تجربی دیابت القا شده بر اثر آلوکسان مورد تأیید قرار گرفته است [۱۵] و جدیداً اثر ضد دیابتی مصرف خوراکی آن در مدل تجربی دیابت القا شده بر اثر استریتوزوتوسین گزارش شده است [۱۶]. هم‌چنین تجویز مواد موثره گیاه در گروه روتین‌ها از شدت مشکلات عروقی مسئول بروز رتینوپاتی دیابت القا شده بر اثر استریتوزوتوسین در موش صحرایی می‌کاهد [۱۷]. در ضمن، عصاره هیدروالکلی برگ این گیاه دارای خواص پائین‌آوردگی سطح چربی‌های خون در مدل تجربی دیس‌لیپیدمی در موش صحرایی بوده و از بروز ترومبوز عروقی جلوگیری می‌نماید [۱۸]. با در نظر گرفتن این موضوع

موجب افزایش بروز آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی-عروقی می‌گردد. در همین ارتباط نتایج تحقیقات قلبی نشان می‌دهد که پاسخ انقباضی برخی نواحی عروقی شامل آنورت سینه‌ای به نورآدرنالین و کلرور پتاسیم در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استریتوزوتوسین به طور معنی‌داری نسبت به حیوانات سالم افزایش می‌یابد [۳] که در این افزایش پاسخ انقباضی عروق عوامل گوناگون از جمله تشدید تولید اندوتلین به عنوان یک منقبض‌کننده قوی عضلات صاف عروق، افزایش سنتز و ترشح برخی از پروستاگلاندین‌های تنگ‌کننده عروقی، افزایش غلظت داخل سلولی دی‌آسیل‌گلیسرول و افزایش متعاقب کلسیم داخل سلولی به عنوان عامل محرک انقباض در عضله صاف عروقی، و کاهش توانائی تولید فاکتورهای گشادکننده عروقی با منشأ اندوتلیال نظیر نیتریک اکسید می‌تواند مطرح باشد [۳]. هم‌چنین پاسخ اتساعی سیستم عروقی دارای آندوتلیوم شامل آنورت در موش‌های صحرایی دیابتی به استیل‌کولین به طور محسوس کم‌تر از موش‌های صحرایی سالم می‌باشد [۳،۴]. هدف اصلی که از روش‌های درمانی دیابت شیرین تعقیب می‌شود برقراری میزان طبیعی قند خون و جلوگیری و یا به تعویق انداختن ظهور عوارض آن می‌باشد. با توجه به افزایش دانش بشری در مورد تنوع این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات مؤثر با حداقل عوارض جانبی در درمان دیابت و اختلالات ناشی از آن شدیداً احساس می‌گردد [۵]. از دیر باز گیاهان داروئی به علت سهولت دسترسی و در بیشتر موارد دارای عوارض جانبی بسیار کم‌تر از جایگاه ویژه‌ای در علم پزشکی برای درمان بیماری‌های رایج بشری به‌ویژه آن دسته از امراض با ماهیت متابولیک نظیر دیابت شیرین برخوردار بوده‌اند [۶]. هم‌چنین، در طی سالیان اخیر هدف بسیاری از تحقیقات، بررسی اثر بخشی مواد طبیعی با خاصیت هیپوگلیسمیک بر روی عوارض بافتی و ارگانیک ناشی از دیابت بوده است [۶]. با توجه به افزایش دانش بشری در مورد هتروژنیته این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات مؤثر با عوارض جانبی کم‌تر در جلوگیری از یا درمان دیابت یا مشکلات ناشی از آن شدیداً احساس می‌گردد

که دیابت قندی در موش در دراز مدت (پس از گذشت حداقل ۱ ماه) با یک سری اختلالات عملکردی عروق همراه می‌باشد [۱۹] در بررسی حاضر اثر وابسته به اندوتلیوم مصرف خوراکی و مزمن این گیاه بر پاسخ انقباضی و شل‌شدگی آئورت سینه‌ای موش صحرایی دیابتی نر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۳۲ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی ۳۱۵-۲۵۵ گرم استفاده شد. تمام حیوان‌ها در دمای ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان‌ها آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) و یا غذای مخلوط شده با پودر برگ قره قاط سیاه (گونه واکسینیوم مرتیلوس تهیه شده از دشت مغان و تأیید علمی و سیستماتیک توسط گروه بذر و نباتات دانشکده کشاورزی کرج) به نسبت ۵٪ [۱۶،۲۰] به مدت ۶ هفته دسترسی داشتند. برای تهیه غذا، پودر به‌دست آمده از آسیاب نمودن گیاه با غذای پودر شده و استاندارد موش مخلوط و مجدداً غذای حیوان تولید گردید.

در این بررسی از آن دسته موش‌های صحرایی نر استفاده شد که در شرایط طبیعی بدون برقراری حالت روزه‌داری، میزان گلوکز سرم آن‌ها کم‌تر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. در این خصوص از شبکه رترواوربیتال و لوله موئینه برای خون‌گیری استفاده شد. موش‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با گیاه و دیابتی، دیابتی تحت تیمار با گیاه تقسیم شدند. برای دیابتی نمودن موش‌ها از داروی استریتوزوسین (آپجون فارماشیا، آمریکا) به صورت تک دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. یک هفته پس از تزریق، برای اطمینان از دیابتی بودن حیوانات، قند ادرار به روش نوار ادراری (شرکت گلوک‌یاب، تهران) کنترل شد و فقط حیوانات دیابتی شده به مرحله بعدی برای شروع

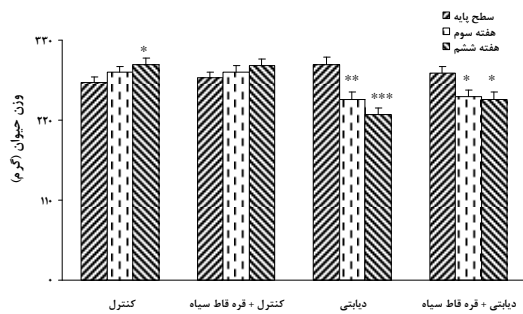
تیمار راه یافتند. میزان وزن حیوانات و گلوکز سرم (روش آنزیمی گلوکز اکسیداز- شرکت زیست‌شیمی، تهران) قبل از انجام کار و در طی هفته‌های ۳ و ۶ پس از بررسی اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری خواص انقباضی و شل‌شدگی آئورت سینه‌ای. در پایان کار، موش‌ها با استفاده از اتر بی‌هوش شده، با باز کردن قفسه سینه آئورت سینه‌ای را جدا کرده و در داخل محلول کربس سرد (که به‌طور مداوم به‌داخل آن گاز کربون دمیید می‌گردید) قرار داده شد. مواد شیمیایی محلول کربس (تهیه شده از شرکت مرک آلمان) مورد استفاده در تمام آزمایش‌ها به قرار زیر بود (بر حسب میلی‌مولار):

NaCl:۱۱۸/۵, KCl:۴/۷۴, CaCl₂:۵/۲, MgSO₄:۱/۱۸, NaHCO₃:۲۴/۹, KH₂PO₄:۱/۱۸, Glucose:۱۰

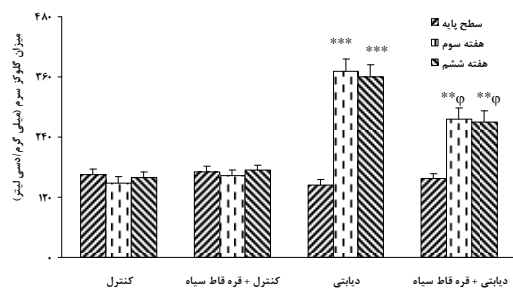
در داخل محلول کربس سرد (به منظور کاهش دادن متابولیسم بافت و کاهش مرگ و میر سلولی)، آئورت به دقت از بافت پیوندی اطراف پاک شده، سپس به حلقه‌هایی به طول حدوداً ۴ (۳-۵) میلی‌متر تقسیم گردید. برای حصول اطمینان از سلامت آندوتلیوم، پس از ایجاد انقباض با غلظت ۶-۱۰ مولار فنیل‌افرین (داروپخش، تهران)، استیل‌کولین (سیگما، آمریکا) با غلظت ۵-۱۰ مولار به حمام بافت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد اضافه شد. مشاهده پاسخ شل‌شدگی بیش‌تر از ۳۰-۴۰٪ در حلقه‌های آئورت به‌عنوان ملاک سالم بودن آندوتلیوم در نظر گرفته شد [۲۱]. برای ثبت پاسخ حلقه‌های آئورتی، آن‌ها به کمک سیم‌های پلاتینی L شکل که به موازات هم قرار داشتند، از یک طرف به قلاب فلزی و از طرف دیگر به ترانس‌دیوسر ایزومتریک F-60 متصل شدند. در این بررسی کشش اولیه اعمال شده به حلقه‌های آئورتی ۱/۵ گرم بود. پس از اعمال این کشش، حداقل ۶۰ دقیقه به بافت اجازه داده شد تا وضعیت ثابت پیدا کند. محلول کربس داخل حمام بافت هم هر ۳۰ دقیقه تعویض گردید. پس از حصول حالت تعادل، بافت به ترتیب در معرض غلظت‌های افزایش یابنده کلرور پتاسیم (۱۰ تا ۵۰ میلی‌مولار) و فنیل‌افرین (۱۰^{-۹} تا ۱۰^{-۵} مولار) قرار گرفت. برای ثبت پاسخ شل‌شدگی در حالت

هفته هشتم در حد معنی‌دار نبود هر چند میزان وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با گیاه کاهش کم‌تری نشان داد (شکل ۱).



شکل ۱. تغییرات وزن در هفته‌های مختلف در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده. $p < 0.05$ *، $p < 0.01$ **، $p < 0.005$ *** (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)

در خصوص میزان گلوکز سرم، در هفته قبل از بررسی تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت نشد، در هفته‌های ۳ و ۶ میزان گلوکز سرم در دو گروه دیابتی ($p = 0.0003$) و ($p = 0.0004$) و دیابتی تحت تیمار با گیاه در حد معنی‌دار ($p = 0.008$ و $p = 0.009$) بیش‌تر از گروه کنترل بود هر چند که در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه میزان گلوکز سرم به‌طور معنی‌دار در هفته‌های ۳ و ۶ کم‌تر از گروه دیابتی درمان نشده بود ($p = 0.02$ و $p = 0.04$) (شکل ۲).



شکل ۲. تغییرات گلوکز سرم در هفته‌های مختلف در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار. $p < 0.01$ *، $p < 0.0005$ *** (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)، $p < 0.05$ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)

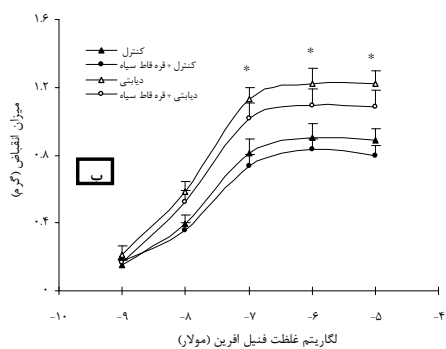
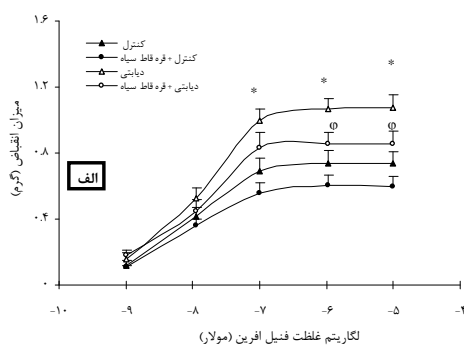
پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم. شکل ۳، پاسخ انقباضی حلقه‌های دارا و فاقد اندوتلیوم را به غلظت‌های افزایش‌یافته کلرور پتاسیم در گروه‌های کنترل، کنترل تحت

دارای اندوتلیوم، حلقه‌های آئورتی در ابتدا در معرض غلظتی از فنیل‌افرین که حدود ۸۰٪ حداکثر پاسخ را ایجاد نمود قرار گرفته و سپس در معرض غلظت‌های افزایش‌یافته استیل‌کولین (10^{-9} تا 10^{-5} مولار) قرار گرفت. برای ثبت پاسخ شل‌شدگی در حالت بدون اندوتلیوم، در ابتدا اندوتلیوم با چرخاندن یک لوله موئینه در داخل لومن رگ تخریب شده (عدم مشاهده پاسخ شل‌شدگی در حلقه‌های پیش منقبض شده با فنیل‌افرین در حضور استیل‌کولین (10^{-5} مولار) تأییدکننده عدم وجود اندوتلیوم در چنین حلقه‌هایی در نظر گرفته شد) و سپس حلقه‌های آئورتی در ابتدا در معرض غلظتی از فنیل‌افرین که حدود ۸۰٪ حداکثر پاسخ را ایجاد نمود قرار گرفته و سپس در معرض غلظت‌های افزایش‌یافته سدیم نیتروپروسید (سیگما، آمریکا) (10^{-9} تا 10^{-5} مولار) قرار گرفت. برای ثبت و آنالیز داده‌ها نیز از نرم‌افزار فیزیوگراف ۱ (شرکت بهینه‌آرمان، تهران) استفاده گردید. پاسخ انقباضی در تمامی بررسی‌ها به‌صورت گرم و در مورد پاسخ شل‌شدگی به صورت درصد بیان شد. آنالیز آماری. تمام نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است. در مورد وزن و میزان گلوکز سرم حیوانات در هفته‌های مختلف از آزمون آنووا با اندازه‌گیری مکرر و در مورد نتایج عروقی و برای مقایسه بین گروهی آن‌ها از آزمون آنوای یک‌طرفه و تست توکی استفاده گردید. به‌علاوه، سطح معنی‌دار در تمام آنالیزها، $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

از نظر وزن، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها در هفته قبل کار (سطح پایه) مشاهده نشد. گروه کنترل تحت تیمار مشابه با گروه کنترل یک افزایش طبیعی وزن را در پایان هفته ششم نشان داد هر چند این افزایش کم‌تر بود. در گروه دیابتی در هفته ششم نیز یک کاهش معنی‌دار در مقایسه با هفته قبل بررسی ($p = 0.004$) مشاهده گردید. از طرف دیگر، تفاوت موجود بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت درمان با گیاه در

افزایش یابنده فنیل افرین در گروه‌های کنترل، کنترل تحت تیمار با گیاه، دیابتی و دیابتی تحت تیمار با گیاه نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است پاسخ انقباضی به فنیل افرین در مورد این گروه‌ها با و بدون اندوتلیوم از یک طرح وابسته به غلظت تبعیت نموده است و دیابت موجب افزایش بارز و معنی‌دار حداکثر پاسخ حلقه‌های آئورتی به فنیل افرین در دو حالت دارا و بدون اندوتلیوم گردید (به ترتیب $p=0/006$ و $p=0/007$). همچنین درمان موش‌های دیابتی با قره قاط سیاه موجب کاهش معنی‌دار پاسخ انقباضی به فنیل افرین در مقایسه با گروه دیابتی در حلقه‌های دارای اندوتلیوم گردید ($p<0/04$) و حذف اندوتلیوم موجب کاهش این تفاوت گردید.

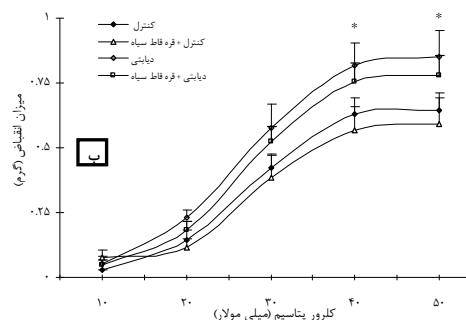
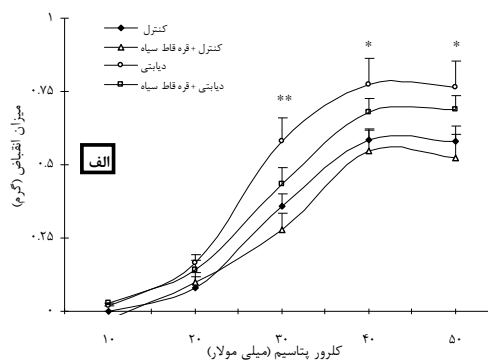


شکل ۴. پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای به غلظت‌های افزایش یابنده فنیل افرین در گروه‌های مختلف در دو حالت دارای اندوتلیوم (الف) و بدون اندوتلیوم (ب). ($P<0/05$ ، $p<0/01$ **) (در مقایسه با گروه کنترل)، ($p<0/05$) (در مقایسه با گروه دیابتی)

پاسخ شل‌شدگی آئورت سینه‌ای به استیل‌کولین و نیتروپروسید. از نظر پاسخ شل‌شدگی حلقه‌های آئورتی پیش منقبض شده با فنیل افرین و دارای اندوتلیوم، با اضافه شدن دوزهای تجمعی استیل‌کولین، یک پاسخ شل‌شدگی وابسته به

تیمار با گیاه، دیابتی و دیابتی تحت تیمار با گیاه نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم در مورد این گروه‌ها از یک طرح وابسته به غلظت تبعیت نموده است و حالت دیابت موجب افزایش معنی‌دار حداکثر پاسخ‌گویی حلقه‌های آئورتی به کلرور پتاسیم در مورد حلقه‌های دارا ($p=0/03$) و بدون اندوتلیوم ($p=0/04$) گردیده است. به‌علاوه حذف اندوتلیوم موجب افزایش غیر معنی‌دار پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم در مورد تمام گروه‌ها گردید. در این ارتباط، حذف اندوتلیوم موجب شد تفاوت موجود بین موش‌های دیابتی درمان شده با قره قاط سیاه با گروه دیابتی درمان نشده کاهش یابد که این خود تا حدودی وابستگی چنین پاسخی را به عوامل مشتق از اندوتلیوم نشان

می‌دهد.



شکل ۳. پاسخ انقباضی آئورت سیاه‌ای به غلظت‌های افزایش یابنده کلرور پتاسیم در گروه‌های مختلف در دو حالت دارای اندوتلیوم (الف) و بدون اندوتلیوم (ب). ($p<0/05$ ، $p<0/01$ **) (در مقایسه با گروه کنترل)

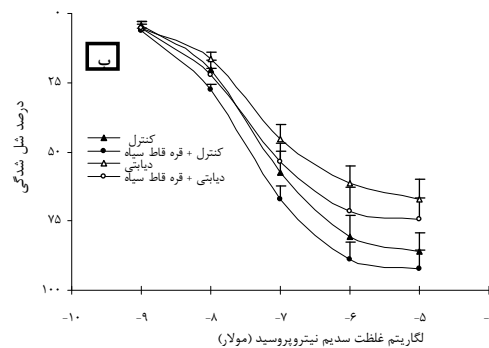
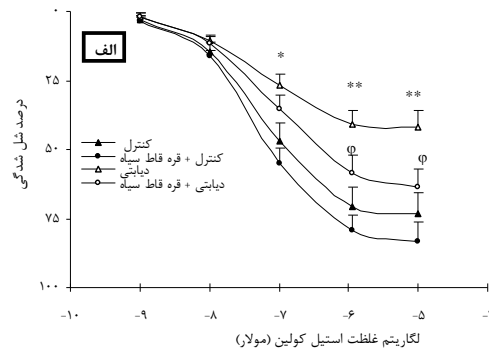
پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای به فنیل افرین. شکل ۴، پاسخ انقباضی حلقه‌های دارا و فاقد اندوتلیوم را به غلظت‌های

بحث و نتیجه گیری

مکانیسم‌های متفاوتی در ایجاد اختلال در ساختمان و عملکرد عروق خونی در دیابت قندی دخالت دارند. در این ارتباط ظرفیت آندوتلیوم عروق در سنتز گشادکننده‌های عروقی مانند پروستاگلین و نیتریک‌اکسید کم شده و تنگ کننده‌های عروقی مانند آندوتلین به مقدار زیادی تولید می‌شوند. هر چند که در مورد نقش هیپرگلیسمی مزمن در بروز عوارض عروق بزرگ در حالت دیابت قندی شواهد قطعی وجود ندارد، ولی برخی از نتایج به‌دست آمده خود هیپرگلیسمی و تشدید استرس اکسیداتیو ناشی از آن را دلیل بروز این عوارض می‌دانند [۳]. نتیجه یکی از مطالعات نشان می‌دهد که در دیابت قندی اختلال متابولیسم گلوکز و گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها نقش مهمی در ایجاد آتروسکلروز و افزایش نفوذپذیری و اسکلروز عروق خونی دارند. به‌علاوه در بیماران دیابتی تولید رادیکال‌های آزاد از طریق اتواکسیداسیون گلوکز افزایش می‌یابد [۱۷]. نتایج به‌دست آمده از مطالعه ما نشان داد که پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورتی دارای آندوتلیوم به فنیل‌فرین و کلرور پتاسیم در موش‌های صحرایی نر دیابتی به طور معنی‌داری نسبت به حیوانات سالم افزایش یافته است که این با نتایج مطالعه آیب و همکاران مطابقت دارد [۴]. به‌علاوه، با حذف آندوتلیوم به‌علت حذف عوامل گشادکننده عروقی نظیر نیتریک‌اکسید پاسخ انقباضی تشدید می‌شود [۴] که این با نتایج مطالعه ما نیز هم‌خوانی داشت.

در این مطالعه موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین گیاه قره قاط سیاه را با یک نسبت وزنی ۵٪ از غذای استاندارد موش به فرم خوراکی و بدون محدودیت به مدت ۶ هفته دریافت نمودند. نتایج مطالعات قبلی نشان می‌دهد که در مورد این گیاه تجویز مقادیر بالاتر نیز عملاً فاقد اثرات سمی در بافت‌های بدن می‌باشد و گیاه حتی در مقادیر کم نیز دارای خاصیت آنتی‌اکسیداتیو می‌باشد [۲۰]. در خصوص اثرات سودمند عروقی مصرف خوراکی و دراز مدت قره قاط که در تحقیق حاضر به‌دست آمد بل و همکاران نشان

غلظت در تمام گروه‌ها مشاهده گردید (شکل ۵). در این خصوص گروه دیابتی یک کاهش معنی‌دار در حداکثر پاسخ شل‌شدگی در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ($p=0/006$). همچنین، حداکثر پاسخ شل‌شدگی در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده به‌طور معنی‌دار بیشتر بود ($p=0/02$). در خصوص پاسخ شل‌شدگی حلقه‌های آئورتی پیش منقبض شده با فنیل‌فرین و بدون آندوتلیوم، با اضافه شدن دوزهای تجمعی سدیم نیتروپروسید، یک پاسخ شل‌شدگی وابسته به غلظت در تمام گروه‌ها مشاهده گردید (شکل ۵). در این خصوص تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها مشاهده نشد.



شکل ۵. پاسخ شل‌شدگی به استیل کولین (الف) و سدیم نیتروپروسید (ب) بصورت تجمعی و وابسته به غلظت در حلقه‌های آئورتی پیش منقبض شده با فنیل‌فرین در گروه‌های مختلف پس از گذشت ۶ هفته. $P < 0/05$ *، $P < 0/01$ ** (در مقایسه با گروه کنترل)، $P < 0/05$ (در مقایسه با گروه دیابتی)

کم‌تر بین گروه‌های مورد مطالعه و پراکنش بیش‌تر داده را در یک چنین مطالعاتی توجیه کند. البته هدف اصلی کار این نبوده است که همه حیوانات به یک میزان از غذای حاوی گیاه مصرف کنند و مقدار مصرف غذا در واقع به میزان تمایل حیوان برای مصرف بستگی دارد. به عبارت دیگر هدف از این‌گونه تحقیقات این است که گفته شود اگر در جامعه انسانی یک رژیم غذایی حاوی یک گیاه خاص بیش‌تر استفاده شود (که در اینجا مقدار مصرف به عوامل فیزیولوژیک متعدد بستگی دارد) احتمال بروز عوارض بیماری می‌تواند کم‌تر شود. به‌علاوه، بررسی مکانیسم اثر عروقی گیاه با تاکید بر سیستم نیتریک اکسید و پروستاگلاندین‌ها در حالت دیابت شیرین در مطالعات آینده توصیه می‌شود.

به‌طور خلاصه، تجویز خوراکی و دراز مدت قره قاط سیاه از طریق تغییر دادن تولید و آزادسازی عوامل موثر بر عروق با منشا اندوتلیوم و با اعمال اثرات مستقیم بر عضله صاف عروقی موجب کاهش پاسخ انقباضی و افزایش پاسخ شل‌شدگی در بافت آئورت موش صحرایی دیابتی می‌گردد که این می‌تواند در جلوگیری از برخی عوارض عروقی دیابت در دراز مدت سودمند باشد.

تشکر و قدردانی

بخشی از پژوهش حاضر با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد (تهران) در سال ۱۳۸۶ به انجام رسیده است که بدین‌وسیله تشکر می‌گردد. نویسندگان مقاله مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم فریبا انصاری کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد در کمک به انجام آزمایشات اعلام می‌دارند.

منابع

- [1] Tripathi BK and Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit* 2006; 12: 130-147.
- [2] Wandell PE. Quality of life of patients with diabetes mellitus. An overview of research in primary health care in the Nordic countries. *Scand J Prim Health Care* 2005; 23: 68-74.
- [3] Mori S, Takemoto M, Yokote K, Asaumi S, and Saito Y. Hyperglycemia-induced alteration of vascular smooth muscle phenotype. *J Diabetes Complications* 2002; 16: 65-68.

داده‌اند که اضافه نمودن عصاره این گیاه به صورت وابسته به دوز در حالت برون تن موجب بروز پاسخ شل‌شدگی وابسته به اندوتلیوم در شریان کورونری خوک می‌گردد [۱۴] که بخش کمی از این پاسخ با اعمال اثرات حفاظتی مستقیم بر عضله صاف رگی و بخش عمده آن از طریق تشدید مکانیسم‌های سنتز نیتریک اکسید (افزایش بیان ژن نیتریک اکسید سنتاز) و افزایش آزادسازی آن و پروستاگلاندین‌های گشادکننده عروقی و احتمالاً هم‌چنین از طریق کاهش تولید عوامل منقبض‌کننده عروقی نظیر اندوتلین‌ها و برخی پروستاگلاندین‌ها به انجام می‌رسد [۱۴] که نتایج این مطالعه به‌طور کلی با مطالعه ما مطابقت دارد هر چند در مطالعه حاضر عمل‌کرد عضله صاف عروقی مورد بررسی قرار نگرفت. هم‌چنین قبلاً مشخص شده که این گیاه در جهت کاهش استرس اکسیداتیو در نواحی بافتی بدن عمل نموده و مواد موثره این گیاه از جمله آنتوسیانین‌ها قادر به القای تغییرات متابولیک مطلوب مرتبط با آنزیم‌های کبدی در جهت اصلاح تغییرات نامطلوب سطح گلوکز و چربی‌های خون می‌باشد [۱۵] که این تا حدودی می‌تواند کاهش سطح گلوکز در گروه دیابتی در بررسی حاضر را توجیه کند. با توجه به این موضوع که دیابت قندی با تشدید روند استرس اکسیداتیو همراه بوده و بخشی از تغییرات بیوشیمیایی خون در دیابت قندی به‌ویژه در دیابت وابسته به انسولین از این طریق توجیه می‌گردد [۵] و گیاه قره قاط به‌علت سطح بالا از مواد آنتی‌اکسیدانت از جمله آنتوسیانین‌ها دارای خاصیت کاهش‌دهندگی استرس اکسیداتیو ناشی از تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد [۱۰] که این خود می‌تواند بخشی از تغییرات مطلوب در خصوص پاسخ‌گوئی بافت آئورت به عوامل منقبض‌کننده و گشادکننده در موش‌های دیابتی را ایجاد کرده باشد.

در خصوص محدودیت‌های بررسی حاضر و مطالعات مشابه می‌توان گفت که غذای تهیه شده حاوی گیاه به‌طور آزاد و بدون اعمال محدودیت در اختیار حیوانات تحت درمان قرار می‌گیرد. لذا این احتمال وجود دارد که تمام حیوانات به یک میزان از گیاه استفاده نکرده باشند که این می‌تواند تفاوت‌های

enzyme activity in human endothelial cells. *J Agric Food Chem* 2009; 57: 4626-4629.

[14] Bell DR. and Gochenaur K. Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. *J Appl Physiol* 2006; 100: 1164-1170.

[15] Petlevski R, Hadzija M, Slijepcevic M. and Juretic D. Effect of 'antidiabetic' herbal preparation on serum glucose and fructosamine in NOD mice. *J Ethnopharmacol* 2001; 75: 181-184.

[16] Roghani M, Baluchnejad mojarad T. and Taheri S. The effect of feeding of aerial part of *Vaccinium myrtillus* on blood glucose and lipids of diabetic rats. *Iranian J Diabetes Lipid dis* 2007; 7: 151-158. (Persian).

[17] Chung HK, Choi SM, Ahn BO, Kwak HH, Kim JH. and Kim WB. Efficacy of troxerutin on streptozotocin-induced rat model in the early stage of diabetic retinopathy. *Arzneimittelforschung* 2005; 55: 573-580.

[18] Cignarella A, Nastasi M, Cavalli E. and Puglisi L. Novel lipid-lowering properties of *Vaccinium myrtillus* L. leaves, a traditional antidiabetic treatment, in several models of rat dyslipidaemia: a comparison with ciprofibrate. *Thromb Res* 1996; 84: 311-322.

[19] Yildirim O. and Buyukbingol Z. Effect of cobalt on the oxidative status in heart and aorta of streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochem Funct* 2003; 21: 27-33.

[20] Bagchi D, Roy S, Patel V, He G, Khanna S, Ojha N. and et al. Safety and whole-body antioxidant potential of a novel anthocyanin-rich formulation of edible berries. *Mol Cell Biochem* 2006; 281: 197-209.

[21] Baluchnejadmojarad T. and Roghani M. Garlic extract attenuates time-dependent changes in the reactivity of isolated aorta in streptozotocin-diabetic rats. *Life Sci* 2003; 73: 2281-2289.

[4] Abebe W, Harris KH. and Macleod KM. Enhanced contractile responses of arteries from diabetic rats to alpha 1-adrenoceptor stimulation in the absence and presence of extracellular calcium. *J Cardiovas Pharmacol* 1990; 16: 239-248.

[5] Suji G. and Sivakami S. Approaches to the treatment of diabetes mellitus: an overview. *Cell Mol Biol* 2003; 49: 635-639.

[6] Grover JK, Yadav S. and Vats V. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *J Ethnopharmacol* 2002; 81: 81-100.

[7] Dey L, Attele AS. and Yuan CS. Alternative therapies for type 2 diabetes. *Altern Med Rev* 2002; 7: 45-58.

[8] Milbury PE, Graf B, Curran-Celentano JM. and Blumberg J. Bilberry (*Vaccinium myrtillus*) anthocyanins modulate heme oxygenase-1 and glutathione S-transferase-pi expression in ARPE-19 cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 2343-2349.

[9] Yao Y. and Vieira A. Protective activities of *Vaccinium* antioxidants with potential relevance to mitochondrial dysfunction and neurotoxicity. *Neurotoxicology* 2007; 28: 93-100.

[10] Ichihyanagi T, Shida Y, Rahman MM, Hatano Y. and Konishi T. Bioavailability and tissue distribution of anthocyanins in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extract in rats. *J Agric Food Chem* 2006; 54: 6578-6587.

[11] Ramirez MR, Izquierdo I, do Carmo Bassols Raseira M, Zuanazzi JA, Barros D. and Henriques AT. Effect of lyophilised *Vaccinium* berries on memory, anxiety and locomotion in adult rats. *Pharmacol Res* 2005; 52: 457-462.

[12] Mirheydar H. Medicinal plants science: Application of plants in prevention and treatment of disorders. Vol. 1, 1997: pp:131-135.

[13] Persson IA, Persson K. and Andersson RG. Effect of *Vaccinium myrtillus* and its polyphenols on angiotensin-converting

Endothelium-dependent and-independent effects of *Vaccinium myrtillus* feeding on contractile reactivity of thoracic aorta from diabetic rats

Mehrdad Roghani (Ph.D)*, Mehdi Shekouhi (M.D)

Dept of Physiology, School of Medicine, Shahed University and Medicinal Plant Research Center, Tehran, Iran.

(Received: 22 Agu 2009 Accepted: 24 Nov 2009)

Introduction: Diabetes mellitus is followed by higher incidence of cardiovascular disorders. There is some evidence on protective and antidiabetic effects of *Vaccinium myrtillus* (VM). Thus, the endothelium-dependent and –independent effect of oral administration of VM for 6 weeks on contractile and relaxatory response of thoracic aorta from diabetic rats was investigated.

Materials and Methods: Male rats were divided into control, VM-treated control, diabetic and VM-treated diabetic groups. Treated groups received VM-mixed pelleted food at a weight ratio of 5%. Body weight and serum glucose levels were measured before the study and at weeks 3 and 6. At the end of study, contractile reactivity of thoracic aortic rings to KCl and phenylephrine and relaxatory response to acetylcholine (with endothelium) and sodium nitroprusside (without endothelium) was determined using isolated tissue setup.

Results: Serum glucose levels significantly decreased in VM-treated diabetic group versus untreated diabetics ($p=0.04$). In addition, endothelium-intact VM-treated diabetic group showed a significantly lower contraction to KCl and phenylephrine ($p=0.04$) as compared to diabetic group and endothelium removal reduced this difference. Meanwhile, relaxation response of endothelium-intact rings to acetylcholine was significantly higher in VM-treated diabetic group as compared to diabetics ($p=0.02$).

Conclusion: Chronic oral administration of VM through affecting synthesis and release of endothelial vasoactive agents and also via direct effects on vascular smooth muscle could decrease contractile and enhance relaxatory responses in aortic tissue of diabetic rat. These effects may have the beneficial effects in prevention of some long-term vascular complications of diabetes.

Key words: *Vaccinium myrtillus*, Diabetes mellitus, Aorta, Contractility, Isolated tissue, Rat

* Corresponding author: Tel: +98 9121794950, Fax: +98 21 88966310
mehjour@yahoo.com