

بررسی اثر خوراکی گیاه والک بر فعالیت انقباضی آنورت ایزوله موش صحرایی دیابتی

دکتر مهرداد روغنی* - دکتر توراندخت بلوچ نژاد مجرد** - دکتر کلنوم عگبی***

*دانشیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی

**دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

***پزشک عمومی

تاریخ دریافت مقاله: ۸۶/۳/۲۴

تاریخ پذیرش: ۸۶/۷/۲۴

چکیده

مقدمه: دیابت شیرین با افزایش رخداد بیماری‌های قلبی-عروقی و آترواسکلروز همراه می‌باشد. با توجه به وجود شواهدی مبنی بر اثر ضد دیابتی مواد موثره گیاه والک، اثر مصرف خوراکی این گیاه به مدت ۶ هفته بر پاسخگویی انقباضی آنورت ایزوله در مدل تجربی دیابت شیرین در موش صحرایی بررسی شد.

هدف: بررسی اثر خوراکی گیاه والک بر فعالیت انقباضی آنورت ایزوله موش صحرایی دیابتی.

مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی نر ($n=32$) به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با والک، دیابتی، و دیابتی تحت درمان با والک تقسیم بندی شدند. برای دیابتی نمودن حیوانات از داروی استرپتوزوتوسین به طور داخل صفاقی (۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم) استفاده شد. دو گروه تحت تیمار با والک غذای استاندارد موش مخلوط شده با پودر گیاه (۶/۲۵٪) را به مدت ۶ هفته دریافت نمودند. پس از گذشت شش هفته پاسخ انقباضی حلقه‌های آنورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم و نورآدرنالین با استفاده از بساط بافت ایزوله بررسی شد.

نتایج: میزان گلوکز سرم در گروه دیابتی افزایش معنی‌داری را در هفته ششم در مقایسه با هفته قبل از آزمایش نشان داد ($p<0/001$) در حالی که گروه دیابتی تحت درمان با والک کاهش متوسط و معنی‌داری در مقایسه با گروه دیابتی نشان دادند ($p<0/001$). به علاوه پاسخ انقباضی در گروه دیابتی تحت درمان با والک به کلرور پتاسیم ($p<0/05$) و نورآدرنالین ($p<0/01$) به طور معنی‌دار کمتر از گروه دیابتی درمان نشده بود. همچنین هیچ‌گونه تغییر معنی‌دار در پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم و نورآدرنالین در گروه کنترل تحت تیمار در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: مصرف خوراکی و درازمدت والک در مدل تجربی دیابت شیرین در کاهش دادن پاسخ انقباضی سیستم عروقی و احتمالاً در جلوگیری از بروز هیپرتانسیون در موش‌های صحرایی دیابتی موثر است.

کلید واژه‌ها: بیماری‌های آنورت/ دیابت شیرین / گیاهان شفا بخش / موش‌های صحرایی

مقدمه

دیابت شیرین از نظر بالینی یکی از مهم‌ترین عوامل خطر برای برخی اختلالات دیگر نظیر نوروپاتی، رتینوپاتی، نوروپاتی، بیماری‌های قلبی عروقی محسوب می‌شود که بر اساس پیش‌بینی به عمل آمده، شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش خواهد یافت (۱). کمبود یا کاهش نسبی میزان انسولین در این بیماری موجب عوارض متابولیکی حاد و مزمن می‌شود (۲). در بیماری دیابت شیرین عوامل مختلف مثل افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن به علت افزایش سطح گلوکز خون و تشدید پراکسیداسیون لیپیدی موجب افزایش بروز آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی-عروقی

می‌شود. هدف اصلی روش‌های درمانی دیابت شیرین، برقراری میزان طبیعی قند خون و جلوگیری یا به تعویق انداختن عوارض آن است. 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 می‌شود (۳).

گیاهان دارویی و مشتقات آنها اگر چه از دیر باز در درمان دیابت شیرین و عوارض ناشی از آن مطرح بوده‌اند، ولی در مورد اثر بخشی قطعی بسیاری از آنها تاکنون شواهد تحقیقاتی و معتبر وجود ندارد (۴). در

این خصوص، مواد موثر گیاه والک دارای خاصیت محافظت کنندگی در برابر آسیب پوستی القا شده بر اثر عوامل آسیب رسان و نیز پائین آورنده کلسترول سرم است (6-5) و از طرف دیگر این گیاه دارای مقدار زیادی از سولفوکسیدهای سیستینی و اسید آمینه‌های سولفوکسیدیست که خود دارای خاصیت ضددیابتی و آنتی‌اکسیدان هستند (8-6). از طرف دیگر این مواد قادر به کاهش تولید محصولات نهائی پراکسیداسیون لیپیدی نظیر مالون‌دی‌آلدئید و هیدروپراکسید هستند (8-7) که خود نقش مهمی در بروز عوارض عروقی دیابت دارند. بعلاوه، معلوم شده که تجویز دراز مدت آنها موجب بهبود سطح تری‌گلیسیرید و کلسترول سرم می‌شود که می‌تواند در جلوگیری از بروز عوارض جدی دیابت نظیر مشکلات قلبی عروقی مؤثر باشد (6). همچنین، مصرف آنها موجب بهبود وضعیت کبد از نظر متابولیسم چربی‌ها می‌شود (6 و 7). با توجه به نقش استرس اکسیداتیو و تغییرات آنزیمی در بروز برخی تغییرات بیوشیمیایی و بافتی نامطلوب ناشی از دیابت به ویژه نوع I (2-1)، در این تحقیق اثر تجویز خوراکی و دراز مدت والک در مدل تجربی دیابت شیرین القا شده بر اثر تزریق استرپتوزوتوسین به مدت 6 هفته بر پاسخگویی آئورت سینه‌ای موش‌های صحرایی نر بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تحقیقاتی تجربی از 32 راس موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار در محدوده وزنی 27.4 ± 1.3 گرم استفاده شد. تمام حیوانات در دمای 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد در گروه‌های 3 تا 4 تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوانات آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) یا غذای مخلوط شده با پودر والک به نسبت 6/25٪ به مدت 6 هفته دسترسی داشتند.

برای تهیه غذای خاص حاوی گیاه، پس از تهیه گیاه والک از بازار محلی و تأیید علمی بر اساس مشخصات ریخت شناسی، پودر به دست آمده از آسیاب نمودن با یک نسبت وزنی 6/25٪ با غذای پودر شده و استاندارد موش مخلوط و مجدداً غذای Pelleted در محل دانشکده پزشکی (دانشگاه شاهد) توسط دستگاه غذاساز تولید شد (9). در این بررسی از موش‌های صحرایی نر استفاده شد که در شرایط طبیعی بدون برقراری حالت روزه‌داری (Non-fasting) میزان گلوکز سرم کمتر از 250 میلی‌گرم بر دسی‌لیتر داشتند (10). در این خصوص از شبکه رترواوربیتال و لوله موئینه برای خون‌گیری استفاده شد. موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با والک، دیابتی، و دیابتی تحت تیمار با والک تقسیم شدند. تیمار با والک به مدت 6 هفته ادامه یافت. برای دیابتی نمودن موش‌ها از داروی استرپتوزوتوسین (STZ) به صورت تک‌دوز و داخل صفاقی به میزان 60 میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (زیست شیمی) قبل از تزریق استرپتوزوتوسین و در طی هفته‌های 3 و 6 پس از آغاز آزمایش صورت گرفت.

پس از گذشت 6 هفته، موش‌ها با استفاده از اتر بیهوش شده، با باز کردن قفسه سینه آئورت سینه‌ای را جدا کرده و در داخل محلول کربس (که بطور مداوم بداخل آن گاز کربوژن حاوی 5٪ دی‌اکسیدکربن و 95٪ اکسیژن دمیده می‌شد) قرار داده شد. ترکیب شیمیایی محلول کربس مورد استفاده در تمام آزمایش‌ها به قرار زیر بود (بر حسب میلی مولار) (11):

$1/118$; $MgSO_4$, $5/4$; $CaCl_2$, $4/74$; KCl , $118/5NaCl$,
 10 ; $Glucose$ $1/118$; KH_2PO_4 , $24/9$; $NaHCO_3$,
 داخل محلول کربس سرد، آئورت به دقت از بافت

محاسبه سطح مقطع رگی (CSA)، از روش متداول توصیف شده توسط Abebe و همکاران (۱۹۹۰) استفاده شد (۱۱).

از نظر آماری، تمامی نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد (SEM) بیان شد. برای مقایسه نتایج هر متغیر در هر یک از گروه‌ها قبل و بعد از بررسی از آزمون student's paired t-test و repeated measure ANOVA و برای مقایسه گروه‌ها با هم در هر یک از دوره‌های زمانی از آزمون One-way ANOVA و Post-hoc test و Tukey's استفاده شد. به علاوه سطح معنی دار $p < 0.05$ برای تمامی تجزیه و تحلیل‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

تزریق استرپتوزوتوسین موجب افزایش معنی دار گلوکز در هفته‌های ۳ و ۶ پس از بررسی نسبت به هفته قبل شد ($p < 0/001$). به علاوه، در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با والک در هفته‌های ۳ و ۶ میزان گلوکز سرم در حد معنی دار ($p < 0/001$ و $p < 0/005$) نسبت به قبل از بررسی بالاتر بود. در این خصوص میزان گلوکز گروه دیابتی تحت درمان با والک به طور معنی دار کمتر از گروه دیابتی در همان هفته بود ($p < 0.01$). به علاوه، گروه کنترل تحت تیمار تفاوت معنی دار را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد (جدول ۱).

پیوندی اطراف پاک شده، سپس به حلقه‌هایی به طول حدوداً ۴ میلی‌متر تقسیم شد. برای حصول اطمینان از سلامت آندوتلیوم، پس از ایجاد انقباض با غلظت 10^{-6} مولار نورآدرنالین، استیل کولین با غلظت 10^{-6} مولار به حمام بافت اضافه می‌شد. مشاهده پاسخ شل‌شدگی بیشتر از ۳۰٪ در حلقه‌های آنورت به عنوان ملاک سالم بودن آندوتلیوم در نظر گرفته شد (۱۰). برای ثبت پاسخگویی حلقه‌های آنورتی، قطعات به کمک سیم‌های پلاتینی L شکل که به موازات هم قرار می‌گرفتند از یک طرف به قلاب شیشه‌ای و از طرف دیگر به ترانس دیوسر ایزومتریک F-60 متصل شدند. در این بررسی کشش استراحتی (Resting tension) اعمال شده به حلقه‌های آنورتی ۲ گرم بود. پس از اعمال این کشش، ۶۰ تا ۹۰ دقیقه به بافت اجازه داده می‌شد تا وضعیت ثابت پیدا کند. محلول کربس داخل حمام بافت هم هر ۳۰ دقیقه تعویض شد. پس از حصول حالت تعادل، بافت به ترتیب در معرض غلظت‌های افزایش یابنده کلرور پتاسیم (۱۰ تا ۵۰ میلی مولار) و نورآدرنالین (10^{-8} تا 10^{-4} مولار) قرار گرفت. برای ثبت و آنالیز تجزیه و تحلیل داده‌ها نیز از نرم‌افزار Physiograph I (شرکت بهینه آرمان، تهران) استفاده شد. پاسخ انقباضی (دامنه پاسخ) در تمامی بررسی‌ها به صورت گرم با ازای واحد سطح آنورت (g/mm^2) گزارش شد. برای

جدول ۱: اثر تجویز خوراکی والک بر میزان گلوکز سرم در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی

گروه‌ها	میزان گلوکز سرم (میلی گرم بر دسی لیتر)		
	هفته ۶	هفته ۳	هفته ۰ (قبل بررسی)
کنترل	$142/3 \pm 7/3$	$137/6 \pm 7/1$	$131/7 \pm 6/5$
کنترل + والک	$136/3 \pm 7/8$	$119/5 \pm 7/6$	$137/8 \pm 5/8$
دیابتی	$487/4 \pm 13/6^{**}$	$496/6 \pm 13/2^{**}$	$117/3 \pm 8/3$
دیابتی + والک	$386/6 \pm 15/2^*$	$379/6 \pm 14/9^*$	$141/6 \pm 8/5$

* $P < 0/005$ ** $P < 0/001$ (در مقایسه با هفته قبل بررسی)

هفته برای کلیه گروه‌ها از یک الگوی وابسته به غلظت تبعیت نمود (نمودار ۱). حداکثر پاسخ انقباضی برای

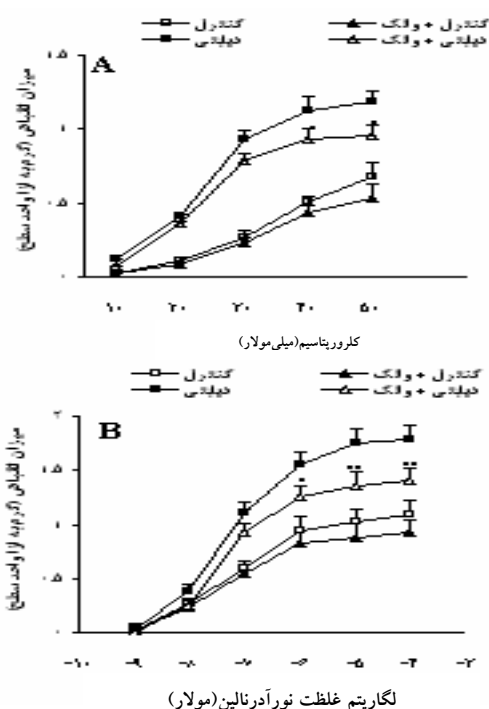
پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم و نورآدرنالین در مورد حلقه‌های آنورتی دارای آندوتلیوم پس از گذشت ۶

دارای اثر هیپوگلیسمی در حد متوسط و معنی‌دار بوده و درمان موش‌های دیابتی با این گیاه موجب کاهش معنی‌دار در حداکثر پاسخ انقباضی به آگونست غیراختصاصی کلروپتاسیم و آگونست اختصاصی نورآدرنالین در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده، می‌شود.

مکانیسم‌های متفاوتی در ایجاد اختلال در ساختمان و عملکرد عروق خونی در دیابت شیرین دخالت دارند. در این ارتباط ظرفیت آندوتلیوم عروق در سنتز گشاد کننده‌های عروقی مانند پروستاگلین و نیتریک اکسید کم شده و تنگ‌کننده‌های عروقی مانند آندوتلین به مقدار زیادی تولید می‌شوند. هر چند که در مورد نقش هیپرگلیسمی مزمن در بروز عوارض عروق بزرگ در حالت دیابت شیرین شواهد قطعی وجود ندارد، ولی برخی از نتایج به دست آمده خود هیپرگلیسمی و تشدید استرس اکسیداتیو ناشی از آن را دلیل بروز این عوارض می‌دانند (۱۲). مطالعات اخیر نشان داده‌است که در دیابت شیرین اختلال متابولیسم گلوکز و گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها نقش مهمی در ایجاد آتروسکلروز و افزایش نفوذ پذیری و اسکروز عروق خونی دارند. به علاوه در بیماران دیابتی تولید رادیکال‌های آزاد از طریق اتواکسیداسیون گلوکز افزایش می‌یابد (۱۳). نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورتی دارای آندوتلیوم به نورآدرنالین و کلروپتاسیم در موش‌های صحرایی نر دیابتی به طور معنی‌داری نسبت به حیوانات سالم افزایش یافته‌است که با نتایج مطالعه آیب و همکاران مطابقت دارد (۱۱).

در خصوص آثار سودمند مصرف خوراکی و دراز مدت والک قبلاً مشخص شده‌است که مواد موثر گیاهان خانواده سیر از جمله والک دارای خاصیت محافظت‌کنندگی در برابر آسیب پوستی القا شده بر اثر

کلور پتاسیم (غلظت ۵۰ میلی‌مولار) و نورآدرنالین (غلظت ۱۰^{-۴} مولار) تفاوت معنی‌داری بین دو گروه کنترل و کنترل تحت تیمار با والک نشان نداد. از طرف دیگر، پاسخ انقباضی آئورت گروه دیابتی به کلروپتاسیم و نورآدرنالین در هفته‌های پس از بررسی بیشتر از گروه کنترل بود ($p < 0/01$). به علاوه، درمان موش‌های دیابتی با والک موجب کاهش معنی‌دار در حداکثر پاسخ انقباضی در مورد کلور پتاسیم و نورآدرنالین در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده، شد بدین صورت که حداکثر پاسخ انقباضی برای کلروپتاسیم در گروه دیابتی درمان‌شده ($p < 0/05$) و برای نورآدرنالین در همین گروه ($p < 0/01$) کمتر از گروه دیابتی درمان نشده بود.



نمودار ۱: پاسخ انقباضی به کلور پتاسیم (A) و نورآدرنالین (B) را در گروه‌های مختلف پس از گذشت ۶ هفته نشان می‌دهد. ($P < 0/05$ *، $P < 0/01$ ** (در مقایسه با گروه دیابتی))

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج بررسی حاضر نشان داد که تجویز درازمدت والک به موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین

سطح چربی‌های خون اعمال می‌نماید (۶). در ضمن این گیاهان به علت سطح بالای فلاونوئیدها دارای خاصیت کاهش‌دهندگی استرس اکسیداتیو هستند و به همین علت قادر به کاهش دادن برخی اختلالات متابولیک و بافتی ناشی از بیماری‌های متابولیک هستند (۸). بنابراین بخشی از آثار سودمند این گیاه در تحقیق حاضر را می‌توان به کاهش دادن تغییرات بالا نسبت داد.

بطور خلاصه، نتایج این پژوهش نشان داد که تجویز خوراکی و درازمدت والک در مدل تجربی دیابت شیرین در موش صحرایی در کاهش دادن پاسخ انقباضی سیستم عروقی و احتمالاً در جلوگیری از بروز هیپرتانسیون در موش‌های صحرایی دیابتی موثر است. همچنین انجام تحقیقات وسیع‌تر برای مشخص نمودن مکانیسم اثر این گیاه در ارتباط با پاسخ انقباضی سیستم عروقی پیشنهاد می‌شود.

عوامل آسیب‌رسان و پائین آورنده کلسترول سرم در حیوانات نرمال است (۶ و ۵) و از طرف دیگر این گیاهان دارای مقدار زیادی از سولفوکسیدهای سیستینی و اسید آمینه‌های سولفوکسیدی بوده که خود این مواد نیز دارای خاصیت ضد دیابتی و آنتی‌اکسیداتی هستند (۶). بعلاوه عوامل آنتی‌اکسیدان با خاصیت کاهش‌دهندگی پراکسیداسیون لیپیدی به مقدار بالا در گیاه والک یافت می‌شود (۷ و ۸). همچنین معلوم شده که تجویز دراز مدت این مواد وضعیت لیپیدی را در موجودات بهبود می‌بخشد که این خود در جلوگیری از بروز برخی عوارض جدی دیابت نظیر مشکلات قلبی عروقی می‌تواند مؤثر باشد (۶ و ۷). از طرف دیگر مصرف این گیاه، آثار حفاظتی بر بافت کبد اعمال نموده، از سیروز کبدی جلوگیری می‌نماید و تغییرات متابولیک مرتبط با آنزیم‌های کبدی در جهت اصلاح تغییرات نامطلوب

منابع

1. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes Mellitus. Complications and Therapeutics. Med Sci Monit 2006; 12: RA130-47.
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. Suji G, Sivakami S. Approaches to the Treatment of Diabetes Mellitus: An Overview. Cell Mol Biol 2003; 49: 635-9.
4. Shapiro K, Gong WC. Natural Products Used For Diabetes. J Am Pharm Assoc 2002; 42: 217-226.
5. Nguansangiam S, Angsubhakorn S, Bhamarapavati S, et al. Effects of Elephant Garlic Volatile Oil (*Allium Ampeloprasum*) and T-2 Toxin on Murine Skin. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2003; 34: 899-905.
6. Kumari K, Augusti KT. Antidiabetic And Antioxidant Effects Of S-Methyl Cysteine Sulfoxide Isolated From Onions (*Allium Cepa* Linn) As Compared To Standard Drugs In Alloxan Diabetic Rats. Indian J Exp Biol 2002; 40: 1005-9.
7. Sheela CG, Kumud K, Augusti KT. Anti-Diabetic Effects Of Onion And Garlic Sulfoxide Amino Acids In Rats. Planta Med 1995; 61: 356-7.
8. Fritsch RM, Keusgen M. Occurrence and Taxonomic Significance Of Cysteine Sulphoxides In The Genus *Allium* L. (Alliaceae). Phytochemistry 2006; 67: 1127-35.
9. Swanston-Flatt SK, Day C, Bailey CJ, Flatt PR. Evaluation Of Traditional Plant Treatments For Diabetes: Studies In Streptozotocin Diabetic Mice. Acta Diabetologica Latina 1989; 26: 51-5.
10. Nitta A, Murai R, Suzuki N, et al. Diabetic Neuropathies in Brain Are Induced By Deficiency of BDNF. Neurological Teratol 2002; 24: 695-701.
11. Abebe W, Harris KH, Macleod KM. Enhanced Contractile Responses of Arteries from Diabetic Rats to A1-Adrenoceptor Stimulation in the Absence and Presence of Extra cellular Calcium. J Cardiovas Pharmacol 1990; 16: 239-248.
12. Mori S, Takemoto M, Yokote K, et al. Hyperglycemia-Induced Alteration Of Vascular Smooth Muscle Phenotype. J Diabetes Complications 2002; 16: 65-8.
13. Yildirim O, 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.

Survey the Effect of Feeding of *Allium Latifolium* on Contractile

Reactivity of Aorta of Diabetic Rats

Roghani M.(Ph.D.), Baluchnejadmojarad T.(Ph.D.), OgbiK.(MD)

Abstract

Introduction: Diabetes mellitus is accompanied with a higher incidence of cardiovascular disorders and atherosclerosis. With regard to antidiabetic potential of derivatives of *Allium latifolium* (AL), the effect of oral administration of this plant on the contractile reactivity of isolated aorta in diabetic rats was investigated during 6 weeks.

Objective: Survey the Effect of Feeding of *Allium Latifolium* on Contractile Reactivity of Aorta of Diabetic rats.

Materials and Methods: In this study male wistar rats (n=32) were randomly divided into 4 groups, i.e. control, AL-treated control, diabetic, and AL-treated diabetic groups. For induction of diabetes, streptozotocin (60 mg/kg; i.p.) was used. The treatment groups received oral administration of plant-mixed standard pelleted food (6.25%) for 6 weeks. After 6 weeks, contractile reactivity of aortic rings to KCl and nor adrenaline was determined by using isolated tissue setup.

Results: Serum glucose level in diabetic group increased during 6 weeks after the experiment as compared with one week before the study ($p < 0.001$) AL treatment of diabetic rats showed a significant hypoglycemic effect ($p < 0.01$). In addition, the latter group showed a lower contraction to KCl ($P < 0.05$) and nor adrenaline ($P < 0.01$) as compared with diabetic group. Meanwhile, there was no significant difference between control and AL-treated control groups regarding contractile reactivity.

Conclusion: use of Oral administration of AL for 6 weeks can attenuate the contractile responsiveness of the vascular system and this may prevent the development of hypertension in diabetic rats.

Key words: Aortic disorders/ Diabetes mellitus/ medicinal plants/ Rats

