Journal of Birjand University of Medical Sciences

Birjand University of Medical Sciences

Original Article

Vascular effects of aqueous *Crocus* sativus petals' extract in the hypertensive rats

Khadijeh Farrokhfall[1], **Zahra Fatehi Hassanabad**[2], **Zahra Gholamnejad**[3]

ABSTRACT

Background and Aim: *Crocus sativus* (*C. sativus*) petals attenuates smooth muscle tension and blood pressure in control animals. However the antihypertensive effect and its mechanisms haven't been recognized. This study investigates the antihypertensive effects of *C. sativus* petals' aqueous extract in hypertensive rats and also responses of the rat isolated perfused mesenteric bed.

Materials and Methods: The interventional experimental study was performed on 20 male rats (divided to 5 and 15 rats for in vivo and in vitro studies respectively). Hypertension was induced by DOCA-salt injection (20 mg/kg, twice weekly, for 5 weeks, S.C) and water was replaced by NaCl (1%). Five weeks later, animals were anaesthetized with sodium thiopental (30 mg intraperitoneal). Then systemic arterial blood pressure was measured by cannulation of carotid artery following administration of different doses of aqueous extract of *C. sativus*. Isolated mesenteric beds precontracted with KCl (40 mM), and the tension was measured in presence of different concentrations of the aqueous extract. Finally, various doses of *C. sativus* extract were applied after incubation by L-NAME or indomethacin. The mesentry was perfused with pump and the recordings were done by physiograph.

Results: Mean arterial blood pressure in hypertensive rats was 231±6 mmHg. Administration of aqueous extracts of *C. sativus* reduced the blood pressure in a dose–dependent manner. In mesenteric beds preparation, addition of C. sativus reduced the contractile effects of KCl. Incubation with L-NAME but not indomethacin abolished hypotension effect of the extract.

Conclusion: It was proposed that the antihypertensive effects of C. sativus petals' extract are through the reduction in total peripheral resistance following nitric oxide production.

Key Words: Crocus Sativus Petals, Hypertension, Rat, Mesenteric Artery

Citation: Farrokhfall Kh, Fatehi Hassanabad Z, Gholamnejad Z. [Vascular effects of aqueous Crocus sativus petals' extract in the hypertensive rats] J Birjand Univ Med Sci. 2020; 27(3): 265-274. [Persian].

DOI http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.105

Received: July 17, 2019 **Accepted: November 10, 2019**

[1] Cardiovascular Diseases Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[2] Imam Zaman Hospital, Mashad, Iran.
[3] Physiology Department, Faculty of Medicine, Mashad University of Medical Sciences, Mashad, Iran
Corresponding author; Cardiovascular Diseases Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.
Tel: +985632381566 Fax: +985632433004 Email: kfarrokhfall@yahoo.com

مقاله اصیل پژوهشی

بررسی اثرات عروقی عصاره آبی گلبرگ زعفران در موش صحرایی با فشار خون بالا

خدیجه فرخ‌فال[۱]، زهرا فاتحی حسن‌آباد[۲]، زهرا غلام‌نژاد[۳]

چکیده

زمینه و هدف: گلبرگ زعفران، تانسیون عضله صاف احشایی را کاهش میدهد و نیز فشار خون نرمال را کم می‌نماید؛ اما اثر ضدّ فشار خونی و مکانیسم آن شناخته نشده است. در این مطالعه، اثرات ضدّ فشار خونی عصاره گلبرگ زعفران با بررسی پاسخ‌های انقباضی بستر عروقی مزانتر در حیوانات فشار خونی مطالعه شد.

روش تحقیق: این مطالعه تجربی مداخله‌ای بر روی ۲۰ رت نر (۵ رت برای مطالعه درون تنی و ۱۵ رت برای مطالعه برون تنی) انجام شد. فشار خون با نمک دزوکسی کورتیکواسترون استات (۲۰ mg/kg، زیرجلدی دو بار در هفته و به‌مدت ۵ هفته) و جایگزینی آب با محلول کلرید سدیم یک درصد ایجاد گردید. بعد از ۵ هفته، بیهوشی با تیوپنتال سدیم (۳۰ mg/kg، داخل صفاقی) ایجاد و فشار خون شریانی به‌دنبال تجویز دوزهای مختلف عصاره آبی زعفران با لوله‌گذاری شریان کاروتید اندازه‌گیری شد؛ سپس مزانتر ایزوله با کلرید پتاسیم (۴۰ میلی‌مولار) منقبض شد و غلظت‌های مختلف عصاره اضافه گردید. در نهایت در حضور L-NAME و ایندومتاسن، نیروی انقباضی مزانتر با غلظت‌های مختلف عصاره بررسی شد. تانسیون مزانتر، توسط فیزیوگراف ثبت گردید.

یافته‌ها: فشار خون متوسط شریانی در رت‌های مبتلا به فشار خون ۶±۲۳۱ mmHg بود. تجویز عصاره آبی گلبرگ زعفران، فشار خون شریانی را به‌صورت وابسته به دوز کاهش داد. عصاره، نیروی انقباضی بستر عروقی مزانتر را کاهش داد. مجاورت بافت با L-NAME و نه ایندومتاسن، پاسخ کاهندگی فشار عصاره را از بین برد.

نتیجه‌گیری: اثرات ضدّ فشار خونی عصاره گلبرگ زعفران احتمالاً از طریق کاهش مقاومت کل محیطی به‌واسطه نیتریک‌اکساید اعمال می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: گلبرگ زعفران، پر فشاری خون، رت، بستر عروقی مزانتر

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۹؛ ۲۷ (۳): ۲۶۵-۲۷۴.

دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۲۶ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۱۹

[۱] مرکز تحقیقات بیماری‌های قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

[۲] بیمارستان امام زمان، مشهد، ایران

[۳] گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

* **نویسنده مسؤول؛** مرکز تحقیقات بیماری‌های قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

آدرس: بیرجند- مرکز تحقیقات بیماری‌های قلب و عروق

تلفن: ۰۵۶۳۲۳۸۱۵۶۶ نمابر: ۰۵۶۳۲۴۳۳۰۰۴ پست الکترونیکی:kfarrokhfall@yahoo.com

مقدمه

زعفران (*Crocus sativus*) گیاهی چند ساله، به ارتفاع ۳۰-۱۰ سانتی‌متر و دارای پیازی سخت، مدوّر و گوشت‌دار و پوشیده از غشاهای نازک و قهوه‌ای رنگ است. منشأ اصلی آن، نواحی مختلف آسیا می‌باشد ولی امروزه با توسعه‌ای که پرورش آن پیدا کرده است در نواحی مختلف یافت می‌گردد. در ایران پرورش زعفران در نواحی مختلف خراسان صورت می‌گیرد. گل‌های زعفران، ظاهر لوله‌ایِ باریک و دراز منتهی به شش تقسیم بزرگ به رنگ بنفش دارد. قسمت مورد استفاده گیاه، ناحیه انتهای خامه و کلاله است که تحت عنوان زعفران وارد بازار تجارت می‌شود. تکثیر این گیاه به‌وسیله پیاز و در اواسط تیرماه صورت می‌گیرد (۱).

تاکنون مطالعات فراوانی بر روی زعفران انجام شده و خواص درمانی متعددی به زعفران نسبت داده شده است (۲) که در اینجا به نتایج برخی از آنها به‌ویژه مطالعاتی که در رابطه با خواص گلبرگ زعفران صورت گرفته است، به اختصار اشاره می‌شود. برای مثال، طی چند مطالعه اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره گلبرگ زعفران مورد بررسی قرار گرفته که در همه آنها بالاترین محتوای ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین مربوط به گلبرگ زعفران گزارش گردیده است (۶-۳). گلبرگ زعفران دارای قدرت احیاکنندگی بالایی است؛ همچنین در سیستم بتاکاروتن/ لینولئیک اسید توانایی بالایی در کاهش اکسیداسیون دارد، به‌طوری که گلبرگ زعفران می‌تواند به‌عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی (۶) جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در صنایع غذایی باشد. اثرات آنتی‌اکسیدانی و سیتوتوکسیک عصاره گلبرگ زعفران نیز اثبات شده است (۷). گلبرگ زعفران خواص حفاظتی بر کبد بدون ایجاد عوارض جانبی یا سمیّت تا دوز ۴۵۰ میلی‌گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن در رت شاهد دارد (۸)؛ همچنین در رت‌های دیابتی با استرپتوزوتوسین، سبب کاهش قند خون و بهبود نشانه‌های بافت‌شناسی نفروپاتی دیابتی می‌گردد (۹) و نیز به‌عنوان نگه‌دارنده، در حفظ مواد غذایی مثل قطعات برش‌خورده هندوانه بسیار مؤثّر است (۱۰). در جستجوی مقالات در منابع علمی ،ما تنها یک مطالعه را پیدا کردیم که در ارتباط با اثر گلبرگ زعفران بر فشار خون انجام شده است. در این مطالعه اثر عصاره آبی گلبرگ زعفران بر انقباض عضله صاف احشایی و فشار خون سیستمیک مورد بررسی قرار گرفته است (۱۱). در مطالعه اشاره شده مشخص گردید که عصاره آبی گلبرگ زعفران قادر است فشار خون را در رت‌های شاهد با فشار خون طبیعی کاهش دهد و همچنین انقباض ایجاد شده در عضله صاف احشایی را کاهش دهد، ولی اثر این عصاره بر عضله صاف عروق مشخص نشده است (۱۱).

فشار خون شریانی بالا (هیپرتانسیون[1])، مهمترین معضل درمانی در کشورهای توسعه‌یافته و همچنین در کشور ماست. حدود ۳۰ درصد جمعیت شهری و روستایی ایران مبتلا به فشار خون بالا می‌باشند (۱۲). در سال ۲۰۱۰ حدود ۱/۳۹ بیلیون نفر در دنیا مبتلا به پرفشاری خون بوده‌اند که ۱/۰۴ بیلیون نفر آنها در کشورهای کم‌درآمد و با درآمد متوسط زندگی می‌کرده‌اند. فشار خون بالا، تهدیدکننده حیات است و بیماری‌زایی بالایی دارد؛ از جمله عوارض آن، حمله‌های قلبی و مغزی است که شایع‌ترین علت مرگ و میر در دنیا به‌شمار می‌رود (۱۳).

با وجود داروهای متعدد ضدّ فشار خون، کنترل دقیق و صحیح آن به سختی انجام می‌شود. زعفران، گیاهی است که به فراوانی در استان خراسان کشت می‌شود و همیشه گلبرگ‌های آن بدون مصرف مانده و دور ریخته می‌شود. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات فارماکولوژیکی عصاره آبی گلبرگ زعفران بر سیستم عروقی رت‌های دچار فشار خون بالا و همچنین بر عضلات صاف عروق (بستر عروقی مزانتر) بود.

[1] *Hypertension*

روش تحقیق

در این مطالعه، ۲۰ عدد از موش‌های صحرایی نر نژاد Sprague-Dawley (با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم) تهیه‌شده از مؤسسه سرم‌سازی رازی مشهد، استفاده شد. حیوانات تا زمان انجام آزمایش در اتاقی با دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵±۵۵ درصد و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند و تغذیه آنها نیز با غذای استاندارد انجام می‌شد. در این مطالعه ملاحظات اخلاقی در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی نظیر بیهوشی و جراحی، انجام شد.

پس از تهیه گلبرگ زعفران (شماره هرباریوم: ۱-۰۳۱۹-۱۴۳) از منطقه بیرجند و تمیزنمودن آن (جدا کردن پرچم، کلاله و ساقه‌های بلند احتمالی به‌گونه‌ای که فقط گلبرگ آن باقی بماند)، گلبرگ‌ها در تاریکی خشک و به‌صورت پودر در آورده شد؛ سپس ۵۰ گرم از گلبرگ خشک‌شده زعفران در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به‌مدت ۴۸ ساعت خیسانده و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت روی دستگاه چرخاننده قرار داده شد. درنهایت عصاره حاصل، از کاغذ صافی واتمن شماره ۱۴ عبور داده شد و برای حذف حلال در دستگاه بن‌ماری با دمای ۴۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت تا پودر خشک‌شده به‌دست آید (۱۴، ۱۵).

در قسمت درون‌تنی، فشار خون در ۵ رت به روشی که در ادامه بیان می‌گردد اندازه‌گیری شد و اثر دوزهای مختلف زعفران (۳، ۱۰ و ۱۷ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن رت) بر فشار خون بررسی گردید؛ بدین منظور هر سه دوز زعفران به هر حیوان تزریق شد.

در قسمت برون‌تنی، مطالعه بر روی ۱۵ عدد موش صحرایی فشار خونی (این حیوانات در شرایط درون‌تنی تزریق زعفران نداشتند) انجام شد. این موش‌ها به‌طور تصادفی به سه گروه ۵تایی به ترتیب زیر تقسیم شدند:

۱) **گروه فشار خون:** مزانتر این حیوانات جدا شد و پس از انقباض با کلرید پتاسیم (۴۰ میلی مولار)، در معرض غلظت‌های مختلف عصاره آبی گلبرگ زعفران (۱، ۲ و ۴ mg/ml) قرار گرفت.

۲) **گروه ایندومتاسین:** مزانتر این حیوانات جدا شد و پس از مجاورت با ایندومتاسین (۱۰ میکرومولار)، با کلرید پتاسیم منقبض گردید؛ سپس در معرض غلظت‌های مختلف عصاره آبی گلبرگ زعفران (۱، ۲ و ۴ mg/ml) قرار گرفت.

۳) **گروه L-NAME:** مزانتر این حیوانات جدا شد و پس از مجاورت با L-NAME (۱۰۰ میکرومولار)، با کلرید پتاسیم منقبض گردید؛ سپس در معرض غلظت‌های مختلف عصاره آبی گلبرگ زعفران (۱، ۲ و ۴ mg/ml) قرار گرفت.

هیپرتانسیون شریانی، توسط تزریق دزوکسی کورتیکواسترون استات (دوکا، ۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم از وزن بدن به‌صورت تزریق زیرجلدی، در ناحیه شکمی و کنار داخلی محل اتصال پاهای عقبی به شکم حیوان، هفته‌ای دو بار به‌مدت ۵ هفته) به‌همراه جایگزینی آب معمولی با آب حاوی نمک طعام (یک درصد) ایجاد گردید (۱۶).

در کل دوره آزمایش، حیوانات به‌طور آزادانه به غذا و آب دسترسی داشتند. پس از ۵ هفته، حیوانات با تزریق تیوپنتال‌سدیم (۳۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم از وزن بدن حیوان) بیهوش گردیدند؛ سپس شریان کاروتید و ورید گردنی حیوان کانول‌گذاری شد که از کانول وریدی برای تزریق عصاره استفاده شد و کانول شریانی برای ثبت فشار خون به مبدل (transducer) فشار (Narco Bio-Systems, Inc., Houston, TX, USA) وصل شد؛ به این ترتیب فشار سیستول، فشار دیاستول و نبض در تمامی حیوانات ثبت گردید (۱۷)؛ سپس دوزهای مختلفی از عصاره (به ترتیب: ۳، ۱۰ و ۱۷ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن رت و حداکثر با حجم ۰/۳ میلی‌لیتر) به حیوانات از طریق ورید گردنی تزریق شد. قابل ذکر است ابتدا دوز کم تزریق و به دنبال از

بین رفتن اثر دارو و برگشت فشار خون به وضعیت قبل از تزریق (تقریباً پس از ۱۰ دقیقه)، دوز بعدی تزریق گردید.

قبل از باز نمودن شکم، ۱۰۰۰ واحد هپارین از طریق ورید ژوگلار به رت‌ها تزریق شد. بستر عروقی مزانتر پس از باز کردن حفره شکم با یک برش T شکل، و سپس کانول‌گذاری در شریان مزانتریک از محل اتصال به روده‌ها به دقت جدا شد (۱۷)؛ به این صورت که شاخه‌های پانکراتیکودئودنال، ایلیوکولیک و کولیک شریان مزانتریک فوقانی گره زده شد. سپس شریان مزانتریک فوقانی از بافت‌های اطراف در ناحیه آئورت جدا و لوله پلاستیکی از ناحیه دیستال شروع شریان از آئورت به آن وارد شد. در حالی که شریان مزانتریک فوقانی لوله‌گذاری شده بود (لوله در داخل شریان کاملاً به شریان با نخ گره زده شده بود)، با برش نزدیک به حاشیه روده‌ای مزانتر، مزانتر از روده‌ها جدا گردید و به پتری‌دیش حاوی محلول کربس منتقل شد. در طول مدت آزمایش، مزانتر ایزوله به پمپ پرفوزیون مزانتر متصل بود (Gilson Minipuls 2, Villiers, France) و توسط کربس تغذیه می‌گردید. محتویات کربس بر حسب میلی‌مولار شامل: کلرید سدیم (۱۱۸/۴)، کلرید پتاسیم (۴/۷)، منیزیم سولفات (۱/۲)، بیکربنات سدیم ()۲۵، گلوکز (۱۱/۱)، پتاسیم دی هیدروژن ارتوفسفات (۱/۲) و کلرید کلسیم (۲/۵) بود (۱۷). دمای محلول کربس $37^{\circ}C$ بود و با سرعت ثابت ۲ میلی‌لیتر در دقیقه در حالی که توسط اکسیژن (۹۵٪) و دی‌اکسید کربن (۵٪) گازدهی می‌شد، به مزانتر وارد می‌گردید. برای جلوگیری از تجمع کربس در بشقابک حاوی بافت، مایع خارج‌شده از انتهای روده‌ای مزانتر با سرعت ۲ میلی‌لیتر در دقیقه به خارج تخلیه می‌شد. به‌مدت ۳۰ دقیقه به بافت اجازه داده شد که با شرایط عادت نمایند. بافت‌ها توسط کلرید پتاسیم (به‌میزان ۴۰ میلی‌مولار) منقبض گشته و غلظت‌های متفاوتی از عصاره به کربس اضافه شد. برای مشخص‌نمودن اینکه آیا اثرات عصاره از طریق پروستاگلاندین‌ها و یا نیتریک‌اکساید اعمال می‌گردد یا خیر، بافت به‌مدت ۲۰ دقیقه در مجاورت ایندومتاسین با غلظت ۱۰ میکرومولار (۱۸) و یا L-NAME با غلظت ۱۰۰ میکرومولار (۱۹) قرار گرفت.

لازم به ذکر است داروهای دزکسی کورتیکواسترون استات (شرکت ایران هورمون)، ایندومتاسین، و نیترو ال آرژنین متیل استر (L-NAME) از شرکت سیگما؛ کلرید سدیم، کلرید پتاسیم، منیزیم سولفات، کربنات سدیم، گلوکز، پتاسیم‌دی‌هیدروژن ارتوفسفات و کلرید سدیم از شرکت Merck و تیوپنتال سدیم از شرکت Biochemie اتریش در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند.

در این آزمایش نتایج برحسب میانگین±انحراف از معیار بیان شده است. P کمتر از ۰/۰۵ نیز به‌عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای آنالیز داده‌های مربوط به اثر عصاره بر فشار خون متوسط شریانی و فشار پرفوزیون بستر عروقی مزانتر، آزمون repeated ANOVA انجام شد و در صورت معنادار شدن، تست تعقیبی Bonferroni مورد استفاده قرار گرفت. در ارتباط با نقش ایندومتاسین و L-NAME در اثر غلظت‌های مختلف عصاره بر فشار پرفوزیون مزانتر، آزمون two-way ANOVA و به‌دنبال آن تست تعقیبی Bonferroni انجام شد. آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار آماری SPSS (ویرایش ۷) و ترسیم نمودارها با نرم‌افزار Prism (ویرایش ۵) صورت گرفت.

یافته‌ها

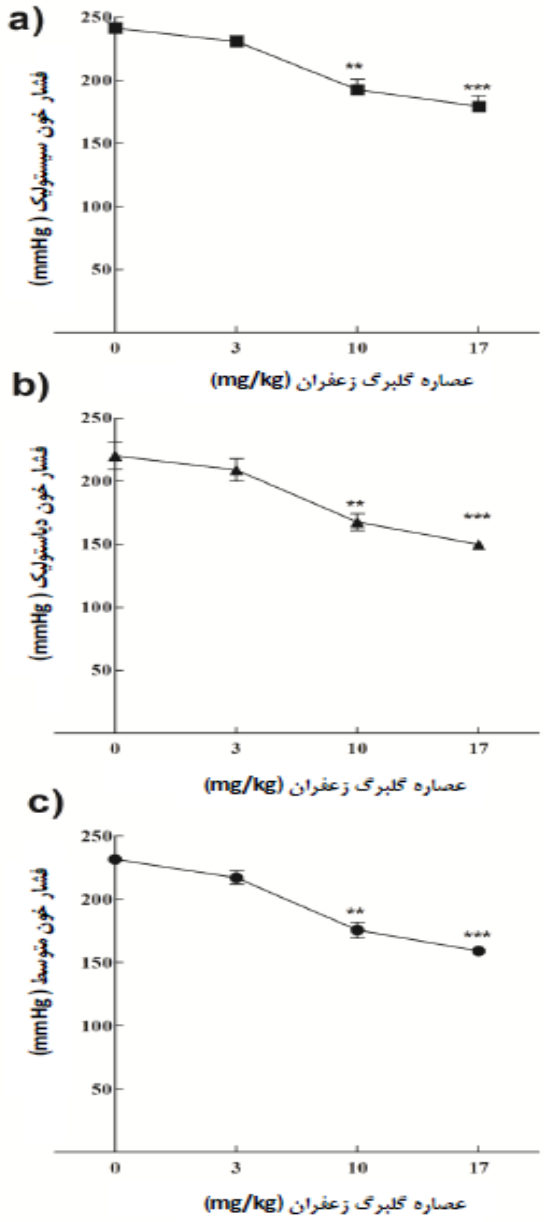
◄ بررسی اثرات عصاره آبی گلبرگ زعفران بر فشار خون و ضربان‌های قلبی حیوانات:

تجویز عصاره آبی گلبرگ زعفران به حیوانات هیپرتانسیونی (بیهوش‌شده توسط تیوپنتال سدیم)، سبب کاهش فشار خون شریانی (سیستولیک، دیاستولیک و متوسط) گردید؛ برای مثال تزریق داخل وریدی ۱۰mg/kg عصاره، فشار خون سیستولیک، دیاستولیک و متوسط را به‌ترتیب از: ۴±۲۴۰، ۶±۲۲۰/۸ و ۳/۱±۲۳۱/۵ میلیمتر جیوه به

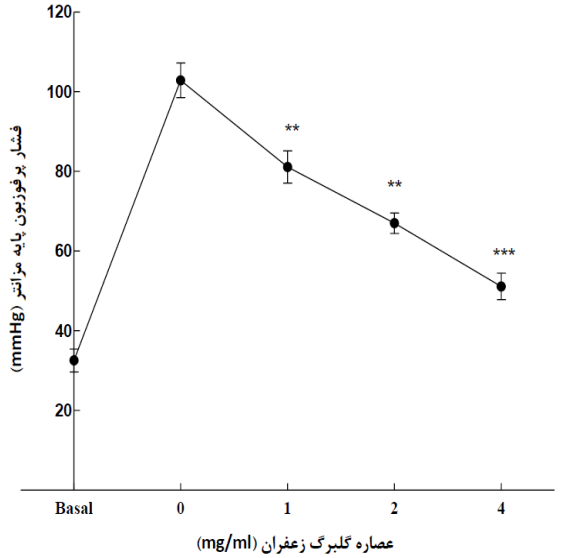
۱۹۲±۸/۵، ۱۶۷±۶/۶ و ۱۷۵/۵±۶/۳ میلیمتر جیوه کاهش داد (میانگین±انحراف‌معیار)(P<۰/۰۱، نمودار ۱a، ۱b، ۱c). با توجه به اینکه فشار خون متوسط شریانی در سیستم قلبی-عروقی نشان‌دهنده فشار خون به طور کلی می‌باشد، در ادامه بیشتر در رابطه با فشار متوسط بحث می‌شود (حداکثر افت فشار در غلظت ۱۷mg/kg ایجاد شده است). نبض حیوانات مورد آزمایش در گروه فشار خونی ۱۵±۴۰۷ بود که به‌دنبال تزریق دوزهای ۳، ۱۰ و ۱۷ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن رت از این عصاره به‌ترتیب به: ۱۳±۴۰۶، ۱۰±۳۸۹ و ۱۲±۳۸۸ کاهش یافت که از نظر آماری معنی‌دار نبود.

◄ بررسی اثرات عصاره آبی گلبرگ زعفران بر بستر عروقی مزانتر:

بستر عروقی مزانتر توسط کلرید پتاسیم (۴۰ mM) منقبض شد. به‌دنبال انقباض، فشار پرفوزیون مزانتر از ۳۲±۳/۲ میلیمتر جیوه به ۱۰۳/۴±۶/۵ میلیمتر جیوه افزایش یافت (شکل ۲). اضافه‌نمودن غلظت‌های مختلفی از عصاره به کربس، سبب کاهش انقباض ناشی از کلرید پتاسیم گردید؛ برای مثال اضافه نمودن غلظت ۲ mg/ml از عصاره، فشار پرفوزیون بستر عروقی مزانتر را از ۱۰۳±۶ به ۶۷±۳ کاهش داد (P<۰/۰۰۱، شکل ۲) اثر غلظت‌های مختلفی از عصاره را بر فشار پرفوزیون مزانتر نشان می‌دهد.



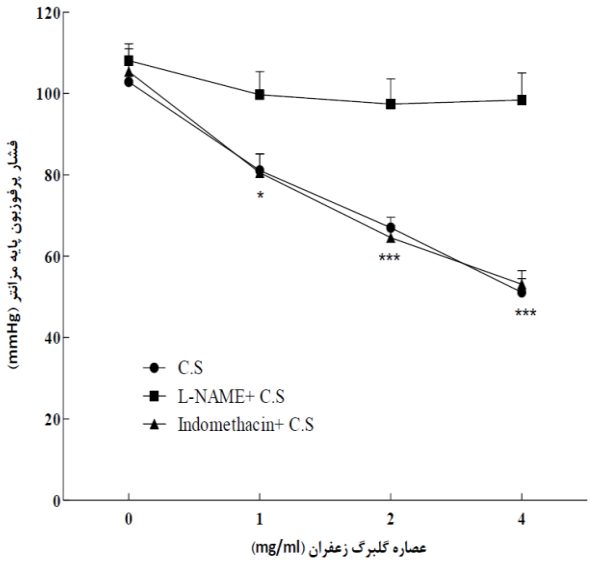
نمودار ۱ – اثر دوزهای مختلف عصاره آبی (۳، ۱۰ و ۱۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) گلبرگ زعفران (C.S) بر فشار خون سیستولیک (۱a)، دیاستولیک (۱b) و فشار خون متوسط شریانی (۱c). پس از بیهوش‌کردن حیوانات توسط تیوپنتال (۳۰ mg/kg، به‌صورت داخل صفاقی)، دوزهای مختلفی از عصاره آبی به آنها تزریق گردید (تعداد حیوان: ۵ رت فشار خون بالا). نتایج به‌صورت میانگین±انحراف‌معیار بیان شده است. انجام آزمون تست تعقیبی Bonferroni پس از آزمون repeated ANOVA، نشان‌دهنده سطح معنی‌داری کاهش فشار خون P<۰/۰۰۱*** ، P<۰/۰۱ ** در مقایسه با قبل از تزریق عصاره بود.



نمودار ۲ – اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی (۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) گلبرگ زعفران (C.S) بر بستر عروقی مزانتر منقبض‌شده با کلرید پتاسیم (۴۰ میلی‌مولار). تعداد حیوان مورد آزمایش ۵ عدد رت فشار خونی بود. نتایج به‌صورت میانگین±انحراف‌معیار بیان شده است. آنالیز داده‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی Bonferroni پس از آزمون repeated ANOVA، نشان‌دهنده سطح معنی‌داری کاهش تانسیون مزانتر P<۰/۰۰۱*** ، P<۰/۰۱** در مقایسه با قبل از تزریق عصاره بود.

◄ بررسی اثرات عصاره آبی گلبرگ زعفران بر بستر عروقی مزانتر در حضور ایندومتاسین و L-NAME:

بستر عروقی مزانتر پس از مجاورت با ایندومتاسین (به‌میزان 10^{-5} مولار به‌مدت ۲۰ دقیقه) توسط کلرید پتاسیم (۴۰ mM) منقبض شد که در پاسخ‌های ناشی از عصاره آبی گلبرگ زعفران در این بافت تغییری ایجاد نکرد (شکل ۳)؛ ولی مجاورت بافت با L-NAME (10^{-4} مولار به‌مدت ۲۰ دقیقه)، پاسخ‌های ناشی از عصاره آبی گلبرگ زعفران را در این بافت کاهش داد (شکل ۳ اثر غلظت‌های مختلف عصاره را بر فشار پرفوزیون مزانتر پس از مجاورت آن با L-NAME و ایندومتاسین و نیز بدون مجاورت با این داروها نشان می‌دهد).



نمودار ۳ – اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی (۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) گلبرگ زعفران (C.S) بر بستر عروقی مزانتر منقبض‌شده با کلرید پتاسیم (۴۰ میلی‌مولار) بعد از مجاورت با L-NAME (۴-۱۰ مولار، به‌مدت ۲۰ دقیقه، مربع توپر) و ایندومتاسین (۵-۱۰ مولار، به‌مدت ۲۰ دقیقه، مثلث توپر). تعداد حیوان مورد آزمایش در هر گروه ۵ عدد بود. نتایج به‌صورت میانگین±انحراف از میانگین بیان شده است. آنالیز داده‌ها با استفاده از آزمون two way ANOVA و به‌دنبال آن تست تعقیبی Bonferroni نشان‌دهنده سطح معنی‌داری کاهش تانسیون مزانتر P<۰/۰۰۱ *** و P<۰/۰۵* در مقایسه با بعد از مجاورت با L-NAME بود.

بحث

همانطور که در قسمت نتایج اشاره شد تزریق داخل وریدی عصاره آبی گلبرگ زعفران، فشار خون شریانی را در رت‌های مبتلا به هیپرتانسیون کاهش داد. کاهش فشار خون شریانی، با یک برادی‌کاردی غیر معنی‌دار همراه بود که با نتایج حاصل از تأثیر همین عصاره بر فشار خون موش‌های گروه کنترل (موش‌های با فشار خون طبیعی) همخوانی داشت. این نتیجه با نتایج مطالعه دیگری در این زمینه همسو است (۱۱). این کاهش فشار خون می‌تواند ناشی از اثر عصاره روی قلب و یا مقاومت عروق محیطی و یا هر دو باشد. با توجه به نتایج مطالعه، چون این عصاره روی ضربان قلب تأثیر چندانی ندارد، بنابراین به نظر می‌رسد که اثر این عصاره روی مقاومت عروق محیطی مهمتر باشد.

همچنین در مطالعه حاضر عصاره آبی گلبرگ زعفران، فشار پرفوزیون مزانتر منقبض‌شده با کلرید پتاسیم را نیز به‌طور معنی‌داری کاهش داد. با توجه به اینکه بستر عروقی مزانتر دارای عروق مقاومتی (شریانچه‌ها) فراوانی است، کاهش فشار پرفوزیون در آن نشان‌دهنده اتساع این عروق است؛ بنابراین با تأیید مجدّد، احتمالاً اثرات ضدّ فشار خون گلبرگ زعفران از طریق کاهش مقاومت عروق محیطی ایجاد می‌گردد. در مطالعه قبلی، اثر شل‌کننده این عصاره روی وازودفران جدا شده موش و ایلیوم خوکچه هندی اثبات گردید که مؤیّد اثرات آنتاگونیستی این عصاره روی گیرنده‌های آدرنرژیک وازودفران جدا شده رت است (۱۱). در این مطالعه برای درک مکانیسم‌های احتمالی اثر متّسع‌کننده عروقی این عصاره، از بستر جدا شده مزانتر استفاده گردید. نشان داده شده است که در این مدل فشار خون، شلی وابسته به اندوتلیوم در بستر عروقی مزانتر مختل می‌شود (۲۰). شلی وابسته به اندوتلیوم توسط مکانیسم‌هایی ایجاد می‌گردد که با دخالت فاکتورهای تولیدشده توسط سلول‌های اندوتلیال شامل: نیتریک اکساید، پروستاگلاندین‌ها (به‌طور اختصاصی‌تر پروستاسایکلین) و فاکتور هایپر پولاریزان مشتق از اندوتلیوم (EDHF)[1] صورت می‌گیرد (۲۱-۲۳). در مطالعه فعلی، ایندومتاسین به‌عنوان یک مهارکننده غیراختصاصی سنتز پروستاگلاندین‌ها (آنتاگونیست آنزیم سیکلو اکسیژناز) قادر نبود که تغییری را در پاسخ‌های عصاره آبی گلبرگ زعفران در بستر عروقی مزانتر ایجاد نماید و از طرفی چون L-NAME به‌عنوان یک مهارکننده سنتز نیتریک‌اکساید (۲۴)، اثر کاهندگی فشار ناشی از این عصاره را مهار کرد، پس می‌توان ادعا کرد که اثرات ضدّ فشار خونی عصاره آبی گلبرگ زعفران از طریق سنتز نیتریک‌اکساید و نه پروستاگلاندین‌ها اعمال می‌گردد. همچنین با توجه به اینکه کلرید پتاسیم از شناخته‌شده‌ترین عوامل بازکننده کانال کلسیمی وابسته به ولتاژ می‌باشد که با اثر مستقیم بر عضله صاف و مستقل از گیرنده سبب انقباض عضله صاف عروق می‌گردد (۲۵) و با توجه به آثار مشاهده‌شده از غلظت‌های مختلف عصاره، می‌توان پیشنهاد نمود که احتمالاً عصاره آبی گلبرگ زعفران با انسداد این کانال‌ها سبب کاهش ورود این یون و در نتیجه موجب کاهش انقباض ناشی از کلرید پتاسیم می‌شود. پس در نهایت قسمتی از اثرات عصاره از طریق مهار کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ است. این اثر به‌ویژه در طی فشار خون بالا که حساسیت این کانال‌ها افزایش می‌یابد (۲۶) اهمیت بیشتری دارد.

با توجه به اینکه گلبرگ زعفران خاصیت آنتی‌اکسیدانی (ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین) قوی دارد و از طرفی القای فشار خون با نمک دزوکسی کورتیکواسترون با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد همراه است (۲۷)، شاید قسمتی از اثرات کاهنده فشار خونی این عصاره به خواص آنتی‌اکسیدانی آن مرتبط باشد.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد عصاره گلبرگ زعفران از طریق مسیر نیتریک اکساید سبب کاهش مقاومت کل محیطی و کاهش فشار خون می‌شود. پی‌بردن به مکانیسم دقیق ضدّ فشار خونی گلبرگ زعفران نیاز به تحقیقات تکمیلی در این زمینه دارد. به‌دنبال انجام مطالعات تکمیلی در این زمینه، با توجه به سالم‌بودن گلبرگ زعفران در دوزهای بالا، می‌توان پیشنهاد نمود که در جریان هیپرتانسیون مورد استفاده قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه با کد طرح مصوب ۸۳۰۰۳ دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

[1] *Endothelial Derived Hyperpolarizing Factor*

منابع:

1- Zargari A. Medicinal plants. 6th ed. Tehran: Tehran university publications; 1997. [Persian]

2- Srivastava R, Ahmed H, Dixit RK, Dharamveer, Saraf SA. Crocus sativus L.: A comprehensive review. Pharmacogn Rev. 2010; 4(8): 200-8.

3- Goupy P, Vian MA, Chemat F, Caris-Veyrat C. Identification and quantification of flavonols, anthocyanins and lutein diesters in tepals of Crocus sativus by ultra performance liquid chromatography coupled to diode array and ion trap mass spectrometry detections. Ind Crops Prod. 2013; 44: 496-510.

4- Jadouali SM, Atifi H, Mamouni R, Majourhat K, Bouzoubaâ Z, Laknifli A, et al. Chemical characterization and antioxidant compounds of flower parts of Moroccan crocus sativus L. Chemical characterization and antioxidant compounds of flower parts of Moroccan crocus sativus L. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 2019; 18(4): 476-80. doi: 10.1016/j.jssas.2018.03.007

5- Montoro P, Maldini M, Luciani L, Tuberoso CI, Congiu F, Pizza C. Radical scavenging activity and LC-MS metabolic profiling of petals, stamens, and flowers of Crocus sativus L. J Food Sci. 2012; 77(8): C893-900. doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02803.x.

6- Zeka K, Ruparelia KC, Continenza MA, Stagos D, Vegliò F, Arroo RRJ. Petals of Crocus sativus L. as a potential source of the antioxidants crocin and kaempferol. Fitoterapia. 2015; 107: 128-34. doi: 10.1016/j.fitote.2015.05.014.

7- Tuberoso CI, Rosa A, Montoro P, Fenu MA, Pizza C. Antioxidant activity, cytotoxic activity and metabolic profiling of juices obtained from saffron (Crocus sativus L.) floral by-products. Food Chem. 2016; 199: 18-27. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.11.115.

8- Babaei A, Arshami J, Haghparast AR, Danesh Mesgaran M. Effects of Crocus Sativus Petals Extracton Blood Parameters in Rat. J Arak Uni Med Sci. 2013;16(6): 14-21. [Persian]

9- Zarezadeh M, Vazifeshenas- Darmiyan K, Afshar M, Valavi M, Serki E, Hosseini M. Effects of Extract of Crocus sativus Petal on Renal Function in Diabetic Rats. J Mazand Univ Med Sci. 2017; 27(147): 11-24. [Persian]

10- Kaveh H. Effect of saffron petal extract on retention quality of fresh-cut watermelon cubes. Saffron Agronomy & Technology. 2016; 4(4): 301-12. doi: 10.22048/jsat.2016.38667 .[Persian]

11- Fatehi M, Rashidabady T, Fatehi-Hassanabad Z. Effects of Crocus sativus petals' extract on ratblood pressure and on responses induced by electrical field stimulation in the rat isolated vas deferens and guinea-pig ileum. J Ethnopharmacol. 2003; 84(2-3): 199-203. doi: 10.1016/S0378-8741(02)00299-4 ·

12- Delavari AR, Horri N, Alikhani S, Gouya MM, Mahdavi AR, Hosseini SM, et al. Prevalence of Hypertension in Iranian Urban and Rural Populations Aged over 20 years in 2004. J Mazandaran Univ Med Sci. 2007; 17(58): 79-86. [Persian]

13- Mills KT, Bundy JD, Kelly TN, Reed JE, Kearney PM, Reynolds K, et al. Global Disparities of Hypertension Prevalence and Control. A Systematic Analysis of Population-Based Studies From 90 Countries. Circulation. 2016; 134(6): 441-50. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018912

14- Pajohi-Alamoti M, Yadollahi-baghloyi M, Bazargani-gillani B. The Effect of Water Extract of Rhus Coriaria L. on the Pathogenic Bacteria at Different Temperatures. J Babol Univ Med Sci. 2016; 18(2): 41-7. [Persian]

15- Shariat HS. Qualitative and Quantitative evaluation of the active Coxstiuents and control methodes for medicinal Plants. 2nd ed. Esfahan: Mani publications; 2007. [Persian]

16- Bockman CS, Jeffries WB, Pettinger WA, Abel PW. Reduced contractile sensitivity and vasopressin receptor affinity in DOCA-salt hypertension. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 1992; 262(6): H1752-8. doi: 10.1152/ajpheart.1992.262.6.h1752

17- Fatehi M, Anvari K, Fatehi-Hassanabad Z. The beneficial effects of protein kinase inhibition on the circulatory failure induced by endotoxin in the rat. Shock. 2002; 18(5): 450-5. doi: 10.1097/00024382-200211000-00011

18- Flower RJ. Drugs Which Inhibit Prostaglandin Biosynthesis. Pharmacol Rev. 1974; 26(1): 33-67.

19- Amerini S, Mantelli L, Ledda F. Enhancement of the vasoconstrictor response to KCL by nitric oxide synthesis inhibition: A comparison with noradrenaline. Pharmacological Research. 1995; 31(3-4): 175-81. doi: 10.1016/1043-6618(95)80015-8

20- Adeagbo AS, Joshua IG, Falkner C, Matheson PJ. Tempol, an antioxidant, restores endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated vasodilation during hypertension. Eur J Pharmacol. 2003;481(1):91-100. doi: 10.1016/j.ejphar.2003.09.005

21- Goto K, Ohtsubo T, Kitazono T. Endothelium-Dependent Hyperpolarization (EDH) in Hypertension: The Role of Endothelial Ion Channels. Int J Mol Sci. 2018; 19(1): 315. doi: 10.3390/ijms19010315.

22- Lind L, Granstam SO, Millgård J. Endothelium-dependent Vasodilation in Hypertension: A Review. Blood Pressure. 2000; 9(1): 4-15.

23- Lind L. Lipids and endothelium-dependent vasodilation—A review. Lipids. 2002; 37(1): 1-15. doi: 10.1007/s11745-002-0858-6.

24- Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. Pharmacol Rev. 1991; 43(2): 109-42.

25- Ratz PH, Berg KM, Urban NH, Miner AS. Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calcium-sensitizing stimulus. Am J Physiol Cell Physiol. 2005; 288(4):C769-83.

26- Jackson WF. Ion Channels and Vascular Tone. Hypertension. 2000; 35(1): 173-8. doi: 10.1161/01.HYP.35.1.173

27- Somers MJ, Mavromatis K, Galis ZS, Harrison DG. Vascular Superoxide Production and Vasomotor Function in Hypertension Induced by Deoxycorticosterone Acetate–Salt. Circulation. 2000; 101(14): 1722-8. doi: 10.1161/01.cir.101.14.1722.