Journal of Birjand University of Medical Sciences

Birjand University of Medical Sciences

Original Article

Investigating the relaxant effect of aqueous-alcoholic extract of *Melissa Officinalis* on smooth muscle of isolated rat trachea and its potential mechanisms

Vahideh Sadat Abbasnia[1], Delaram Eslimi Esfahani[1], Mohammad Reza Khazdair[2]*, Shahrbanoo Oryan[1], Mohsen Foadoddini[2]

ABSTRACT

Background and Aims: *Melissa officinalis* (*M. officinalis*) is a well-known medicinal plant with various therapeutic properties such as, antioxidant and anti-inflammatory effects. Pharmacological effects of this plant is attributed with its main phenolic compounds, rosmarinic acid. This research aimed to study the relaxant effect of the aqueous-alcoholic extract of *Melissa officinalis* on the isolated tracheal smooth muscle (TSM) of rat.

Materials and Methods: The relaxant potential of cumulative concentrations of the aqueous-alcoholic extract of *Melissa officinalis* (50, 100, 200 µg/ml) was compared with normal saline (1 milliliter of normal saline) as a negative control and three cumulative concentrations of theophylline (0.8, 0.4, 0.2 mM) as a positive control on the TSM of isolated rat. The relaxant effect of *M. officinalis* extract was examined on non-incubated and incubated TSM with propranolol (1 µM), atropine (1 µM), and chlorpheniramine (1 µM) as different antagonists of beta-2 adrenergic (β2-Adrenergic), muscarinic and H1 histamine receptors respectively.

Results: The relaxant effect of *M. officinalis* extract with all theophylline concentrations on the isolated tracheal smooth muscle exhibited a significant increase compared to saline ($P<0.001$ in all instances) in non-incubated tissues. The relaxant effect of medium and high dose of *M. officinalis* extracts (100 and 200 µg/ml) were similar to theophylline and were not significant difference. Conversely, the relaxant effect of *M. officinalis* exhibited a significant reduction in incubated tissues with chlorpheniramine and atropine compared to the non-incubated tissue.

Conclusion: The relaxant effect of aqueous-alcoholic extract of *Melissa officinalis* on isolated tracheal tissue is possibly be mediated through the inhibition of muscarinic and H1 histamine receptors while having no significant impact on beta-2 adrenergic receptors.

Keywords: *Mellisa officinalis*, Rat, Receptors, Smooth muscle

Citation: Khazdair MR, Abbasnia VS, Eslimi Esfahani D, Oryan Sh, Foadoddini M. [Investigating the relaxant effect of aqueous-alcoholic extract of Melissa Officinalis on smooth muscle of isolated rat trachea and its potential mechanisms]. J Birjand Univ Med Sci. 2023; 30(4): 333-342. [Persian]

DOI 10.61186/JBUMS.30.4.333

Received: December 27, 2023 **Accepted:** January 31, 2024

[1] Department of Animal Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
[2] Cardiovascular Diseases Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

***Corresponding author:** Cardiovascular Diseases Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
E-mail: khazdairMR@Bums.ac.i Fax: +98-5632234717 Tel: +98-5631626466

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.333]

مقاله اصیل پژوهشی

بررسی اثر اتساعی عصاره آبی الکلی گیاه بادرنجبویه بر عضله صاف نای موش‌های صحرایی و مکانیسم‌های احتمالی آن

وحیده‌سادات عباس‌نیا[1]، دلارام اسلیمی اصفهانی[1]، محمدرضا خزدیر[2]*، شهربانو عریان[1]، محسن فؤادالدینی[3]

چکیده

زمینه و هدف: بادرنجبویه گیاهی دارویی با خواص درمانی متعدد بوده که مطالعات پیشین اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی آن را به وجود ترکیبات فنولی مهم موجود در این گیاه مانند رزمارینیک اسید نسبت داده‌اند. در این مطالعه اثر اتساعی عصاره آبی-الکلی این گیاه بر عضله صاف نای موش‌های صحرایی و مکانیسم‌های احتمالی آن مورد بررسی قرار گرفت.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، اثر اتساعی غلظت‌های تجمعی عصاره آبی-الکلی گیاه بادرنجبویه (۵۰،۱۰۰،۲۰۰ µg/ml) درمقایسه با سالین (۱ میلی‌لیتر نرمال سالین) به عنوان کنترل منفی و سه غلظت تجمعی تئوفیلین (۰/۸ mM، ۰/۴، ۰/۲) به عنوان کنترل مثبت روی عضله صاف نای جدا شده موش صحرایی در دو حالت غیرانکوبه و انکوبه با پروپرانولول (۱µM)، آتروپین (۱µM)، کلرفنیرامین (۱µM) جهت بررسی نقش گیرنده‌های H1 هیستامین و بتا دو-آدرنرژیک (β2-Adrenergic) و موسکارینی مورد آزمایش قرار گرفت.

یافته‌ها: اثر اتساعی بر عضله صاف نای توسط همه غلظت‌های تئوفیلین و عصاره در بافت‌های غیرانکوبه در مقایسه با سالین به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۰۱ درتمامی موارد). علاوه‌بر این اثر اتساعی غلظت‌های متوسط و زیاد عصاره (۱۰۰،۲۰۰ µg/ml)، مشابه اتساعی تئوفیلین بود و تفاوت معنی‌داری با آن مشاهده نشد. از طرفی اثر اتساعی، در بافت‌های انکوبه با کلرفنیرامین و آتروپین در مقایسه با بافت‌های غیر انکوبه عصاره، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: اثر اتساعی عصاره آبی الکلی گیاه بادرنجبویه بر قطعه جدا شده نای احتمالاً از طریق مهار گیرنده‌های موسکارینی و H1 هیستامینی عضله صاف نای ایجاد می‌شود و در تحریک گیرنده‌های بتا دو آدرنرژیک مؤثر نیست.

واژه‌های کلیدی: بادرنجبویه، موش صحرایی، گیرنده، عضله صاف نای

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۲؛ ۳۰ (۴): ۳۴۲-۳۳۳.

دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۰۶ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۱

[1] گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

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

***نویسنده مسئول:** مرکز تحقیقات بیماری‌های قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

آدرس: بیرجند- بیمارستان رازی- مرکز تحقیقات بیماری‌های قلب و عروق

تلفن: ۰۵۶۳۱۶۲۶۴۶۶ نمابر: ۰۵۶۳۲۲۳۴۶۱۷ پست الکترونیکی: m.khazdair@yahoo.com و khazdairMR@Bums.ac.ir

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.333]

مقدمه

آسم یک بیماری التهابی است که حدود ۳۰۰ میلیون نفر در سراسر جهان را درگیر خود کرده و این تعداد در سطح نگران کننده‌ای در حال افزایش است. در حال حاضر میزان مرگ‌ومیر آسم به بیش از ۲۵۰۰۰۰ نفر در سال می‌رسد (۱). واکنش بیش از حد راه هوایی یکی از ویژگی‌های ثابت آسم است. این اصطلاح برای توصیف شرایطی استفاده شده است که در آن راه‌های هوایی در پاسخ به چالش با آگونیست‌های انقباضی غیراختصاصی، به آسانی و بیش از حد تنگ می‌شوند (۲). انقباض بیش از حد برونش اصلی‌ترین دلیل پاسخ‌دهی بیش از حد راه هوایی است (۳). اگرچه پاسخ اساسی در آسم تنگی حاد مجاری تنفسی است، علائمی مانند سرفه، افزایش میزان ترشح موکوس یا تنفس کوتاه هم ممکن است مشاهده شود (۵, ۴). برای بررسی این فاکتور (تنگی حاد مجاری تنفسی) می‌توان از انواع تست های تحریکی (هیستامین، متاکولین، ورزش و استنشاق هوای سرد) استفاده نمود (۶).

سه گروه دارویی که جهت تسکین علائم آسم و اتساع برونش مورد استفاده قرار می‌گیرد شامل سمپاتومیمتیک‌ها، ترکیبات مشتق‌شده از گزانتین، ترکیبات ضداستیل کولینی آنتاگونیست‌های گیرنده‌های هیستامینی می‌شوند. آگونیست‌های β2 مثل سالبوتامول اثر اتساعی را به وسیله تحریک مستقیم گیرنده‌های β2 در عضله صاف مجاری تنفسی ایجاد می‌کنند که منجر به شل شدن عضله صاف می شود (۷). آنتاگونیست‌های گیرنده‌های H1 که در مورد اثر بر عضلات صاف اهمیت دارند، انواع بسیار گوناگونی دارند که از خانواده‌های شیمیایی متفاوتی هستند و دیفن‌هیدرامین و کلرفنیرآمین از نمونه‌های اصلی آن می‌باشند. در رابطه با ترکیبات ضداستیل کولینی باید گفت اثر آن‌ها نسبت به گروه اول ضعیف‌تر و نیمه عمر آن‌ها کوتاه‌تر است (۸).

استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان تسکین درد در دنیای پزشکی سابقه‌ای طولانی دارد. *Melissa officinalis* یا بادرنجبویه از خانواده Lamiaceae، یک گیاه شناخته شده با سابقه طولانی در طب سنتی است که جهت درمان بسیاری از اختلالات مورد استفاده قرار می‌گیرد. تاریخچه استفاده از این گیاه به بیش از ۲۰۰۰ سال پیش برمی‌گردد. این گیاه، گیاهی علفی و چند ساله است که از مرکز و جنوب اروپا تا ایران و آسیای مرکزی رشد می‌کند. همچنین به‌دلیل خواص خوراکی در سطح جهان کشت می‌شود (۹).

بادرنجبویه منبع مناسبی از مواد شیمیایی گیاهی است که می‌تواند به خواص مفید گیاه کمک کند (۱۰) مطالعه فیتوشیمیایی آن نشان می دهد که از بین ترکیبات فنلی آن، رزمارینیک اسید و اسیدگالیک به‌ترتیب بیشترین و کمترین غلظت را دارند (۱۱) علی‌رغم مطالعات مختلفی که بر روی این گیاه صورت گرفته، تا کنون مطالعه‌ای در رابطه با اثرات اتساعی آن بر عضله صاف نای گزارش نشده است. لذا در این مطالعه اثر اتساعی عصاره آبی–الکلی گیاه بادرنجبویه در مقایسه با تئوفیلین، به‌عنوان یک داروی استاندارد در درمان آسم، بر انقباض حاصل از متاکولین روی قطعه جدا شده نای از رت‌های نر نژاد ویستار در دو محیط غیرانکوبه و انکوبه با پروپرانولول،کلرفنیرامین و آتروپین بررسی و نتایج در گروه‌های آزمایشی مقایسه و ارائه شدند.

روش تحقیق

گیاه

پس از جمع‌آوری گیاه بادرنجبویه در فصل تابستان از مراتع شهرستان طبس واقع در استان خراسان جنوبی و تأیید آن توسط کارشناس گیاه‌شناسی دانشگاه پیام نور مرکز بیرجند (شماره هرباریوم L-110)، ۳۰۰ گرم برگ پودر شده گیاه، به‌منظور تهیه عصاره هیدوالکلی، با محلول ۸۰ درصد متانولی (۲۰ درصد آب و ۸۰ درصد متانول) مخلوط شد. پس از ۲۴ ساعت محلول هیدروالکلی حاوی نمونه، از کاغذ صافی عبور داده شد. سپس به کمک دستگاه روتاری اواپراتور شرکت هایدولف آلمان، متانول از محلول خارج گردید و باقیمانده محلول به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه فریز درایر نیمه صنعتی شرکت دناوکیوم قرار داده شد تا عصاره خشک به‌دست آمد (۱۲).

حیوانات آزمایشگاهی

در این پژوهش از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۲۰–۲۰۰ گرم استفاده شد این حیوانات از آزمایشگاه حیوانات دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند خریداری شدند. حیوانات به مدت دو هفته به‌منظور تطبیق شرایط در محل حیوان‌خانه در شرایط استاندارد به‌صورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند و غذا و آب کافی در اختیار آن‌ها قرار گرفت. در حین کار روی حیوانات مورد مطالعه، رعایت ملاحظات اخلاقی کار با حیوانات توسط محقق مدنظر قرار گرفت. این مطالعه بر اساس کد اخلاقی

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.333]

(IR.BUMS.REC.1400.272) انجام گرفت. پس از این زمان حیوان توسط کتامین(۳۰mg/kg) و زایلازین(۲/۵ mg/kg) بیهوش شد. به کمک قیچی، سینه حیوان گشوده و نای از بافت‌های اطراف جدا و خارج گشت. مری در این مرحله کاملاً از بافت نای جدا شد تا انقباضات آن اثری بر انقباض نای نداشته باشد. پس از آن بافت به ظرف مخصوص ۲۰ میلی‌لیتری حمام بافت که با محلول کربس پر شده بود منتقل شد و پس از یک ساعت استراحت بافت، اثر اتساعی عصاره هیدروالکلی گیاه مورد آزمایش بررسی گردید. برای تهیه محلول کربس، مواد ذکر شده در جدول (۱) به وسیله ترازو به‌طور دقیق توزین گردید و در یک لیتر آب مقطر حل گردید. این محلول به‌صورت روزانه تهیه می‌شد.

جدول۱- مواد تشکیل دهنده محلول کربس بر حسب گرم بر لیتر

مواد	وزن مولکولی خالص (گرم)	وزن مولکولی + آب مقطر (گرم)	مقدار خالص برای یک لیتر محلول (گرم)	مقدار مطلق ماده برای یک لیتر محلول (گرم)
سدیم کلرید NaCl	۵۸/۵	–	۷/۰۲	۷/۰۲
سدیم بی‌کربنات NaHco3	۸۴	–	۲/۱	۲/۱
منیزیم سولفات MgSo4	۱۲۰	۲۴۶	۰/۰۶	۰/۱۲۳
مونو پتاسیم فسفات KH2Po4	۱۳۶	–	۰/۱۶۳	۰/۱۶۳
کلرید پتاسیم KCl	۷۴/۵	–	۰/۳۵	۰/۳۵
کلسیم کلرید CaCl2	۱۱۱	۱۴۷	۰/۲۷۷	۰/۳۶۷۵
دکستروز Dextrose	۱۸۰	۱۹۸	۱/۹۸	۲/۱۷۸

آماده‌سازی بافت

اثر اتساعی غلظت‌های تجمعی عصاره آبی-الکلی گیاه بادرنجبویه (۵۰،۱۰۰،۲۰۰ µg/ml) (۱۳) با توجه به اثرات ضدالتهابی آن درمقایسه با سالین (۱ میلی‌لیتر نرمال سالین) به عنوان کنترل منفی و سه غلظت تجمعی تئوفیلین (۰/۸ mM، ۰/۴، ۰/۲)(۱۴) به‌عنوان کنترل مثبت روی بافت‌های آماده شده، مورد آزمایش قرار گرفت. جهت بررسی اثر اتساعی، بافت در دو حالت انکوبه و غیرانکوبه بررسی شد.

در مورد حالت غیرانکوبه ابتدا بافت توسط ماده منقبض‌کننده (۱۰ میکرومول متاکولین) به مدت ۷ دقیقه منقبض شد. سپس در هر آزمایش حجم‌های تجمعی محلول‌های مربوطه (عصاره، سالین و تئوفیلین) به حمام بافت اضافه گردید. پس از اضافه شدن هر کدام از حجم‌ها، بافت به مدت ۵ دقیقه در معرض آن قرار داده شد و سپس اثر آن بر عضله صاف نای اندازه‌گیری شد (۱۵).

در بررسی اثر اتساعی محلول‌های مختلف در بافت انکوبه نیز مراحل فوق تکرار شد، ولی قبل از انقباض، بافت به مدت ۱۰ دقیقه توسط ماده مورد نظر انکوبه گردید (۱۶).

گروه‌های مورد آزمایش

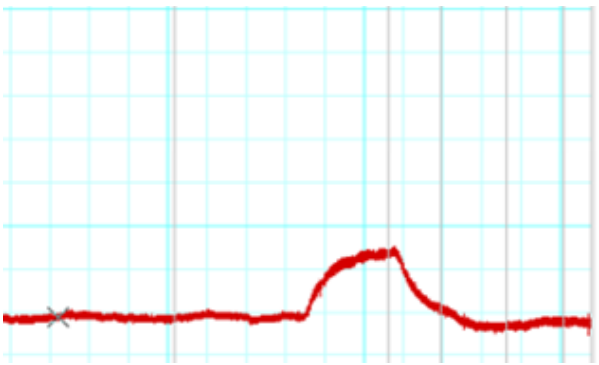
- ✓ اثر اتساعی عصاره آبی ـ الکلی بادرنجبویه بر بافت غیرانکوبه۶ =n
- ✓ اثر اتساعی تئوفیلین بر بافت غیرانکوبه n=۶
- ✓ اثر اتساعی نرمال سالین بر بافت غیرانکوبه۶ =n
- ✓ اثر اتساعی عصاره آبی ـ الکلی بادرنجبویه بر بافت انکوبه

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.333]

شده با پروپرانولول (۱ µM) (n=۶)

- ✓ اثر اتساعی عصاره آبی ـ الکـــلی بادرنجبویه بر بافت انکوبه شده با کلرفنیرامین (۱ µM) (n=۶)
- ✓ اثر اتساعی عصاره آبی ـ الکـــلی بادرنجبویه بر بافت انکوبه شده با آتروپین (۱ µM) (n=۶)

در همه آزمایش‌ها، پاسخ‌ها توسط پاورلب (PowerLab 8/30, ML870, AD Instruments, Australia)، ثبت و اندازه‌گیری شد (تصویر ۱).



تصویر ۱- نمونه ثبت اثر انقباضی متاکولین بر عضله صاف نای و اثر اتساعی عصاره گیاه

کاهش تونوسیته(انقباض) به عنوان اثر اتساعی در نظر گرفته شد و به صورت درصد مثبت نسبت به حداکثر انقباض بیان شد و افزایش تونوسیته به عنوان اثر انقباضی در نظر گرفته شد و به صورت درصد منفی نشان داده شد (۱۷). در همه آزمایش‌ها بین هر دو آزمایش یک ساعت به بافت استراحت داده شد و در این مدت هر ۱۵ دقیقه بافت با محلول کربس شستشو گردید (در این حالت بافت آماده، جهت آزمایش بعدی می‌شد).

محاسبات آماری

همه داده‌ها به صورت میانگین±خطای معیار (mean±SEM) بیان شدند. محاسبات آماری این مطالعه توسط نرم‌افزار SPSS21 انجام گرفت و برای رسم نمودارهای نتایج به‌دست آمده از برنامه Excell 2013 استفاده شد. جهت مقایسه بین‌گروهی از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way Analysis of Variance; ANOVA) و تست تعقیبی Tukey استفاده شد P<۰/۰۵ به‌عنوان معنی‌دار بودن مورد پذیرش قرار گرفت.

یافته‌ها

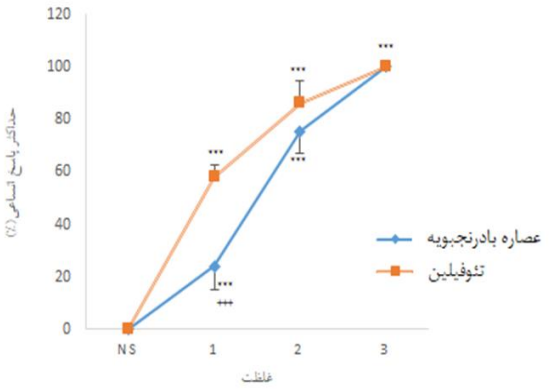
اثر اتساعی همه غلظت‌های تئوفیلین (۰/۲ mM ، ۰/۴، ۰/۸) و عصاره (۵۰،۱۰۰،۲۰۰ µg/ml) در مقایسه با سالین به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (P<۰/۰۰۱ درتمامی موارد).

اثر اتساعی غلظت کم عصاره (۵۰ µg/ml) به‌طور معنی‌داری، از اثر اتساعی غلظت کم تئوفیلین (۰/۲ mM) کمتر بود (P<۰/۰۰۱)، ولی در غلظت‌های متوسط و زیاد عصاره (۱۰۰ µg/ml) و (۲۰۰ µg/ml) اثر اتساعی آن‌ها شبیه تئوفیلین بود و تفاوت معنی‌داری با غلظت‌های متوسط (۰/۴ mM) و زیاد تئوفیلین (۰/۸ mM) مشاهده نشد (نمودار ۱).

اثر اتساعی غلظت‌های مختلف عصاره (۵۰،۱۰۰،۲۰۰ µg/ml) بر انقباض حاصل از متاکولین در بافت انکوبه با پروپرانولول و غیرانکوبه در مقایسه با سالین به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (P<۰/۰۰۱ درتمامی موارد)؛ اما هیچ تفاوت معنی‌داری بین اثر اتساعی غلظت‌های مختلف عصاره بر انقباض حاصل از متاکولین در بافت انکوبه با پروپرانولول و غیرانکوبه وجود نداشت (نمودار۲).

اثر اتساعی غلظت‌های مختلف عصاره (۵۰،۱۰۰،۲۰۰ µg/ml) بر انقباض حاصل از متاکولین در بافت انکوبه با کلرفنیرامین و آتروپین و غیرانکوبه نیز در مقایسه با سالین به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (P<۰/۰۰۱)؛ اما اثر اتساعی غلظت‌های مختلف عصاره بر انقباض حاصل از متاکولین در بافت انکوبه با کلرفنیرامین و آتروپین در مقایسه با بافت غیرانکوبه به‌طور معناداری کاهش یافت (P<۰/۰۰۱) (نمودار ۳و۴).

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.333]

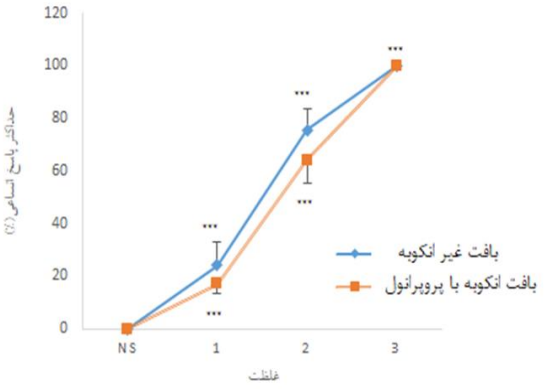


نمودار ۱- منحنی غلظت-پاسخ اثر اتساعی غلظت‌های ۱، ۲، ۳ برای تئوفیلین (۰/۸ mM، ۰/٤، ۰/۲) (n=6 و) و عصاره به‌ترتیب (۵۰،۱۰۰،۲۰۰ µg/ml) (n=6 و) بر انقباض حاصل از متاکولین در بافت غیرانکوبه

در ابتدای هر آزمایش اثر اتساعی یک میلی‌لیتر سالین آزمایش شد که با NS در منحنی مشخص شده است. نتایج به‌صورت میانگین±خطای معیار ارائه شده‌اند.

P<۰/۰۰۱ *** مقایسه اثر اتساعی غلظت‌های عصاره و تئوفیلین با سالین

P< ۰/۰۰۱ +++ مقایسه اثر اتساعی غلظت‌های عصاره با تئوفیلین



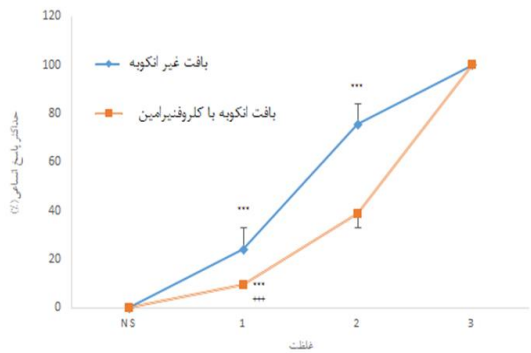
نمودار ۲- منحنی غلظت پاسخ اثر اتساعی سه غلظت ۱، ۲، ۳ عصاره (۵۰،۱۰۰،۲۰۰ µg/ml) بر انقباض حاصل از متاکولین در بافت انکوبه با پروپرانولول (n=6 و) و مقایسه آن با بافت غیرانکوبه (n=6 و)

در ابتدای هر آزمایش اثر اتساعی یک میلی‌لیتر سالین آزمایش شد که با NS در منحنی مشخص شده است.

نتایج به‌صورت میانگین±خطای معیار ارائه شده‌اند.

P<۰/۰۰۱ *** مقایسه اثر اتساعی غلظت‌های عصاره با سالین

اختلاف آماری در اثر اتساعی غلظت‌های مختلف عصاره بین بافت انکوبه با پروپرانولول و بافت غیرانکوبه وجود نداشت.

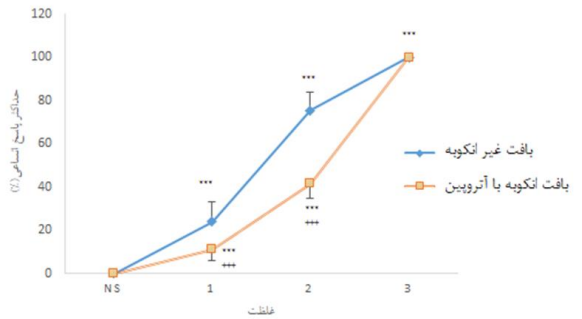


نمودار ۳- منحنی غلظت پاسخ اثر اتساعی سه غلظت ۱، ۲، ۳ عصاره (۵۰،۱۰۰،۲۰۰ µg/ml) بر انقباض حاصل از متاکولین در بافت انکوبه با کلرفنیرامین (n=6 و) و مقایسه آن با بافت غیرانکوبه (n=6 و)

در ابتدای هر آزمایش اثر اتساعی یک میلی‌لیتر سالین آزمایش شد که با NS در منحنی مشخص شده است.

نتایج به‌صورت میانگین±خطای معیار ارائه شده‌اند. P<۰/۰۰۱ *** مقایسه اثر اتساعی غلظت‌های عصاره با سالین

P<۰/۰۰۱ +++ مقایسه اثر اتساعی عصاره در بافت انکوبه با کلروفنیرامین با بافت غیرانکوبه



نمودار ٤- منحنی غلظت پاسخ اثر اتساعی سه غلظت ۱، ۲، ۳ عصاره (۵۰،۱۰۰،۲۰۰ µg/ml) بر انقباض حاصل از متاکولین در بافت انکوبه با آتروپین (n=6 و) و مقایسه آن با بافت غیرانکوبه (n=6 و)

در ابتدای هر آزمایش اثر اتساعی یک میلی‌لیتر سالین آزمایش شد که با NS در منحنی مشخص شده است.

نتایج به‌صورت میانگین±خطای معیار ارائه شده‌اند. P<۰/۰۰۱ *** مقایسه اثر اتساعی غلظت‌های عصاره با سالین

P<۰/۰۰۱ +++ مقایسه اثر اتساعی عصاره در بافت انکوبه با آتروپین با بافت غیرانکوبه

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.333]

بحث

علی‌رغم پیشرفت‌های درمانی، بروز بیماری‌های مزمن التهابی ریه هرساله به علت آلودگی هوا، دود سیگار و خطرات شغلی افزایش می‌یابد. این بیماری‌های ناتوان‌کننده نه‌تنها بر کیفیت زندگی بیمار تأثیر می‌گذارد، بلکه بار زیادی را در نظام مراقبت‌های بهداشتی و همچنین بخش اقتصادی-اجتماعی کشور ایجاد می‌کند. علاوه‌بر این، گزینه‌های درمانی فعلی محدود هستند و ممکن است در همه گروه‌های بیماران مؤثر نباشد. ازاین‌رو، گزینه‌های درمانی جدید با اثربخشی بیشتر به‌عنوان درمان‌های فرعی یا جایگزین موردنیاز است. انتقال دهنده‌های عصبی، واسطه‌ها و داروهای مختلف بر عضله صاف مجاری هوا تأثیر می‌گذارند که عملکرد بیشتر آن‌ها توسط گیرنده‌های سطح سلول رقم می‌خورد. پژوهش‌ها نشان دادند آگونیست‌های گیرنده‌های β2 آدرنرژیک، آنتاگونیست‌های گیرنده هیستامین H1 و گیرنده‌های استیل‌کولینی و متیل گزانتین‌ها می‌توانند موجب اتساع عضله برونش گردند (۸). تاکنون، گشادکننده‌ها و تنگ‌کننده‌های برونش مختلفی شناسایی شده‌اند (۱۷). اگرچه، اثرات گشادکنندگی عروقی بادرنجبویه (۱۸) و اثر اتساعی آن بر ایلئوم (۱۹) و بافت رحم (۲۰) گزارش شده است؛ اما تاکنون، اثر اتساعی و یا گشادکنندگی بادرنجبویه بر مجاری هوایی نشان داده نشده است. لذا این مطالعه با هدف ارزیابی اثرات اتساعی عصاره آبی-الکلی بادرنجبویه و بررسی نقش گیرنده‌های H1 و گیرنده‌های β2 آدرنرژیک و گیرنده‌های موسکارینی در عضله صاف نای جدا شده از موش صحرایی انجام گرفت. با توجه به اینکه از میان ترکیبات متیل گزانتین، تئوفیلین مؤثرترین متسع‌کننده برونش است، نتایج با تئوفیلین و سالین مقایسه گردید.

نتایج این مطالعه اثرات اتساعی وابسته به غلظت عصاره بادرنجبویه در بافت غیرانکوبه که توسط متاکولین منقبض شده است را نشان داد، به گونه‌ای که این اثر اتساعی در غلظت‌های زیاد اختلاف معنی‌داری با تئوفیلین نداشت. بنابراین، احتمالاً ترکیب مورد مطالعه در این پژوهش، بتوانند در مجاری تنفسی بیماری که به دلیل انقباض راه هوایی تنفس دشواری دارد، اثر اتساعی خود را اعمال کنند و در بهبود تنفس فرد مؤثر واقع شوند.

برای ارزیابی تأثیر ترکیبات مورد بررسی بر گیرنده‌های هیستامین H1 و گیرنده‌های β2 آدرنرژیک و گیرنده‌های موسکارینی استیل کولینی به ترتیب اثرات اتساعی آن‌ها بر روی قطعه جدا شده نای انکوبه شده با کلرفنیرامین و پروپرانولول و آتروپین بررسی شد. اثرات اتساعی همه غلظت‌های عصاره در بافت انکوبه شده با کلرفنیرامین و آتروپین به‌طور معنی‌داری کمتر از بافت‌های غیرانکوبه بود. درحالی که در بافت انکوبه شده با پروپرانولول تفاوت معنی‌داری در اثر اتساعی غلظت‌های عصاره با بافت غیرانکوبه وجود نداشت.

اتساع مجاری تنفسی از طریق استفاده از آگونیست‌های گیرنده β2آدرنرژیک (با تبدیل[1] ATP به cAMP[2] از طریق تحریک آدنیل سیکلاز[3]) صورت می‌گیرد. همان‌طور که گفته شد اثر اتساعی معنی‌دار و وابسته به غلظت عصاره در عضله صاف نای انکوبه شده با پروپرانولول مشاهده شد که با اثر آن بر بافت‌های غیرانکوبه تفاوت معنی‌داری نداشت. این نتایج گویای این مطلب است که اثر اتساعی گیاه بادرنجبویه بر عضله صاف نای احتمالاً به علت اثر تحریکی گیرنده‌های بتا آدرنرژیک نیست. چراکه اگر این‌چنین بود، اثر اتساعی آن باید مهار و یا حداقل در بافت انکوبه با پروپرانولول کاهش می‌یافت (۱۶, ۱۵).

اثر اتساعی مهارکننده‌های گیرنده‌های موسکارینی قبلاً مشاهده شده است (۲۱). ازاین‌رو از داروهای مهارکننده موسکارینی به‌عنوان برونکودیلاتوراستفاده می‌شود (۲۲). تحریک گیرنده موسکارینی باعث فعال شدن فسفولیپاز C می‌شود که آنزیم فسفاتیدیل اینوزیتول ۴-، ۵ بیس فسفات (PIP_2) را به دو پیامبر ثانویه دی آسیل گلیسرول (DAG) و اینوزیتول ۱، ۴ و ۵ تری فسفات (IP_3) تجزیه می‌کند. IP_3 سبب آزادسازی یون کلسیم از طریق اتصال به کانال‌های کلسیمی وابسته به لیگاند در غشاهای وزیکول‌های ذخیره‌ای داخلی می‌شود. کلسیم به پروتئین کالمودولین متصل شده و فرآیند انقباض در عضله صاف رخ می‌دهد (۲۳). یافته‌های این پژوهش اختلاف معنی‌داری بین اثر اتساعی عصاره گیاه بر انقباض

[1] Adenosine triphosphate (ATP)
[2] cyclic adenosine monophosphate (cAMP)
[3] Adenylate cyclase

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.333]

حاصل از متاکولین در بافت‌های غیرانکوبه و بافت انکوبه شده با آتروپین نشان داد که اثر مهاری گیاه بر گیرنده‌های موسکارینی را نشان می‌دهد و بنابراین شاید، این مکانیسم مسئول اثر اتساعی بادرنجبویه بر عضله صاف نای باشد.

در پژوهش‌های پیشین اثر اتساعی داروهای مهار کننده گیرنده هیستامینی (H_1) بر عضله صاف نای (اثر برونکودیلاتوری) نیز گزارش شده است (۲۴). تحریک گیرنده هیستامینی باعث فعال شدن فسفولیپاز C می‌شود که باعث تبدیل PIP_2 به DAG و IP_3 می‌شود. IP_3 سبب آزادسازی یون کلسیم از طریق اتصال به کانال‌های کلسیمی وابسته به لیگاند در غشاهای وزیکول‌های ذخیره‌ای داخلی می‌شود. کلسیم به پروتئین کالمودولین متصل شده و فرآیند انقباض در عضله صاف رخ می‌دهد (۲۵). کلرفنیرامین مالئات یک ترکیب ضدهیستامینی با اثر انتخابی بر روی گیرنده‌های هیستامین H_1 می‌باشد و این گیرنده‌ها را به‌طور رقابتی و برگشت‌پذیر مهار می‌کند. کلرفنیرامین باعث مهار تنگی برونش و انقباض عضلات صاف دستگاه گوارش ناشی از آزادسازی هیستامین می‌شود (۲۶). اثر اتساعی دارای اختلاف معنی‌دار عصاره، بین بافت‌های غیرانکوبه و انکوبه شده با کلرفنیرامین در این گروه می‌تواند نشان دهنده اثر مهاری عصاره گیاه بر گیرنده‌های هیستامینی (H_1) در عضله صاف نای و نقش مهار این گیرنده‌ها در بروز اثر اتساعی گیاه می‌باشد.

هیستامین به‌عنوان واسطه‌ی مهم التهاب، یک ماده گشادکننده عروق قوی است که نفوذپذیری عروقی را افزایش می‌دهد (۲۷). اثر انقباضی (تنگ‌کنندگی) برونش هیستامین به واسطه گیرنده‌های H1 است (۲۸). تصور می‌شود که ترکیبات موجود در عصاره آبی الکلی گیاه بادرنجبویه نظیر رزمارینیک اسید عامل بازدارنده تکثیر ماست-سل‌ها و انتشار واسطه‌های شیمیایی از آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی in -vitroدر رده‌های سلولی می‌باشد (۲۹). علاوه‌بر آن محققین نشان دادند که رزمارینیک اسید سطح هیستامین در رینیت آلرژیک را کاهش می‌دهد (۳۰). اما اثر مهاری احتمالی گیاه بادرنجبویه و ترکیبات موجود در آن بر گیرنده‌های هیستامینی تاکنون گزارش نشده است. بررسی حاضر اطلاعات جدیدی راجع به اثر اتساعی عضلات صاف نای توسط عصاره آبی-الکلی گیاه بادرنجبویه ارائه می‌دهد.

نتیجه‌گیری

اثر اتساعی وابسته به غلظت با غلظت‌های تجمعی عصاره آبی-الکلی بادرنجبویه احتمالاً به علت اثر مهاری آن بر گیرنده‌های هیستامینی (H1) و موسکارینی استیل‌کولینی می‌باشد. اثر اتساعی کمتر غلظت‌های عصاره گیاه بر روی بافت‌های انکوبه شده با کلرفنیرامین و آتروپین در مقایسه با اثرات به‌دست آمده در بافت‌های انکوبه شده با پروپرانولول نیز از این مکانیزم عمل، برای ترکیب مذکور حمایت می‌کند.

تقدیر و تشکّر

مقاله حاضر از رساله دکتری فیزیولوژی با عنوان "بررسی اثرات عصاره آبی-الکلی بادرنجبویه و ماده مؤثر آن بر فاکتورهای مرتبط با سیستم ایمنی و تغییرات پاتولوژیک ریه در رت‌های نر مبتلا به آسم تجربی" استخراج شده و نویسندگان از کارکنان مرکز آزمایشگاه طب تجربی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند که در انجام این پژوهش همکاری لازم را مبذول داشتند کمال تشکر و قدردانی را دارند.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر پس از تأیید شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند و کمیته اخلاق آن دانشگاه با کد IR.BUMS.REC.1400.272 انجام شد.

حمایت مالی

این پژوهش با هزینه شخصی نویسندگان مقاله انجام گردیده است.

مشارکت نویسندگان

تهیه پروپوزال، انجام پژوهش، جمع‌آوری، آنالیز داده‌ها و نوشتن مقاله توسط وحیده سادات عباس‌نیا

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.333]

پیشنهاد طرح، آموزش بخش تئوری و عملی کار، بررسی ویراستاری مقاله توسط جناب آقای دکتر محمدرضا خزدیر
راهنمایی در حین انجام پژوهش توسط سرکار خانم دکتر اسلیمی
مشاوره توسط سرکار خانم دکتر عریان و جناب آقای دکتر محسن فؤادالدینی

تضاد منافع

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

منابع:

1- Shariat M, Rostamian A, Moayeri H, Shariat M, Sharifi L. A review on the relation between obesity and vitamin D with pediatric asthma, and a report of a pilot study in Tehran. Tehran Univ Med J. 2020; 78(5): 274-83 URL: http://tumj.tums.ac.ir/article-1-10596-en.html

2- Keyhanmanesh R, Rahbarghazi R, Aslani MR, Hassanpour M, Ahmadi M. Systemic delivery of mesenchymal stem cells condition media in repeated doses acts as magic bullets in restoring IFNgamma/ IL-4 balance in asthmatic rats. Life Sci. 2018; 212: 30-6. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.09.049

3- Long JW, Yang XD, Cao L, Lu SM, Cao YX. Alteration of airway responsiveness mediated by receptors in ovalbumin-induced asthmatic E3 rats. Acta Pharmacologica Sinica. 2009; 30: 965–72. DOI: 10.1038/aps.2009.61

4- Cevhertas L, Ogulur I, Maurer DJ, Burla D, Ding M, Jansen K, et al. Advances and recent developments in asthma in 2020. Allergy. 2020; 75(12): 3124-46. DOI: 10.1111/all.14607

5- Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. Allergy. 2004; 59(5): 78-469. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2004.00526.x

6- Chapman DG, Irvin CG. Mechanisms of Airway Hyperresponsiveness in Asthma: The Past, Present and Yet to Come. Clin Exp Allergy. 2015; 45(4): 706-19. DOI: 10.1111/cea.12506

7- Boskabody MH, Shaikhi J. Inhibitory effect of carum–copiticum on histamin (H1) receprots of isolated glinea–pig thracheal chain. J Ethnopharmacol. 2000; 69(3): 217 – 27. DOI: 10.1016/s0378-8741(99)00116-6

8- Rojas-Zamorano JA, Esqueda-Leon E, Jimenez-Anguiano A, Cintra-McGlone L, Melendez MM, Moctezuma JV. The H1 histamine receptor blocker, chlorpheniramine, completely prevents the increase in REM sleep induced by immobilization stress in rats. Pharmacol Biochem Behav. 2009; 91(3): 291-4 DOI: 10.1016/j.pbb.2008.07.011

9- Maleki SJ, Crespo JF, Cabanillas B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. Food Chem. 2019; 299(30): 125124. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125124

10- Hanganu D, Vlase L, Filip L, Sand C, Mirel S, LL. I. The study of some polyphenolic compounds from Melissa officinalis L. (Lamiaceae). Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi. 2008; 112(2): 525–9. PMID: 19295032

11- Arceusz A, Wesolowski M. Quality consistency evaluation of Melissa officinalis L. commercial herbs by HPLC fingerprint and quantitation of selected phenolic acids. J Pharm Biomed Anal. 2013; 83: 215–20. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.05.020

12- Nabiuni M, Panahandeh SR, Doostikhah S, Karimzadeh Bardei L. The effects of hydro-alcoholic extract of raspberry fruit on ovarian follicles and serum parameters in poly cystic ovary syndrome-induced rat. ArmaghanJ. 2015; 19(11): 955-68. [Persian] URL: http://armaghanj.yums.ac.ir/article-1-86-en.html

13- Kazemi Rad H, Memarzia A, Amin F, Boskabady MH. Relaxant Effect of Urginea maritima on Tracheal Smooth Muscle Mediated by the Effect on Beta-2 Adrenergic, Muscarinic Receptors and Calcium and Potassium Channels. Evid Based Complement Alternat Med. 2021; 20 :6637990. DOI: 10.1155/2021/6637990

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.333]

14- Memarzia A, Amin F, Saadat S, Jalali M, Ghasemi Z, Boskabady MH. The contribution of beta-2 adrenergic, muscarinic and histamine (H1) receptors, calcium and potassium channels and cyclooxygenase pathway in the relaxant effect of Allium cepa L. on the tracheal smooth muscle. J Ethnopharmacol. 2019; 15: 241: 112012. DOI: 10.1016/j.jep.2019.112012

15- Boskabady MA, Aslani MR. Relaxant effect of Crocus sativus (saffron) on guinea-pig tracheal chains and its possible mechanisms. J Pharm Pharmacol. 2006; 58(10): 1385-90. DOI: 10.1211/jpp.58.10.0012

16- Koushyar H, Koushyar MM, Byrami G, Feizpour A, Golamnezhad Z, Boskabady MH. The effect of hydroethanol extract of Achillea millefolium on [beta]-adrenoceptors of guinea pig tracheal smooth muscle. Indian J Pharm Sci. 2013; 75(4): 400-5. DOI: 10.4103/0250-474X.119810

17- Saadat S, Boskabadi J, Boskabady MH. Contribution of potassium channels, beta2-adrenergic and histamine H1 receptors in the relaxant effect of baicalein on rat tracheal smooth muscle Iran J Basic Med Sci. 2019:1347-52. DOI 10.22038/ijbms.2019.36377.8666

18- Ersoy S, Orhan I, Turan NN, Şahan G, Ark MU, Tosun F. Endothelium-dependent induction of vasorelaxation by Melissa officinalis L. ssp. officinalis in rat isolated thoracic aorta. Phytomedicine 2008; 15(12): 1087-92DOI: 10.1016/j.phymed.2008.05.007

19- Sadraei H, Ghannadi A, Malekshahi K. Relaxant effect of essential oil of Melissa officinalis and citral on rat ileum contractions. Fitoterapia. 2003; 74(5): 445-52. DOI: 10.1016/s0367-326x(03)00109-6

20- Mirabi P, Namdari M, Alamolhoda S, Mojab F. The effect of Melissa officinalis extract on the severity of primary dysmenorrha. Iran J Pharm Res. 2017; 16(Suppl): 171-7. PMID: 29844788

21- Cazzola M, Calzetta L, Matera MG. Long-acting muscarinic antagonists and small airways in asthma: Which link?. Allergy. 2021; 76(7): 1990–2001. DOI: 10.1111/all.14766

22- Spina D. Current and novel bronchodilators in respiratory disease. Curr opin pulm med. 2014; 20(1): 73-86. DOI: 10.1097/MCP.0000000000000012

23- Andersson KE, Arner A. Urinary Bladder Contraction and Relaxation: Physiology and Pathophysiology. Physiol Rev. 2004; 84(3):935-86. DOI: 10.1152/physrev.00038.2003

24- Yamauchi K, Ogasawara M. The Role of Histamine in the Pathophysiology of Asthma and the Clinical Efficacy of Antihistamines in Asthma Therapy .Int J Mol Sci. 2019; 20(7): 1733; DOI: 10.3390/ijms20071733

25- Martin JG, Lauzon AM. Airway smooth muscle function in asthma. Front Physiol. 2022; 13: 993406. https://doi.org/10.3389/fphys.2022.993406

26- Emami B, Shakeri F, Ghorani V, Boskabady MH. Relaxant effect of Curcuma longa on rat tracheal smooth muscle and its possible mechanisms. Pharm Biol. 2017; 55(1): 2248–58. DOI: 10.1080/13880209.2017.1400079

27- Repka-Ramirez MS, Baraniuk JM. Histamine in health and disease. Histamine and H1-antihistamines in allergic disease. Clin Allergy Immunol. 2002; 17: 1-25. PMID: 12113214

28- Saadat S, Yasavoli M, Gholamnezhad Z, Aslani MR, Boskabady, MH. The Relaxant Effect of Crocin on Rat Tracheal Smooth Muscle and Its Possible Mechanisms. Iran J Pharm Res. 2019; 18(3): 1358-70. DOI: 10.22037/ijpr.2019.1100713

29- Nadeem A, Masood A, Siddiqui N. Oxidant–antioxidant imbalance in asthma: scientific evidence, epidemiological data and possible therapeutic options. Ther Adv Respir Dis. 2008; 2(4): 215-35. DOI: 10.1177/1753465808094971

30- Fonteles AA, de Souza CM, de Sousa Neves JC, Menezes AP, do Carmo MR, Fernandes FD, et al. Rosmarinic acid prevents against memory deficits in ischemic mice. Behav Brain Res. 2016; 297: 91-103. DOI: 10.1016/j.bbr.2015.09.029

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.333]