مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۵، شماره ۶، بهمن و اسفند ۱۳۹۹(شماره پی در پی ۱۴۳)

تأثیر عصاره هیدرو الکلی برگ آلوئه‌ورا بر حرکات کولون ایزوله موش صحرایی نر و تداخل اثر آن با سیستم‌های کولینرژیک، آدرنرژیک و نیتریک اکسید

مریم دیده جهان*، امین الله بهاءالدینی

گروه زیست شناسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۸/۰۶/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: برگ گیاه آلوئه‌ورا(صبر زرد) از دیرباز در طب و تغذیه مورد استفاده جوامع مختلف بوده است. برخی اثرات فیزیولوژیک این گیاه از قدیم در جهت درمان برخی از اختلالات گوارشی نظیر زخم معده، برگشت اسید معده به مری مورد استفاده بوده است. لذا هدف از این مطالعه تعیین و تأثیر عصاره هیدروالکلی برگ آلوئه‌ورا بر حرکات کولون ایزوله موش صحرایی نر و تداخل اثر آن با سیستم‌های کولینرژیک، آدرنرژیک و نیتریک اکسید بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۵انجام شد، تعداد ۲۵ موش وارد مطالعه شده و از بین آنها ۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با میانگین وزنی بین ۱۸۰ تا ۲۵۰ گرم و سه ماه سن به طور تصادفی انتخاب شدند. موش‌ها به مدت یک هفته در شرایط کنترل شده نور(سیکل ۱۲ ساعته تاریکی و روشنایی) و دمای ۲±۲۲ درجه سانتی گراد و آب و غذای کافی نگهداری شدند. موش های صحرایی نر بالغ ابتدا به وسیله اتیل اتر بیهوش و سپس بافت کولون (بخش صعودی) آنها جدا و به قطعات یک سانتی‌متری تقسیم شد. قطعات به ترانسدیوسر نیرو به صورت طولی آویزان شد و به درون حمام‌های بافتی محتوی محلول تیرود اکسیژنه ۳۷ درجه سانتی‌گراد و PH =۷/۴ فرو برده شد. فعالیت مکانیکی قطعات به‌وسیله ترانسدیوسر ایزوتونیک نیرو و دستگاه پاورلب در حالت پایه، در پاسخ به استیل کولین 10^{-6} مولار، آتروپین $1/7 \times 10^{-3}$ مولار، اپی نفرین 10^{-6} مولار، پروپرانولول 10^{-6} مولار و مهارکننده آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز 10^{-4} مولار در حضور عصاره هیدروالکلی ثبت گردید، همچنین فعالیت مکانیکی قطعات گروه کنترل در شرایط مشابه با حلال عصاره ثبت شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون آماری تی مستقل و با در نظر گرفتن $p\leq 0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: فعالیت مکانیکی بافت در حضور عصاره، نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت. همچنین کاهش معنی‌داری در فعالیت مکانیکی بافت در حضور توأم عصاره و پروپرانولول در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد، ولی تفاوت معنی‌داری در حضور استیل کولین، آتروپین، اپی‌نفرین، مهارکننده آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز(L-NAME) و عصاره در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد($p\leq 0/05$).

نتیجه‌گیری: این تحقیق نشان داد که عصاره هیدروالکلی برگ آلوئه‌ورا دارای اثر تعدیل کنندگی بر حرکات کولون می‌باشد که این اثر ممکن است مرتبط با سیستم کولینرژیک و نیترژیک و مستقل از سیستم آدرنرژیک باشد.

واژه های کلیدی: آلوئه‌ورا، سیستم آدرنرژیک، سیستم کولینرژیک، سیستم نیتریک اکسید، موش صحرایی، کولون

***نویسنده مسئول: مریم دیده جهان**، شیراز، دانشگاه شیراز، گروه زیست شناسی

Email: mdidehjahan@gmail.com

مقدمه

یکی از گیاهان مهم دارویی که در طب سنتی و طب مدرن اثرات مختلفی دارد، گیاه آلوئه‌ورا یا صبر زرد است که از دیرباز در درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده بوده است(۱).

گیاه آلوئه‌ورا (*Aloe vera*(L.)Brum.f) گیاهی گل‌دار، تک‌لپه‌ای و متعلق به تیره Xanthorrhoeaceae است. این گیاه بوته‌ای، دایمی‌با ارتفاع ۹۰-۷۰ سانتی‌متر، برگ‌ها ضخیم و گوشتی و سرنیزه‌ای شکل فاقد دمبرگ، حاشیه برگ دارای خارهای نوک تیز بوده و برگ‌ها به صورت قاعده‌ای قرار گرفته به رنگ سبز یا مایل به قرمز هستند. گل‌ها بر روی گل آذین سنبله‌ای به طول ۱ تا ۱/۵ متر ظاهر می‌شود. گل در گونه آلوئه‌ورا زرد رنگ است و در فصل زمستان ظاهر می‌شود. میوه به صورت کپسول است(۲). این گیاه در اصل بومی مناطق استوایی و جنوبی آفریقا، ماداگاسکار و عربستان هستند، ولی به نقاط دیگر دنیا نیز راه یافته‌اند. اکثر گونه‌های آن مصرف دارویی دارند(۳). بخش دارویی گیاه محتویات برگ یا ژل گیاه است، از گیاه صبر زرد به شکل های متفاوت(ژل و عصاره تازه و غلیظ شده، پودر عصاره و ژل، مایع ژلاتینی استخراجی از برگ) در تهیه داروهای گیاهی، مواد آرایشی و در صنعت استفاده می‌گردد(۴).

این ترکیبات فعال زیستی در درمان‌های مختلفی نظیر؛ تسکین درد مفاصل(۵)، تقویت سیستم ایمنی بدن(۶)، درمان زخم‌ها و جراحات پوستی، آسم و اختلالات گوارشی(۸ و۷) تأثیر به سزایی دارد.

دو نوع مشخص از انقباضات در حرکات کولون دخیل هستند: ۱)انقباضات فازیک- ریتمیک: این نوع انقباضات، مخلوط شدن محتویات لومنی را سبب می‌گردد، سلول‌های مسئول برای تولید انقباضات فازیک ریتمیک، سلول‌های بینابینی کاجال است(۹). ۲)انقباضات بزرگ در حال مهاجرت: این انقباضات مثل حرکات سیگموئید، نیروی محرکه لازم برای دفع را رواج می‌دهد. این حرکات بسیار پیچیده هستند و فعال‌سازی اعصاب سمپاتیک و پاراسمپاتیک بیرونی و اینترنورون‌هایی در شبکه میانتریک را درگیر می‌کند، که نورون‌های حرکتی انتریکی تحریکی و مهاری را تأمین می‌کند(۱۰). برخی پژوهش‌ها حاکی از تأثیر برخی ترکیبات عصاره آلوئه‌ورا بر دستگاه گوارش می‌باشند. از جمله مشخص شده که گیاه آلوئه‌ورا خاصیت تحریک کنندگی موکوس را دارد(۱۱). مشخص شده عصاره آبی آلوئه‌ورا ترشح اسید معده را مهار می‌کند. هم‌چنین در بخش دیگری دیده شده که اسید معده به طور نامحسوسی به دنبال القای اولسر افزایش یافت که می‌توان به نقش آوران‌های واگی اشاره کرد، چون اعصاب واگ در بسیاری از رفلکس‌های واگی - واگی سهیم هستند که منجر به افزایش تولید عوامل تهاجمی‌ترشحی(اسید- پپسین) می‌شوند که در پاتوژنز اولسر پپتیک مؤثر است(۱۲). مشخص شده که نیتریک اکسید اثر مهار کننده روی فعالیت حرکتی روده کوچک و کولون دارد، چندین گزارش روی تغییرات

حرکات روده کوچک بعد از مهار سنتز نیتریک اکسید در موش صحرایی می‌باشد که مهار سنتز نیتریک اکسید تا حد زیادی حرکات روده کوچک و کولون را افزایش می‌دهد(۱۳). با توجه به گزارش‌ها و ابهامات موجود در زمینه تأثیر مشتقات آلوئه‌ورا بر دستگاه گوارش، هدف از این تحقیق، تعیین و تأثیر عصاره هیدروالکلی برگ آلوئه‌ورا بر حرکات کولون ایزوله موش صحرایی نر و تداخل اثر آن با سیستم‌های کولینرژیک، آدرنرژیک و نیتریک اکسید بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۵ انجام شد، تعداد ۲۵ موش وارد مطالعه شدند و از بین آنها تعداد ۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با میانگین وزنی بین ۱۸۰ تا ۲۵۰ گرم و سه ماه سن به طور تصادفی انتخاب شدند. موش‌ها به مدت یک هفته در شرایط کنترل شده نور(سیکل ۱۲ ساعته تاریکی و روشنایی) و دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و آب و غذای کافی نگهداری شدند. مسایل اخلاقی در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی نظیر بیهوشی و جراحی، تحت نظر کمیته اخلاق زیستی که مصوب وزارت علوم در بخش زیست‌شناسی تشکیل شده است، انجام شد.

تعداد ۲۵ موش جهت اطمینان از سلامت آن‌ها وارد آزمایشگاه زیست‌شناسی شدند. پس از یک هفته ۲۰ موش با توجه به شرایط کنترل شده نور، دما، آب و غذا به طور تصادفی انتخاب شدند.

موش‌های انتخاب شده برای آزمایش پس از جداسازی کولون حیوان در همان حالت بیهوشی با تزریق داخل بطنی پتاسیم کلراید غلیظ معدوم می‌شدند و باقی مانده موش‌ها که مورد آزمایش قرار نگرفتند، به طور سالم به حیوانخانه برگردانده شدند.

۱۲ ساعت قبل از بیهوش کردن غذای آن‌ها قطع می‌شد و فقط به آب دسترسی داشتند. پس از ۱۲ ساعت حیوانات به وسیله اتر بیهوش و تحت عمل جراحی قرار گرفتند. پس از آن شکم حیوان باز شده و پس از شناسایی کولون، برش از آن تهیه شد. بافت به پتری دیش حاوی محلول تیرود(۳۷ درجه سانتی‌گراد) منتقل و به قطعات ۱ سانتی‌متری تقسیم گردید. برای تجویز هر دارو قطعه مجزا به کار می‌رفت. جهت تهیه ۱ لیتر محلول تیرود از مواد: کلسیم کلراید(۰/۲گرم)، منیزیوم کلراید(۰/۱گرم)، گلوکز(۱گرم)، سدیم کلراید(۸گرم)، پتاسیم کلراید(۰/۲گرم)، سدیم هیدروژن فسفات(۰/۰۵گرم)، سدیم هیدروژن کربنات(۱گرم) استفاده شد. محلول تیرود در تمام طول آزمایش به وسیله پی اچ متر اندازه‌گیری می‌شد تا در حد خنثی(۷/۴) باشد. دو قطعه کولون به طور همزمان به دو حمام بافتی حاوی ۴۰ میلی‌لیتر محلول تیرود منتقل شده و هر قطعه کولون به طور طولی به وسیله دو قلاب در محلول تیرود قرار می‌گرفت. میزان نیروی انقباضی روده ایزوله را در حالت ایزومتریک به وسیله دستگاه ترانسدیوسر متصل به دستگاه پاورلب ساخت شرکت فرانسه و به وسیله نرم‌افزار چارت ـ۵ کالیبره

شده و به این ترتیب تغییرات مکانیکی انقباض بافت به سیگنال‌های الکتریکی تبدیل شده و به وسیله مانیتور کامپیوتر قابل مشاهده و ارزیابی بود. در حالی که بافت در محلول تیرود غوطه ور بود، به وسیله دستگاه گردش آب و ترموستات دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در محلول برقرار بود و به طور دایم با ۹۵ درصد اکسیژن و ۵ درصد دی‌اکسید کربن هوا دهی می‌شد. پس از نصب بافت‌ها و بعد از گذشت مدت زمان ۲۰ دقیقه برای به تعادل رسیدن هر دو بافت در دو چمبر، ابتدا تانسیون پایه بافت‌ها تحت کشش یک گرم ثبت شد. این آزمایش موازی و همزمان با یکدیگر بر روی ۲ قطعه بافت کولون یک حیوان و با طول مشابه و در دو حمام بافتی صورت گرفت. برای به دست آوردن دوز مؤثر، دوزهای مختلفی از داروها و عصاره مورد استفاده را مورد سنجش قرار داده و بعد از مشاهده بهترین و بیشترین پاسخ‌گویی بافت ها به دوزهای به کار برده شده، دوز مؤثر تعیین شد. به عبارت دیگر، عصاره تغلیظ شده را در اتانول ۷۰ درصد حل کردیم که برای ایجاد دوز مؤثر نباید بیش از ۲۵۰ میکرولیتر به محیط اضافه شود که اختلال حجمی بر هم نزند. محلول استاک با غلظت ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه و برای ایجاد دوز مؤثر از این محلول ۲۵۰ میکرولیتر برداشته شد و به محیط اضافه کردیم. با محاسبات انجام شده، محلول ایجاد شده معادل ۱/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر شد که در محیط چمبر معادل ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم است. ابتدا برای حصول اطمینان از سلامت بافت‌ها، داروی استیل کولین با دوز 10^{-6} مولار به هر دو گروه کنترل و آزمایش اضافه گردید و پس از مشاهده انقباضات، بافت‌ها به عنوان بافت سالم مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از اطمینان از سلامت بافت‌ها، با اضافه کردن محلول تیرود ۳۷ درجه سانتی گراد بافت شستشو داده شد و فعالیت مکانیکی آن به مدت ۵ دقیقه در این شرایط ثبت شد. سپس عصاره با دوز مؤثر به چمبر ۱ که به طور تصادفی به عنوان گروه آزمایش و حلال هم حجم عصاره به چمبر ۲ که گروه کنترل در نظر گرفته شده بود، اضافه و فعالیت مکانیکی بافت‌ها برای مدت زمان ۳۰ دقیقه ثبت شد. سپس برای بررسی تداخل اثر این عصاره با سیستم‌های کولینرژیک، آدرنرژیک و نیتریک اکسید داروهای آگونیست و آنتاگونیست این سیستم ها به کار برده شد.

برای مطالعه سیستم کولینرژیک از استیل کولین به عنوان آگونیست گیرنده‌های موسکارینی استفاده شد. بعد از ثبت تانسیون پایه بافت‌ها در هر دو گروه، به دو حمام بافتی استیل کولین با دوز 10^{-6} مولار اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه فعالیت مکانیکی دو قطعه کولون ایزوله در هر دو حمام بافتی ثبت گردید. پس از آن به گروه آزمایش عصاره با دوز مؤثر و به گروه کنترل به همین میزان حلال عصاره اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه فعالیت مکانیکی قطعات کولون ثبت گردید و سپس آتروپین با دوز $1/7 \times 10^{-3}$ مولار به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های موسکارینی استیل

کولین افزوده گشت و انقباضات و پاسخ های قطعات ایزوله کولون صعودی ثبت گردید(قابل ذکر است که برای هر آزمایش، از یک موش چند قطعه بافت کولون در محلول تیرود نگهداری می‌کردیم و برای هر سیستم مورد آزمایش، بافت تعویض می‌شد).

برای تداخل اثر عصاره با سیستم آدرنرژیک بافت جدید را سوار کردیم، ابتدا به وسیله داروی پروپرانولول به عنوان آنتاگونیست رسپتورهای بتا آدرنرژیک با دوز مؤثر 10^{-6} مولار، گیرنده‌های بتا مسدود شده و بعد از گذشت مدت زمان ۱۰ دقیقه برای مسدود شدن گیرنده‌ها، عصاره و حلال آن به ترتیب به دو گروه آزمایش و کنترل اضافه شدند و بعد از مدت زمان ۳۰ دقیقه و مشاهده تانسیون از حالت پایه، داروی اپی نفرین به عنوان آگونیست سیستم آدرنرژیک با دوز مؤثر 10^{-6} مولار افزوده شد و فعالیت بافت ها ثبت گردید.

در نهایت برای سنجش تداخل اثر عصاره با سیستم نیتررژیک، به علت دیر اثر بودن مهارگر آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز ابتدا L-NAME را با دوز مناسب 10^{-4} مولار به هر دو گروه آزمایش و کنترل اضافه کرده و بعد از گذشت حدود یک ساعت، عصاره و حلال به ترتیب به گروه آزمایش و کنترل اضافه شد و فعالیت مکانیکی بافت ایزوله ثبت شد. شایان ذکر است که بعد از پدیدار شدن اثر هر دارو در مرحله اول آزمایش یعنی قبل از تجویز عصاره، چندین بار عمل شستشوی هر دو حمام را با محلول تیرود انجام دادیم تا به حالت اولیه برسد و بعد از آن دوز مؤثر عصاره افزوده می‌شد. پاسخ بافت ایزوله از روده بزرگ نسبت به غلظت مشخص هر دارو که به وسیله دستگاه پاورلب ثبت شده بود با استفاده از نرم افزار چارت ـ ۵ استخراج گردید.

برگ گیاه آلوئه‌ورا از گلخانه دانشکده علوم دانشگاه شیراز جمع‌آوری شد، سپس به وسیله استاد گیاه‌شناسی دانشکده علوم شیراز مورد شناسایی علمی قرار گرفت و نمونه سند مربوط به گیاه بررسی شده به شماره ۵۵۰۲۷ در هرباریوم دانشگاه شیراز نگهداری شد. جهت عصاره گیری برگ ها ابتدا شسته شده سپس در سایه خشک و به وسیله آسیاب برقی پودر شدند؛ سپس پودر حاصل برای تهیه عصاره آبی ـ الکلی به مرکز تحقیقات بعثت برده شد و پودرها به یک ظرف مناسب منتقل شد و به میزان کافی اتانول ۷۰ درصد(۷۳ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد و ۲۷ میلی‌لیتر آب مقطر) به پودر اضافه گردید تا فضای بین پودر را پر کند و به طور کامل حلال سطح آن را بپوشاند؛ سپس با پارافیلم سطح ظرف پوشانده شد و به مدت ۲۴ ساعت سطح به همین حالت گذاشته شد. بعد از ۲۴ ساعت محلول روی سطح پودر به وسیله قیف و کاغذ صافی، صاف گردید و در بشر جداگانه‌ای نگهداری شد. عصاره موجود در دستگاه روتاری تغلیظ شد و سپس در ظروف پتری دیش به منظور حذف حلال به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد تا کاملاً خشک شده و به حالت پودر تبدیل شود. آن

گاه ۰/۴ میلی‌لیتر از عصاره تغلیظ شده در ۲۰ سی‌سی اتانول ۷۰ درصد حل شد و در آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت. پس از تهیه محلول در اتانول ۷۰ درصد، از مقادیر ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میکرو لیتر که به ترتیب معادل ۰/۸، ۱/۶، ۲/۴ و ۳/۲ میلی گرم بر میلی‌لیتر بودند، استفاده شد(حداکثر حجم مجاز برای به هم نخوردن تعادل غلظت داخل چمبر کمتر از ۲۵۰ میکرولیتر می‌باشد) و مشاهده شد که بیشترین پاسخ شل شدگی با دوز ۱/۶ میلی گرم بر میلی لیتر ایجاد می‌شود؛ بنابراین این غلظت به عنوان دوز مؤثر عصاره در نظر گرفته شد. با توجه به این که این پودر از حلال آبی ـ الکلی به دست آمده، طبیعی است که برای حل شدن، از اتانول ۷۰ درصد(الکل اتیلیک) استفاده شود. به منظور حفظ ترکیبات به دست آمده، برای تجویز دوباره اتانول ۷۰ درصد به محیط اضافه شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری تی مستقل تجزیه و تحلیل شدند.

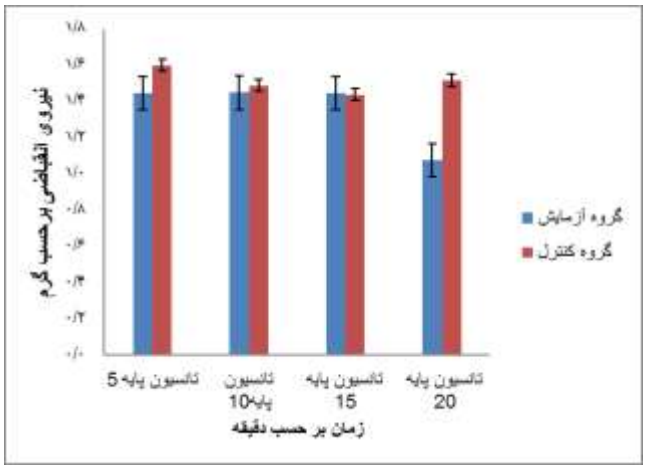
یافته‌ها

همان گونه که در نمودار ۱ مشاهده می شود، فعالیت مکانیکی بافت ایزوله در دو گروه در طی مدت زمان ۲۰ دقیقه تقریباً یکسان می‌باشد. در پاسخ به افزودن استیل کولین با دوز 10^{-6} مولار میزان فعالیت مکانیکی در بافت ایزوله در هر دو گروه افزایش یافته و این افزایش فعالیت در هر دو گروه تقریباً یکسان است(نمودار ۲). در نمودار ۳ چگونگی تغییرات فعالیت مکانیکی در بافت ایزوله در حضور عصاره و حلال آن در دو گروه آزمایش و کنترل نشان داده شده است. پاسخ‌دهی مکانیکی بافت ایزوله به عصاره(۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، که بیشترین درصد شل شدگی کولون ایزوله در این دوز صورت گرفته است) در دو گروه کنترل و آزمایش در دقیقه ۲۸ و ۳۰ تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد.

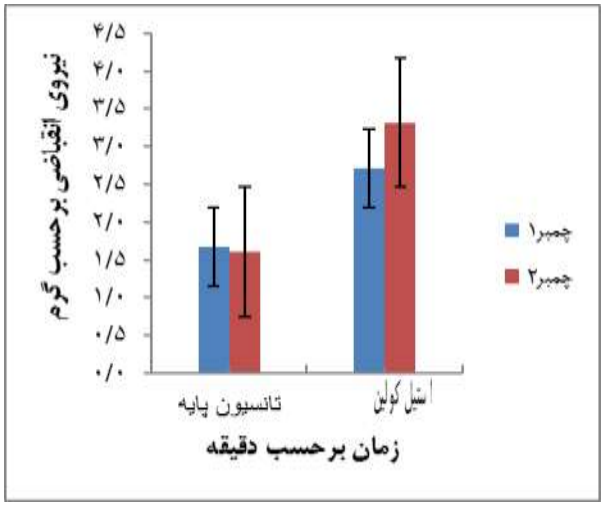
همان‌طور که در نمودار ۴ مشاهده می‌شود، فعالیت انقباضی بافت ایزوله در پاسخ به تجویز 10^{-6} مولار پروپرانولول در دقیقه ۳۰ در حضور عصاره و حلال در دو گروه آزمایش و کنترل، تفاوت معنی‌داری نشان می‌دهد، هم‌چنین میزان فعالیت مکانیکی بافت ایزوله در حضور اپی‌نفرین تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهد.

در نمودار ۵ فعالیت مکانیکی بافت ایزوله به عصاره در حضور مهار کننده آنزیم نیتریک اکسید سنتاز در دو گروه کنترل و آزمایش تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد.

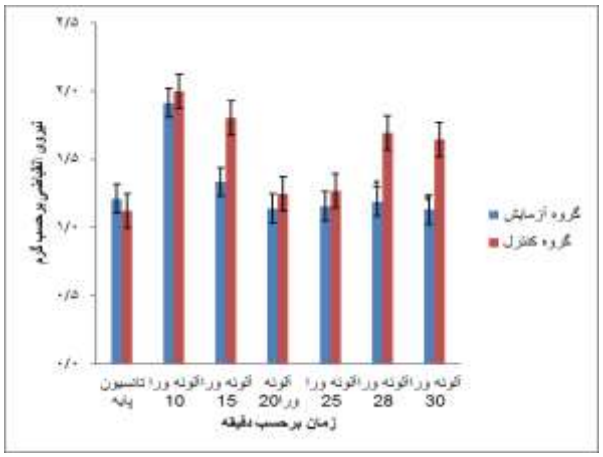
همان‌طور که در نمودار ۶ مشاهده می‌شود، فعالیت انقباضی بافت ایزوله در پاسخ به تجویز استیل کولین 10^{-6} مولار و آتروپین $1/7 \times 10^{-3}$ مولار در حضور عصاره در دو گروه کنترل و آزمایش در بافت ایزوله تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد.



نمودار ۱: فعالیت مکانیکی بافت کولون ایزوله در شرایط پایه در دو گروه آزمایش و کنترل

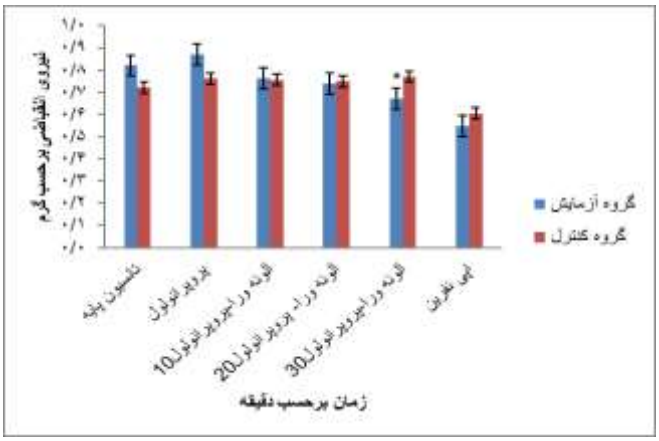


نمودار ۲: تغییرات فعالیت مکانیکی بافت ایزوله در حضور استیل کولین با دوز 10^{-6} مولار در دو گروه آزمایش و کنترل



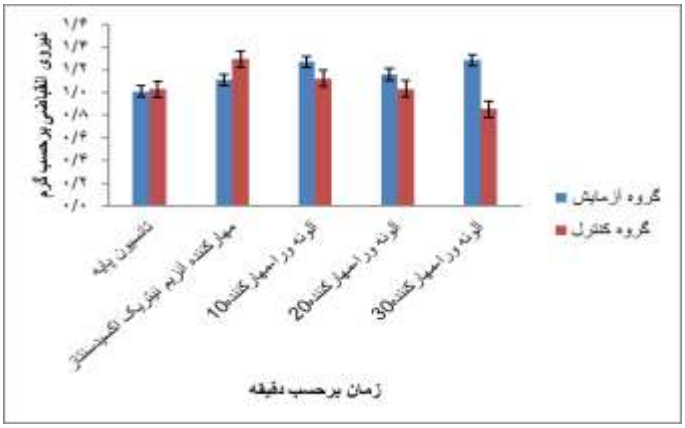
نمودار ۳- تغییرات فعالیت مکانیکی بافت ایزوله در حضور عصاره و حلال آن در دو گروه آزمایش و کنترل

* $p\leq ۰/۰۵$ تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل



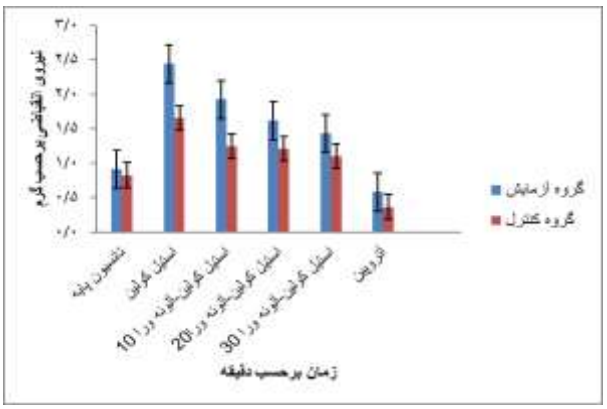
نمودار ۴: تغییرات فعالیت مکانیکی بافت ایزوله در زمان تجویز توأم عصاره، پروپرانولول و اپی نفرین در دو گروه آزمایش و کنترل

* $p\leq 0/05$ تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل



نمودار ۵: تغییرات فعالیت مکانیکی بافت ایزوله به تجویز توأم عصاره و مهار کننده آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز در دو گروه کنترل و آزمایش

مهارکننده= مهارکننده آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز



نمودار۶- تغییرات فعالیت مکانیکی بافت ایزوله به تجویز عصاره و حلال آن توأم با استیل کولین و آتروپین در دو گروه

بحث

با توجه به اختلالات گوارشی به ویژه نارسایی‌های روده بزرگ و کوچک و توصیه‌هایی که اخیراً از طرف متخصصان پزشکی سنتی بر استفاده از گیاهان دارویی برای رفع این نوع اختلالات می‌شود، از طرفی استفاده قابل ملاحظه از آلوئه‌ورا به عنوان افزودنی‌های خوراکی و نوشیدنی‌ها در سبد غذایی جامعه امروز، در مطالعه حاضر از عصاره هیدروالکلی برگ آلوئه‌ورا بر حرکات کولون ایزوله موش صحرایی نر و تداخل اثر آن با سیستم‌های کولینرژیک، آدرنرژیک و نیتریک اکسیداستفاده شد(۸).

بررسی‌های بالینی مشخص کرده است که اجزای فعال دارویی در ژل و بخش سبز رنگ برگ‌های آلوئه‌ورا وجود دارند. ژل حاصل از برگ‌های این گیاه دارای ترکیبات شیمیایی بسیار متنوعی است و به عنوان یک ماده اولیه در ساخت دارو و کرم‌های بهداشتی و آرایشی از اهمیت زیادی برخوردار است(۱۴). هدف این مطالعه بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ آلوئه ورا بر حرکات کولون موش صحرایی نر بود.

همان‌طور که در قسمت نتایج دیده شد، عصاره آلوئه‌ورا با دوزی که استفاده شد، بر حرکات کولون ایزوله اثر مهاری دارد که احتمالاً می‌تواند نتیجه وجود ترکیبات مختلف موجود در گیاه باشد. در مطالعه ریواتی و همکاران نشان داده شده که آنتراکینون حاضر در لاتکس آلوئه‌ورا یک ملین قوی است که باعث تحریک ترشح موکوس، افزایش محتوای آب روده و حرکت دودی روده می‌شود.. هم‌چنین در این تحقیق اشاره شده که نوشیدن آب آلوئه‌ورا باعث پاک شدن دستگاه گوارش می‌شود و اگر کسی دچار اسهال یا یبوست شده باشد، هم اثر ضد اسهال دارد و هم اثر ضد یبوست، که این فعالیت ممکن است به دلیل حضور ترکیبات مختلف موجود در گیاه باشد. با توجه به نتایج تحقیقاتی که ریواتی و همکاران انجام دادند، این اثرات تأییدکننده نتایج حاضر و متفاوت با کار است(۱۵). هم‌چنین طبق تحقیق ایشی و همکاران می‌توان چنین نتیجه گرفت که احتمالاً آلوئه‌ورا خواص اسهال آور دارد که بخشی از آن مربوط به حرکات دودی روده می‌باشد و باعث تشدید این حرکات می‌شود(۱۶).

نتایج پژوهش کاپاسو و همکاران نشان می‌دهد که در کولون ایزوله موش صحرایی خواص ملین آلوئین و ۱و۸ دی‌هیدروکسی آنتراسن ممکن است به دلیل افزایش سنتز پروستاگلاندین به وسیله بافت روده باشد(۱۷). هم‌چنین عماد و همکاران اعلام کردند که این گیاه حداقل دارای ۳ اسید چرب با خاصیت ضد التهابی است که برای معده، روده کوچک و روده بزرگ مفید است. برطرف شدن این التهاب به علت خواص ایمنی‌شناسی پلی‌ساکاریدهای ژل به ویژه استیل ماناز می‌باشد.

همان گونه که در بخش نتایج مشاهده شد، فعالیت مکانیکی بافت ایزوله کولون به عصاره در

حضور مهار کننده آنزیم نیتریک اکسید سنتاز در دو گروه کنترل و آزمایش تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد؛ پس می‌توان چنین نتیجه گرفت که این اثر شل کنندگی عصاره می‌تواند از مسیر نیتریک اکسید نیز باشد. از دیگر پژوهش‌های انجام شده می‌توان به پژوهش‌های ایزو و همکاران اشاره کرد که نشان دادند نیتریک اکسید سنتز شده از اسیدآمینه ال - آرژینین، یک انتقال دهنده عصبی بازدارنده مهم در روده و یک میانجی برای اثر مسهل محصولات حاوی آنترانوئید است. آنها در سال ۱۹۹۶ و ۱۹۹۷ نقش نیتریک اکسید موجود در گیاه سنا را در بروز اسهال در موش صحرایی و در سال ۱۹۹۹، نقش نیتریک اکسید را در اسهال ناشی از آلوئه‌ورا در موش صحرایی بررسی کردند. نویسندگان نتیجه گرفتند که این نتایج نشان می‌دهد که نیتریک اکسید اندوژن اثر اسهال ناشی از آلوئه را تعدیل می‌کند، که با مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱۸).

از دیگر نتایج مطالعه حاضر، این است که فعالیت انقباضی کولون ایزوله در پاسخ به تجویز استیل کولین و آتروپین در حضور عصاره در دو گروه کنترل و آزمایش در بافت ایزوله تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که احتمالاً بین عصاره و سیستم کولینرژیک ارتباط وجود دارد. بر اساس تحقیقی که اُکا و همکاران انجام دادند، مشخص شد که استیل کولین باعث انقباض ایلئوم در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل شد، سپس در اثر عصاره آلوئه‌ورا تغییر قابل توجهی در فرکانس و انقباض پایه ایلئوم موش در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد. این امکان وجود دارد که واکنش فیتوکمیکال‌ها از عصاره این گیاه باعث کاهش کلسیم داخل سلولی می‌شود. این فعالیت در گیاهان از جمله آلوئه‌ورا ممکن است به دلیل حضور ترکیبات گیاهی مانند: ترپنوئیدها، استرول‌ها، فلاونوئیدها، تانن، ترکیبات فنلی و آلکالوئیدها باشد(۱۹).

بر اساس آنچه در نتایج مشاهده شد، فعالیت انقباضی بافت ایزوله کولون در پاسخ به تجویز پروپرانولول در دقیقه ۳۰ در حضور عصاره و حلال در دو گروه آزمایش و کنترل، تفاوت معنی‌داری نشان می‌دهد، هم‌چنین میزان فعالیت مکانیکی بافت ایزوله در حضور اپی‌نفرین نیز تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهد. برخی از پژوهش‌های صورت گرفته در رابطه با اثر شل کنندگی عصاره به وسیله کارلو و همکاران صورت گرفته است، نتایج حاکی از این است که برخی از فلاونوئیدها مانند آپی ژنین، فلاون و کامفرول یک اثر مهاری بر روی عملکرد روده از طریق رسپتورهای آلفا آدرنرژیک و کلسیم دارند(۲۰).

با توجه به محدودیت‌های موجود در زمینه خالص سازی مواد مؤثره گیاه آلوئه ورا، در این تحقیق از عصاره کامل آلوئه ورا استفاده شد.

طبق نتایج به دست آمده، پیشنهاد می‌شود که اثر عصاره آلوئه‌ورا بر فعالیت مکانیکی دیگر قسمت‌های دستگاه گوارش و هم‌چنین کانال‌ها و با سایر آنتاگونیست‌های سیستم آدرنرژیک و

کولینرژیک بررسی شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به این تفاسیر و نتایج به دست آمده، عصاره آلوئه‌ورا در محدوده تحقیقاتی حاضر اثرات تعدیل کنندگی داشته و باعث تحریک روده و افزایش حرکات پریستالتیک می‌شود. بنابراین با افزایش این حرکات محتویات روده تخلیه می‌شود که این فعالیت احتمالاً به دلیل ترکیبات مختلف موجود در گیاه باشد. بنا بر این اثر مهاری و تعدیلی آن احتمالاً مستقل از سیستم آدرنرژیک و وابسته به سیستم نیتررژیک و کولینرژیک می‌باشد.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی گرایش فیزیولوژی با کد اخلاق SU-9330744 دانشگاه شیراز می‌باشد، که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شده است.

REFERENCES

1.Koehn FE, Carter GT. The evolving role of natural products in drug discovery. Nat Rev Drug Discov 2005; 4: 206-20.
2.Nayanakantha NMC, Singh BR, Gupta AK. Assessment of genetic diversity in Aloe germplasm accessions from india using RAPD and morphological markers. Ceylon J Sci 2010; 39: 1-90.
3.Saeidi HA. Systematic plant. J Isfahan Med Sci 2004; 8: 212.
4.Mohammadi Gh. Yellow patience. Tehran Institute of Forestry and Pastures Publications 1994; 8: 11-21.
5.Volger BK, Ernst E. Aloe vera: a systematic review of its clinical effectiveness. Br J Gen Pract 1999; 49: 823-8.
6.Fujita K, Suzuki I, Ochiai J, Shinpo K, Inoue S, Saito H. Specific reaction of aloe extract with serum proteins of various animals. J Experiential 1978; 34: 523-4.
7.Chitra P, Sajithlal G, Chandrakasan G. Influence of aloe vera on the healing of dermal wounds in diabetic rats. J Ethnopharmacol 1998; 59: 195-201.
8.Nath D, Sethi N, Jain AK. Commonly used Indian. abortifacient plants with special refrence to their teratologic effects in rats. J Ethnopharmacol 1992; 36: 147-154.
9.Kato T, Nakamura E, Imaeda K, Suzuki H. Modulation of the activity of two pacemakers by transmural nerve stimulation in circular smooth muscle preparations isolated from the rat proximal colon. J Smooth Muscle Res 2009; 45: 249-68.
10.Benabdallah H, Messaoudi D, Gharzouli K. The spontaneous mechanical activity of the circular smooth muscle of the rabbit colon in vitro. Pharmacol Res 2008; 57: 132-141.
11.Akao T, Che QM, Kobashi K, Hattori M, Namba T. A purgative action of barbaloin is induced by Eubacteviumsp, Strain BAR, a human intestinal anaerobe, Capale of transforming barbaloin to aloe-emodinanthrone. Biol Pharm Bull 1996; 19: 136-8.
12.Sabbghian M, Keshavarzi Z, Bibak B, Vatanchian M, Mohammad Rezapoor T. Effect of extract of Aloe Vera leaf on the response of the brain-intestinal axis following induction of acid-induced gastric ulcer in male rats. J North Khorasan University Med Sci 2014; 6: 347-57.
13.Meile T, Glatzle J, Habermann FM, Kreis ME, Zittel TT. Nitric oxide synthase inhibition results in immediate postoperative recovery of gastric, small intestinal and colonic motility in awake rats. Int J colorectal Dis 2006; 21: 121-9.
14.Atherton P. Aloe vera revisited. Br J Phytother 1998; 4: 74-83.
15.Revathy J. The plant of immortality Aloe vera its therapeutic and medicinal uses. IJARCSSE All Rights Reserved 2015; 5: 84-8.
16.Ishii Y, Tanizawa H, Takino Y. Studies of aloe V mechanism of cathartic effect. Biological & Pharmaceutical Bulletin 1994; 17: 651-3.
17.Capasso F, Mascolo N, Autore G, Desimone F,Senatore F. Effect of indomethacin on aloin and 1,8 dioxi-anthraquinone-induced production of prostaglandins in rat isolated colon. Prostaglandins 1983; 26: 557-62.
18.Izzo AA, Mascolo N, Capasso F. Nitric oxide as a modulator of intestinal water and electrolyte transport. Dig Dis Sci 1998; 43: 1605-20.
19.Oka VO, Ikpi DE, Effiong OO, Nsa AA, Bassey AA. Effect of masfon-aloe vera drink on intestinal motility and transit in wistar albino rats. Br J Med Med Res 2014; 4: 1335-44.
20.Carlo G, Izzo AA, Maiolino P, Mascolo N, Viola P, Diurno MV, et al. Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: structure-activity relationships. J Pharm Pharmacol 1993; 45: 1054-9.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

The Effect of Hydroalcoholic Extract of *Aloe vera* (L.) Brum.F on the Movment of Large Intestine of Male Rats and Its Interaction with Cholinergic, Adrenergic and Nitric Oxide System

Didehjahan M*, Bahaoddini A

Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 19 Sep 2019 Accepted: 18 Nov 2020

Abstract

Background & aim: The leaves of the Aloe Vera plant (yellow aloe) have long been used in medicine and nutrition by various communities. Some physiological effects of this plant have long been used to treat some gastrointestinal disorders such as gastric ulcer and gastric acid return to the esophagus. Therefore, the aim of this study was to determine the effect of hydro alcoholic extract of Aloe Vera leaf on the movements of the isolated colon of male rats and its interaction with cholinergic, adrenergic and nitric oxide systems.

Methods: In the present study conducted in 2016, 25 rats were included in the study. 20 mature male rats of Wistar race with the average weight between 180 to 250 grams and three months of age were randomly chosen. The mice were kept in light controlled conditions (12 hours cycle of lightness and darkness) and temperature of 22±2 degrees Celsius and enough food and water for one week. Adult male rats were anesthetized by ethyl ether, their colon tissue (ascending) separated and divided into 1 cm segments. The parts were connected to a force transducer longitudinally and inserted to an organ bath with oxygenated thyrod solution (37 ° C, pH = 7.4). The mechanical activity of their colon was recorded by force isotonic transducer and Power Lab AD instrument in basal condition, and after administration of acetylcholine10^{-6} M , atropine1.7×10^{-3} M, epinephrine 10^{-6} M, propranolol 10^{-6} M and L-NAME10^{-4} M in the presence and absence of the extract. The collected data were analyzed using Independent Sample T-Test and considering $p \leq 0.05$ as a significant level. ($P \leq 0.05$).

Results: Tissue mechanical activity in the presence of extract was significantly reduced compared to the control group. Furthermore, a significant decrease in tissue mechanical activity was observed in the presence of combined extract and propranolol compared with the control group, but a significant difference in the presence of acetylcholine, atropine, epinephrine, nitric oxide synthetize inhibitor (L-NAME) and the extract in comparison with the control group was not observed ($p \leq 0.05$).

Conclusion: The present study indicated that the hydroalcoholic extract of aloe vera leaf had a modulating effect on colonic movements, which may be related to the cholinergic and nitrogenous systems and is independent of the adrenergic system.

Key words: *Aloe vera*, adrenergic system, cholinergic system, nitric oxide system, male rat, colon.

***Corresponding author: Didehjahan M,** Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran.
Email: mdidehjahan@gmail.com

Please cite this article as follows:
Didehjahan M, Bahaoddini A. The Effect of Hydroalcoholic Extract of *Aloe vera* (L.) Brum.F on the Movment of Large Intestine of Male Rats and Its Interaction with Cholinergic, Adrenergic and Nitric Oxide System. Armaghane-danesh 2020; 25(6): 825-837.