

اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی میوه زالک بر آریتمی القاء شده به وسیله CaCl₂ در موش های صحرائی

مهین دیانت^{۱*}، قیدافه اکبری^۲

چکیده

زمینه و هدف: از آنجا که عوامل آنتی اکسیدانی نقش حفاظتی مهمی در بیماریهای قلبی ایفا می کنند، لذا تعداد زیادی از آنها به عنوان گیاهان دارویی در طب سنتی به کار گرفته می شوند. عصاره زالک با ویژگیهای آنتی اکسیدانی قوی نقش مؤثری در کاهش عوارض ناشی از بیماریهای مختلف نشان می دهد. این پژوهش با هدف بررسی اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی میوه زالک در آریتمی القاء شده به وسیله CaCl₂ در موش های صحرائی انجام شد.

روش بررسی: در این پژوهش موش های صحرائی نژاد Sprague Dawley به گروه های کنترل، دریافت کننده آمیودارون (۱۰ mg/kg, iv) و دریافت کننده عصاره هیدروالکلی میوه زالک تقسیم شدند. عصاره (دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز، گاواژ) و نرمال سالین (۱ میلی لیتر بر کیلوگرم در روز، گاواژ) به مدت ده روز مصرف شدند. در همه گروهها قبل از انجام آزمایش و ده روز پس از آن، لید II قلبی به منظور محاسبه پارامترهای الکتروفیزیولوژی مانند ولتاژ کمپلکس QRS ثبت شد. به منظور القای آریتمی از محلول CaCl₂ (۱۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت داخل وریدی استفاده شد و درصد وقوع ضربانهای زودرس بطنی (VPB)، فیبریلاسیون بطنی (VF) و تاکیکاردی بطنی (VT) محاسبه گردید و با گروه کنترل و گروه دریافت کننده آمیودارون (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم، داخل وریدی) مقایسه شد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده ها از آزمون های آماری ANOVA، Fisher، و t-test استفاده گردید و P < ۰/۰۵ سطح معناداری در نظر گرفته شد.

یافته ها: اثر اینوتروپیک و کرونوتروپیک با مصرف ده روز عصاره زالک مشاهده نشد. اثر آنتی آریتمی عصاره با کاهش معنادار درصد وقوع VPB، VF و VT در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. تأثیر آنتی آریتمی عصاره با گروه دریافت کننده آمیودارون به طور یکسان قابل مقایسه بود. نتیجه گیری: با توجه به نتایجی همانند کاهش درصد وقوع VF، VT و VPB در گروه دریافت کننده عصاره، ویژگیهای آنتی آریتمی، عصاره را به عنوان ماده پیشگیری کننده و محافظ بیماریهای قلبی نشان می دهد و احتمالاً با مکانیسمی مشابه آمیودارون اثر محافظتی دارد.

کلید واژگان: عصاره هیدروالکلی میوه زالک، آریتمی القاء شده، اثر اینوتروپیک، آمیودارون.

۱- استادیار گروه فیزیولوژی.

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی.

۲۰۱- گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، ایران.

* نویسنده مسئول:

مهین دیانت؛ گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، ایران.

تلفن: ۰۰۹۸۹۱۶۳۱۱۰۴۳۷

Email: dianat@ajums.ac.ir

مقدمه

آریتمی یا دیس‌ریتمی به هر نوع ریتمی به جز ریتم سینوسی طبیعی قلب اطلاق می‌شود. اتوماتیسم غیر طبیعی و هدایت غیر طبیعی دو مکانیسم اصلی برای ایجاد آریتمی هستند و علل مهم آن ایسکمی میوکارد، اختلالات الکترولیتی، اختلالات متابولیکی، بیماری‌های دریچه‌ای قلب، بیماری‌های مادرزادی قلب و بعضی از داروها می‌باشند (۱، ۲). نمونه اختلال در هدایت ایملاس، پدیده باز چرخش (Reentry Phenomenon) است (۲). آریتمی‌ها به دو دسته بطنی و فوق بطنی (Paroxysmal Supra Ventricular Tachycardia) تقسیم می‌شوند. ضربان‌های زودرس بطنی (VPB)، تکیکاردی بطنی (VT) و فیبریلاسیون بطنی (VF)، مهمترین آریتمی‌های بطنی محسوب می‌شوند. مهمترین آریتمی‌های فوق بطنی شامل فلاتر دهلیزی و فیبریلاسیون دهلیزی می‌باشد. انواع مهم دیگر آریتمی عبارت‌اند از: تورسادپونت (Torsades de pointes)، سندرم ولف-پارکینسون-وایت (Wolff - Parkinson - White Syndrome) و سندرم استوکس-آدامس (Stokes-Adames Syndrome) می‌باشند (۱، ۲). مرگ ناگهانی قلبی، یکی از مهمترین موارد مرگ و میر در جوامع صنعتی است. تکیکاردی بطنی و فیبریلاسیون بطنی مهمترین علت مرگ ناگهانی قلبی (Sudden Cardiac Death, SCD) تلقی می‌شوند (۲، ۳).

تکیکاردی بطنی از بطن‌ها منشاء می‌گیرد و معمولاً در زمینه بیماری قلبی از قبیل ایسکمی، بیماری‌های دریچه‌ای قلب و اختلالات الکترولیتی ایجاد می‌شود که اگر مدت آن کمتر از ۳۰ ثانیه باشد و همراه با اختلال همودینامیک نباشد، تکیکاردی بطنی غیر پایدار (Non sustained VT) نامیده می‌شود و تکیکاردی بطنی که با اختلال همودینامیک از قبیل کاهش فشار خون، کاهش سطح هوشیاری همراه باشد و بیشتر از ۳۰ ثانیه طول بکشد، تکیکاردی بطنی پایدار (Sustained VT) نامیده می‌-

شود. فیبریلاسیون بطنی یکی از آریتمی‌های منافی با حیات است که با از دست دادن هوشیاری به علت کاهش برون‌ده قلبی و کاهش فشار خون همراه است و نیاز به احیای فوری دارد (۳). بیماران با نارسایی مزمن قلب اغلب دچار آریتمی‌های بطنی می‌شوند و میزان شیوع مرگ و میر به علت این آریتمی‌ها در آنها بالاست که ناشی از یک سری تغییرات در میوکارد بطن‌ها می‌باشد و ممکن است پاسخ الکتروفیزیولوژیک مستقیم قلب به تحریکات اپی‌نفرین و نوراپی‌نفرین را ایجاد کند (۴).

داروهای ضد آریتمی شیمیایی در تقسیم‌بندی ووگان-ویلامز؛ بر اساس اینکه باعث مهار فعالیت کدام کانال یونی می‌شوند؛ به چهار دسته اصلی تقسیم می‌شوند که شامل بلاک‌کننده‌های کانالهای سدیمی سریع، رسپتورهای بتا، کانالهای پتاسیمی و کانال کلسیمی می‌باشد (۵).

آمیودارون در اغلب انواع آریتمی‌ها مؤثر است و مؤثرترین داروی ضدآریتمی محسوب می‌شود. آمیودارون کانال‌های پتاسیم، کلسیم و سدیم و گیرنده‌های بتا را مهار می‌کند و باعث افزایش مدت پتانسیل عمل و افزایش دوره تحریک‌ناپذیری (شکل ۱) و فاصله QT می‌گردند. از عوارض مهم آن فیبروز ریوی، رسوب بلورهای ریز در قرنیه، لرزش و اختلال عملکرد تیروئید است (۵).

داروهای شیمیایی مورد استفاده جهت درمان آریتمی‌ها همواره برای بیماران عوارض جانبی زیادی دارند و آریتموژن بودن، یکی از مهمترین عوارض برای آنها تلقی می‌شود (۳).

در آزمایشگاه جهت القای آریتمی، دو روش الکتریکی و شیمیایی به کار گرفته می‌شود. کلرید کلسیم یکی از موادی است که برای القای شیمیایی آریتمی استفاده می‌شود. کلرید کلسیم از طریق اثر مستقیم بر روی میوکارد قلب باعث آریتمی می‌شود، اما ممکن است به صورت غیر مستقیم از طریق سیستم عصبی سمپاتیک نیز باعث این عمل گردد (۶).

زالزالک به علت دارا بودن ترکیبات فلاونوئیدی سبب القای اثر ضد آسیب ایسکمی-رپر فیوژن، ضد آریتمی و کاهنده فشار خون می‌شود (۱۴).

مطالعات نشان‌دهنده اثرات ضد التهابی و محافظتی عصاره الکلی میوه زالزالک در برابر آسیب‌های معده و خستگی کنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و فعالیت ضد میکروبی این عصاره در موش‌های صحرایی می‌باشد. اثرات محافظتی آن برای معده در مقایسه با رانیتیدین، به صورت وابسته به دوز، قوی‌تر بود (۱۱). اثر سر شاخه گیاه زالزالک باعث اثرات کاهش دهنده گلوکز، چربی‌های پلاسما و حفاظت سلول‌های بتا در موش‌های صحرایی به علت مواد آنتی‌اکسیدانی موجود در آن شد (۱۵).

مصرف خوراکی و طولانی مدت زالزالک از طریق اثرگذاری بر عوامل مرتبط با آندوتلیوم موجب کاهش پاسخ انقباضی و افزایش پاسخ رفع انقباضی مربوط به آندوتلیوم آئورت سینه‌ای می‌شود که این عمل می‌تواند در جلوگیری از عوارض عروقی دیابت در دراز مدت مفید واقع شود (۸).

عصاره هیدروالکلی زالزالک سرخ (ولیک) با کاهش سرعت ضربان بطنی و افزایش زمان تحریک ناپذیری در گره دهلیزی-بطنی نقش محافظتی در خاتمه دادن به آریتمی‌های گرهی چرخشی (Atrio Ventricular Node Re-entry) دارد (۱۵).

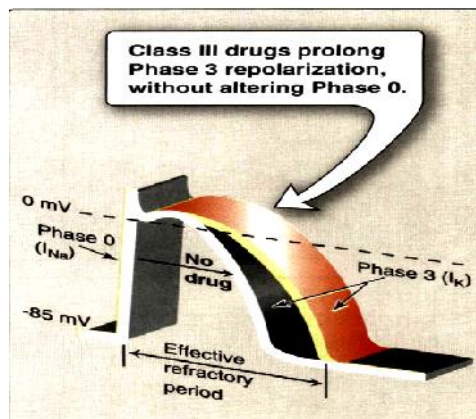
از آنجا که تاکنون پژوهشی پیرامون اثرات عصاره هیدروالکلی میوه زالزالک بر روی آریتمی‌های ناشی از کلرید کلسیم صورت نگرفته است، لذا به منظور استفاده بهینه از داروهای گیاهی موجود در ایران، در مطالعه حاضر اثر این عصاره بر روی خواص الکتروفیزیولوژیک و آریتمی القاء شده توسط کلرید کلسیم در موش صحرایی مدل *In vivo* بررسی شد و نتایج با داروی آنتی‌آریتمی آمبودارون مقایسه گردید.

گیاهان دارویی از ارزش و اهمیت خاصی در تأمین بهداشت و سلامت جوامع هم به لحاظ درمان و هم پیشگیری از بیماری‌ها برخوردار بوده و به علت دسترسی آسان، فراوانی، عوارض جانبی کم و قیمت مطلوب به عنوان جایگزین داروهای شیمیایی همواره مورد توجه بوده‌اند (۷).

گیاه زالزالک با نام علمی *Crataegus spp* در تیره گل سرخ، دارای خارهای کوتاه و میوه‌های گوشتی، گرد، زرد تا قرمز که دارای چندین هسته می‌باشد (۸). زالزالک درختچه میوه‌داری با تاریخچه طولانی به عنوان یک ماده درمانی در درمان آسم سنگ‌های کلیوی، ناراحتی‌های گوارشی و بیماری‌های قلبی کاربرد دارد (۹).

ترکیبات شیمیایی موجود در آن شامل ویتامین C، فلاونوئیدها، هیپراوزید به عنوان فلاونول اصلی، روتین، گلیکوزیدها، پروسیانیدین‌های اولیگومریک، تانین‌ها و همچنین مواد شیمیایی دیگر همانند: فنیل اتانول آمین، تیرامین، کولین، استیل کولین، مشتقات پورین، آدنوزین، آدنین، کافئیک اسید، پکتین، اورسولیک اسید و کراتاگولیک اسید می‌باشند (۱۰). برگ‌ها و گل‌های آن در طب سنتی در درمان نارسایی قلبی و ضد آترواسکلروز مورد استفاده قرار می‌گیرند. ترکیبات فنولی موجود در عصاره دانه زالزالک معادل ترکیبات فنولی اسید گالیک است (۱۱). عصاره استاندارد برگ‌ها و گل‌های زالزالک دارای چندین اثر فارماکولوژیکی از جمله ضد آسیب ایسکمی-رپر فیوژن، آنتی-آریتمی، هیپولیپیدمیک و اثرات کاهش دهنده فشار خون می‌باشند (۱۲).

اسیدهای آلی زالزالک باعث کاهش چربی‌های بد پلاسما از قبیل LDL و VLDL می‌شوند اما بر چربی خوب (HDL) تأثیری ندارد که این اثر به علت ترکیبات موجود در عصاره از قبیل اولئونولیک اسید و اورسولیک اسید می‌باشد که جذب کلسترول از دستگاه گوارش را کاهش می‌دهند (۱۳).



شکل ۱: داروهای گروه III همانند آمیودارون با کاهش جریان خروجی پتاسیم در فاز ۳ (ریپلاریزاسیون) پتانسیل عمل، مدت پتانسیل عمل را در سلول‌های مستعد قلب افزایش می‌دهد و تأثیر اصلی آن، افزایش دوره تحریک ناپذیری مؤثر است.

روش بررسی

روش جمع‌آوری گیاه و عصاره‌گیری

به مدت ده روز در قفس‌های پلی‌اتیلنی استاندارد در اتاق با دمای ۲۳-۲۴ درجه سانتی‌گراد، تهویه مناسب و سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دسترسی آزاد به آب و غذای کافی نگهداری شدند. در طول کار اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

روش آماده‌سازی حیوان

پس از عمل بیهوشی، حیوانات مورد آزمایش تحت عمل جراحی قرار گرفتند. بدین صورت، که ابتدا موش‌ها توسط مخلوط داروی کتامین هیدروکلراید (۵۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) از طریق تزریق داخل صفاقی بیهوش شدند. بعد از بیهوشی از الکل ۷۰ درجه برای ضدعفونی پوست استفاده شد. سپس توسط چاقوی جراحی یک شکاف طولی در کشاله ران ایجاد و در دو مرحله پوست و عضلات ران باز و پس از کنار زدن ماهیچه ران، ورید فمورال را پیدا کرده و با قیچی قرنیه شکافی در آن ایجاد و با فرستادن کاتر پلی‌اتیلن به درون ورید و محکم کردن اطراف آن از این مسیر برای تزریق مواد مورد نیاز استفاده شد. سپس با استفاده از الکترودهای سطحی، لید II استاندارد دوقطبی اندامها جهت بررسی ECG ثبت شد. با استفاده از دستگاه Bio Amp و Power lab ساخت شرکت AD-

میوه زالزالک پس از جمع‌آوری از مناطق کوهستانی اطراف یاسوج، توسط عضو هیأت علمی دانشگاه شناسایی شد. میوه زالزالک پس از جدا کردن هسته و خشک شدن در سایه، آسیاب شده و پودر آن تا زمان عصاره‌گیری در یخچال نگهداری می‌شد. سپس مقدار ۵۰ گرم پودر تهیه شده در ۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ مخلوط شده محلول در هوای اتاق به مدت ۳ روز نگهداری شد. در طی این ۳ روز روزانه چندین بار بهم زده می‌شد تا عصاره جدا شد و پس از ۷۲ ساعت مخلوط از کاغذ صافی عبور داده و محلول عصاره روی سطح شیشه گسترده شد تا حلال در دمای اتاق تبخیر شود. با تراشیدن عصاره خشک شده از روی سطح شیشه، پودر عصاره به دست آمده که تا زمان استفاده در دمای ۴°C نگهداری گردید و عصاره با نرمال سالین حل شد و به صورت گاوآژ به حیوان داده شد.

حیوانات

در این مطالعه همانند مطالعات مشابه از گروه‌های ۸ تایی موش صحرایی سفید نر نژاد Sprague Dawley (تهیه شده از مرکز تحقیقات، تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز) در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات

Instruments ثبت امواج الكترىكى ناشى از قلب انجام شد (۱۶).

گروه بندى حيوانات

حيوانات به صورت تصادفى به دو گروه كلى تقسيم شدند:

الف- بررسى اثر كرونوتروپىك و اينوتروپىك عصاره

ابتدا در همه گروهها (قبل و بعد از دوره دريافت عصاره يا نرمال سالىن) به منظور ارزىابى اثر كرونوتروپىك و اينوتروپىك عصاره، ۱۵ دقيقه پس از بيهوشى (جهت ثبات فاكترهائى همودىنامىك) لىد II استاندارد دوقطبى اندامها، جهت بررسى ECG ثبت شد و تعداد ضربان قلب و ولتاژ كمپلكس QRS محاسبه گرديد (شكل ۲). گروه بندى به شرح زىر مى باشد (۱۱):
 ۱) گروه كترل: دريافت كننده نرمال سالىن (گاواژ به مدت ده روز)

۲) گروه دريافت كننده عصاره آبى-الكلى ميوه زالزالك (دوز ۱۰۰ mg/kg، گاواژ به مدت ده روز)
 ۳) گروه دريافت كننده عصاره آبى-الكلى ميوه زالزالك (دوز ۲۰۰ mg/kg، گاواژ به مدت ده روز)

ب - بررسى اثر محافظتى عصاره بر آرىتمى القاء شده به وسيله CaCl₂

در اين آزمائش از تكنىك شىمىابى القاء آرىتمى استفاده شد كه به وسيله تزرىق CaCl₂ با دوز ۱۴۰ mg/kg به صورت داخل ورىدى انجام شد (شكل ۳).

در همه گروهها ۱۵ دقيقه پس از بيهوشى (جهت ثبات فاكترهائى همودىنامىك) لىد II استاندارد دوقطبى اندامها جهت بررسى ECG ثبت شد و تعداد ضربان قلب محاسبه شد. سپس CaCl₂ تزرىق شد و مجدداً لىد II ثبت گرديد و درصد وقوع ضربانهاى زودرس بطنى، تاكىكاردى بطنى و فبرىلاسىون بطنى محاسبه شد (۱۶).

گروه بندى به شرح زىر مى باشد (۱۱، ۱۶):

۱) گروه كترل: دريافت كننده نرمال سالىن (گاواژ به مدت ده روز)

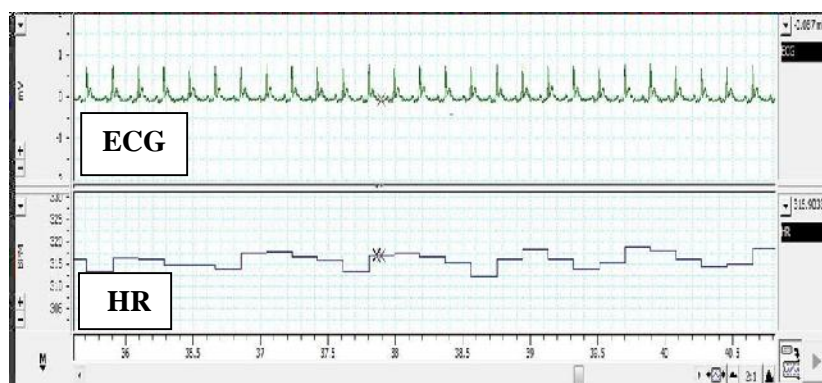
۲) گروه دريافت كننده Amiodarone hydrochloride (بلاكر كانالهاى پتاسىم) (۱۰ mg/kg, iv)، بيست دقيقه قبل از ايجاد آرىتمى.

۳) گروه دريافت كننده عصاره آبى-الكلى ميوه زالزالك (دوز ۱۰۰ mg/kg، گاواژ به مدت ده روز)

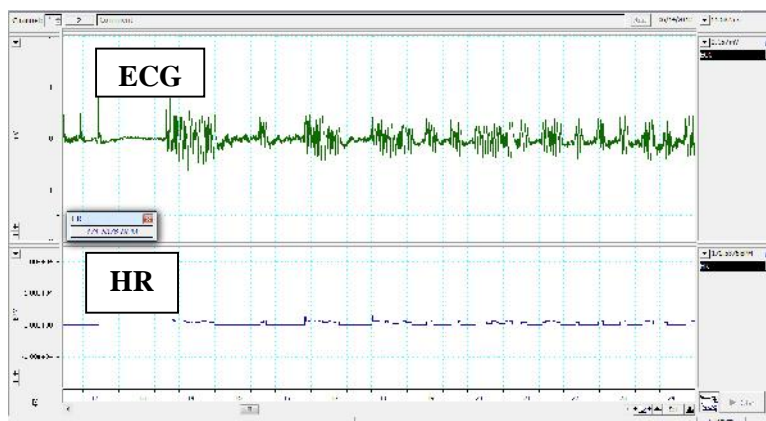
۴) گروه دريافت كننده عصاره آبى-الكلى ميوه زالزالك (دوز ۲۰۰ mg/kg، گاواژ به مدت ده روز)

تجزيه و تحليل آمارى

برائى مقايسه دادههاى بين گروهها از آزمون آمارى One-Way ANOVA و براى مقايسه درصد وقوع آرىتمىها از آزمون Fisher exact استفاده شد. نتاىج قبل و بعد از اثر عصاره يا نرمال سالىن با استفاده از آزمون آمارى Student t-test مقايسه شدند. از نرم افزار SPSS جهت محاسبه آمارى استفاده گرديد. دادهها به صورت Mean ± SEM محاسبه شده و P < ۰/۰۵ معنادار تلقى شد.



شكل ۲: نمونه اى از ثبت واقعى الكترودىوگرام و ضربان قلب



شکل ۳: نمونه‌ای از ثبت واقعی الکتروکاردیوگرام و ضربان قلب پس از القای آریتمی

یافته‌ها

الف) اثر بر تعداد ضربان قلب

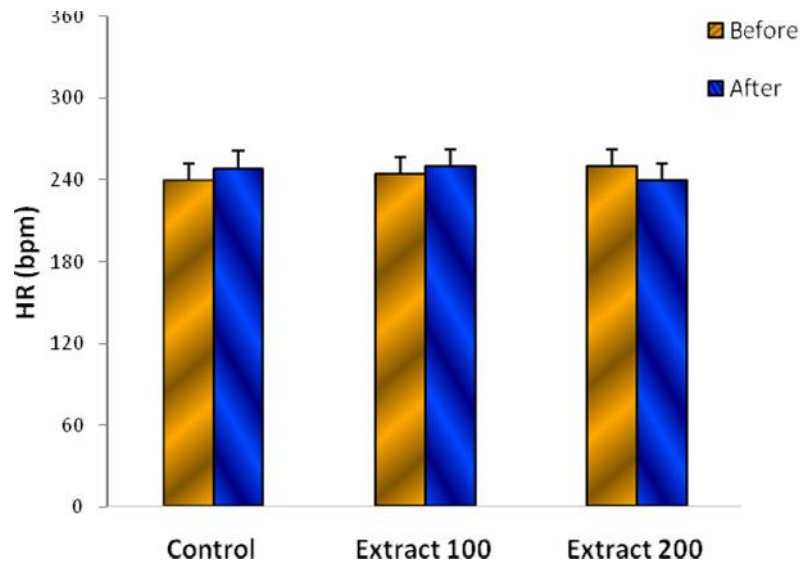
ضربان قلب قبل و پس از مصرف نرمال سالین به مدت ده روز، اختلاف معناداری نشان نداد. مصرف ده روز دوزهای مختلف عصاره آبی-الکلی زالزالک نتوانست تغییر معناداری در ضربان قلب ایجاد کند و مقایسه نتایج حاصل از این گروه با گروه دریافت‌کننده نرمال سالین نیز اختلاف معناداری را نشان نداد (نمودار ۱).

الف) اثر بر ولتاژ کمپلکس QRS

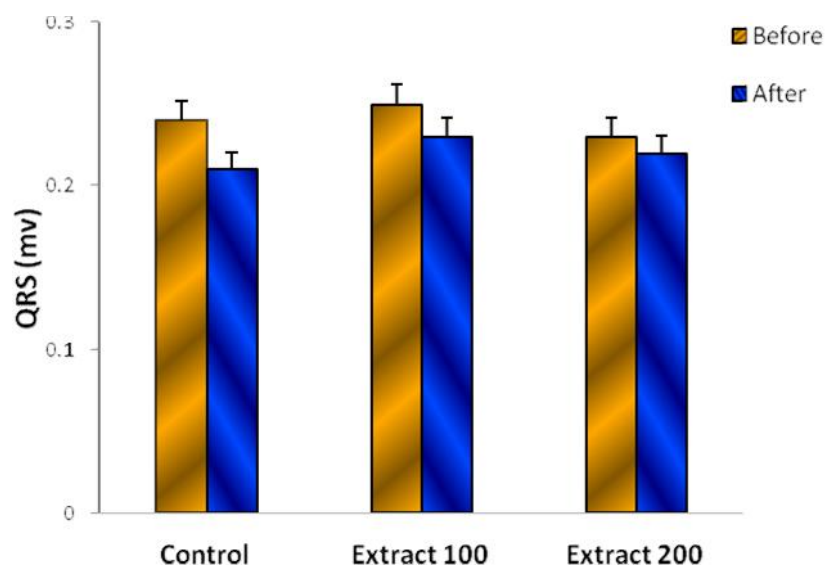
پس از مصرف ده روز نرمال سالین، ولتاژ کمپلکس QRS تغییر معناداری نشان نداد. مصرف ده روز دوزهای مختلف عصاره آبی-الکلی زالزالک نتوانست تغییر معناداری در ولتاژ کمپلکس QRS ایجاد کند و همچنین مقایسه نتایج حاصل از این گروه با گروه دریافت‌کننده نرمال سالین نیز اختلاف معناداری نشان نداد (نمودار ۲).

ج) اثر آنتی‌آریتمیک

پس از تزریق داخل وریدی CaCl_2 درصد وقوع ضربانهای زودرس بطنی (VPB) در گروه‌های دریافت-کننده دوزهای مختلف عصاره آبی-الکلی زالزالک و آمیودارون نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری کاهش نشان داد ($P < 0.001$). درصد وقوع تاکیکاردی بطنی (VT) و درصد وقوع فیبریلاسیون بطنی (VF) در گروه-های دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره آبی-الکلی زالزالک و آمیودارون نسبت به گروه کنترل کاهش بیشتری نشان داد ($P < 0.001$). در حالیکه هر سه پارامتر در گروه-های دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره آبی-الکلی زالزالک نسبت به هم و همچنین نسبت به گروه دریافت-کننده آمیودارون اختلاف معناداری نشان ندادند (جدول ۳).



نمودار ۱: مقایسه تعداد ضربان قلب (HR) در گروه‌های مختلف [کنترل و دریافت‌کننده عصاره آبی_الکلی میوه زالزالک] قبل و ده روز پس از مصرف دوزهای مختلف عصاره (100, 200 mg/kg) یا نرمال سالین. (Mean±SEM, n=8). (برای مقایسه نتایج در گروه‌های مختلف از آزمون **One-Way ANOVA followed by LSD test** استفاده شد و برای مقایسه نتایج قبل و بعد از مصرف عصاره یا نرمال سالین در هر گروه از آزمون آماری **t-test** استفاده شد).



نمودار ۲: مقایسه ولتاژ کمپلکس QRS در گروه‌های مختلف [کنترل و دریافت‌کننده عصاره آبی_الکلی میوه زالزالک] قبل و ده روز پس از مصرف دوزهای مختلف عصاره (100, 200 mg/kg) یا نرمال سالین. (Mean±SEM, n=8). (برای مقایسه نتایج در گروه‌های مختلف از آزمون **One-Way ANOVA followed by LSD test** استفاده شد و برای مقایسه نتایج قبل و بعد از مصرف عصاره یا نرمال سالین در هر گروه از آزمون آماری **t-test** استفاده شد).

جدول ۳: ارزیابی اثر آنتی آریتمی عصاره آبی-الکلی میوه زالزالک (100, 200 mg/kg) و آمیودارون (10 mg/kg) در مقایسه با گروه کنترل (نرمال سالین) بر درصد وقوع ضربانهای زودرس بطنی (VPB)، تاکیکاردی بطنی (VT) و فیبریلاسیون بطنی (VF)، پس از القای آریتمی شیمیایی ناشی از تزریق داخل وریدی CaCl_2 (140mg/kg)

Groups	CaCl ₂ -induced arrhythmia (140 mg/kg, iv)		
	VT (%)	PVB (%)	VF (%)
Control (1 mg/kg, gavage, 10 days)	100	100	100
Amiodarone hydrochloride (10 mg/kg, iv)	75*	70*	18.75***
Extract (100 mg/kg, gavage, 10 days)	75*	75*	25***
Extract (200 mg/kg, gavage, 10 days)	67*	65*	21.25***

(Mean±SEM, n=8, FISHER EXACT test). تفاوت با گروه کنترل. * $P < 0.01$ و ** $P < 0.001$.

بحث

مدت تأثیری بر ولتاژ کمپلکس QRS نداشته و اختلاف معناداری نیز با گروه کنترل نشان نداد.

مطالعات نشان می‌دهد که عصاره زالزالک به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان قوی، قادر به جمع‌آوری مواد مضر از قبیل: آنیون‌های سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکالهای هیدروکسیل می‌باشد، بنابراین عصاره زالزالک به عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدان تلقی می‌شود (۱۱). اثر آنتی‌اکسیدانی این ماده را شاید بتوان به علت پلی‌فنولی بودن آن دانست که با حفظ ساختمان غشاء، مانع اجازه آزاد شدن موادی مانند ROS (Reactive Oxygen Species) می‌شود، رادیکالهای آزادی که به وجود آمده‌اند را جمع‌آوری می‌کند و همچنین رادیکال‌های آزاد ایجاد شده را حذف می‌کند. در نتیجه، باعث می‌شود که عوامل دخیل در تغییر ضربان قلب و کاهش قدرت انقباض قلب؛ همانند تغییر در فعالیت کانالهای یونی، حذف شده و پمپاژ قلبی به صورت نرمال صورت گیرد (۱۱، ۱۷). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که مصرف این عصاره در یک دوره ده روزه، تأثیر منفی بر ولتاژ کمپلکس QRS و ضربان قلب ندارد. از آنجا که ولتاژ کمپلکس QRS تا حدودی نشان‌دهنده ویژگی اینوتروپیک می‌باشد، لذا می‌توان بیان نمود که عصاره آبی-الکلی میوه زالزالک در موش‌های صحرائی دست

گیاهان دارویی به علت دسترسی آسان، عوارض جانبی کم و قیمت مطلوب به عنوان جایگزین داروهای شیمیایی همواره مورد توجه بوده‌اند، لذا از اهمیت خاصی در درمان و پیشگیری از بیماری‌ها برخوردار هستند. عصاره آبی و به‌ویژه آبی-الکلی بخشهای مختلف گیاه زالزالک مانند برگها و گل آن در طب سنتی و پژوهشهای نوین همواره در پیشگیری از نارسایی قلبی و عوارض آسیب‌های ناشی از ایسکمی-رپرفیوژن مورد توجه محققان بوده است، لذا در این تحقیق اثر عصاره آبی-الکلی میوه زالزالک بر ضربان قلب، ولتاژ کمپلکس QRS و پیشگیری از آریتمی القاء‌شده ناشی از کلرید کلسیم بررسی شد.

در این پژوهش بررسی اثر عصاره آبی-الکلی میوه زالزالک در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم به مدت ده روز در موش‌های صحرائی مدل *In vivo* آریتمی‌های القاء‌شده با کلرید کلسیم نشان داد که این عصاره از بروز آریتمی‌هایی مانند: VT, VF, VPB جلوگیری می‌نماید و تأثیر آن با اثر آمیودارون بر آریتمی القاء‌شده شیمیایی یکسان بود. نتایج، نشان‌دهنده عدم تأثیر کرونوتروپیک عصاره در موش صحرائی پس از مدت ده روز مصرف دوزهای مختلف عصاره آبی-الکلی میوه زالزالک می‌باشد. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره در این

آبی_الکلی زالزالک احتمالاً به علت کاهش یون‌های کلسیم در دسترس سلول میوکارد قلب، ناشی از خواص آنتی‌اکسیدانی و جمع‌کننده رادیکال‌های آزاد آن است. افزایش طول دوره پتانسیل عمل و مدت زمان ریکاوری به عنوان یکی از مکانیسم‌های خاتمه دهنده آریتمی‌های قلبی است (۲۱، ۱۵). آمیودارون به عنوان یکی از مهمترین داروهای ضدآریتمی محسوب می‌شود که از طریق بلوک کانالهای پتاسیمی در فاز ۳ پتانسیل عمل، باعث کاهش درصد وقوع آریتمی‌ها می‌شود، لذا در درمان بیماران قلبی کاربرد دارد و در این مطالعه جهت مقایسه اثربخشی عصاره زالزالک به کار برده شد (۲۱). همانگونه که مشاهده شد، عصاره همانند داروی آنتی‌آریتمی آمیودارون، باعث کاهش درصد وقوع آریتمی‌ها در هنگام مواجهه با $CaCl_2$ گردید. بنابراین احتمالاً عصاره زالزالک با مکانیسمی مشابه آمیودارون در پیشگیری از بیماریهای قلبی می‌تواند مؤثر باشد. دسترسی به مکانیسم دقیق اثر عصاره زالزالک نیاز به مطالعات وسیعتری در سطح سلول‌های عضله قلبی و کانالهای وابسته دارد.

نتیجه‌گیری

عصاره آبی_الکلی میوه زالزالک به صورت *In vivo* دارای اثر آنتی‌آریتمی می‌باشد و مصرف آن در افراد سالم نیز تأثیری بر تعداد ضربان قلب و یا ولتاژ کمپلکس QRS ندارد. با توجه به نتایج به دست آمده، به نظر می‌رسد که با مطالعات تجربی بیشتر و بررسی مکانیسم اثر آن، بتوان از عصاره میوه زالزالک در افرادی که بیماری‌های زمینه‌ای قلبی دارند و مستعد آریتمی‌های قلبی می‌باشند به عنوان ماده طبیعی پیشگیری‌کننده بیماری‌های قلبی استفاده نمود.

قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از طرح تحقیقاتی PRC-126 می‌باشد. بدین وسیله از مرکز تحقیقات فیزیولوژی و معاونت توسعه، پژوهش و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز برای حمایت و پشتیبانی مالی از این پژوهش تشکر و قدردانی می‌نمایم.

نخورده و نرمال اثر اینوتروپیک (مثبت یا منفی) ندارد. همچنین مصرف این عصاره، باعث تغییر در ضربان قلب نشد، لذا اثر کرونوتروپیک در دوره کوتاه مدت مصرف آن مشاهده نشد. لیکن، اینکه اثر اینوتروپیک و کرونوتروپیک عصاره در مدل‌های ایجاد استرس اکسیداتیو چگونه خواهد بود؟، در این پژوهش بررسی نشد و نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

افزایش یون‌های کلسیم باعث دپلاریزاسیون زودرس اولیه (EAD) در فازهای ۲ و ۳ پتانسیل عمل عضله قلب می‌شود که این دپلاریزاسیون خود به خودی زمینه‌ساز انواع آریتمی‌های قلبی می‌باشد (۱). کلرید کلسیم از طریق اثر مستقیم بر روی میوکارد قلب باعث ایجاد آریتمی می‌شود، اما ممکن است به صورت غیرمستقیم از طریق سیستم عصبی سمپاتیک نیز باعث این عمل گردد (۶). در این پژوهش با استفاده از تزریق داخل وریدی کلرید کلسیم، مدل شیمیایی ایجاد آریتمی، القاء شد. نتایج نشان داد که مصرف عصاره می‌تواند، قلب را در مقابل آریتمی‌های قلبی همانند: VT, VF, VPB محافظت نماید. بنابراین می‌تواند به عنوان یک عصاره آنتی‌آریتمیک تلقی شود. این اثر حفاظتی در مقادیر به کار برده شده در این پروتکل، به صورت وابسته به دوز عمل نکرد که این امر می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که عصاره به صورت وابسته به دوز عمل نمی‌کند و یا اینکه احتمال دارد دوزهای پایین‌تر از 100 mg/kg اثر آنتی‌آریتمیک کمتری نشان دهد که برای اثبات آن نیاز به مطالعات بیشتر با دوزهای متفاوت می‌باشد.

مطالعات نشان داده است که آزاد شدن آنزیم‌های قلبی یکی از مهمترین علل آسیب‌رسان به بافت قلب و زمینه‌ساز انواع متعددی از آریتمی‌ها می‌باشد (۶، ۱۷ و ۱۸). بر اساس مطالعات برخی از محققان اثرات ضد التهابی، کاهنده اندازه ناحیه انفارکت در مدل ایسکمی-رپرفیوژن و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و به ویژه آبی_الکلی زالزالک مشاهده شده است (۱۷-۲۰). بنابراین با توجه به نتایج این مطالعه، اثر آنتی‌آریتمی عصاره

- 1-Resnekov L. Cardiac Arrhythmia. *Postgrad Med J* 1964;40 (465):381-92.
- 2-Fogoros RN. *Antiarrhythmic drugs: a practical guide*. 2nd ed. Malden: Blackwell Futura; 2007. P. 36-51.
- 3-Khori V, Nayebpour M. [Effect of artemisia absinthium on electrophysiological properties of isolated heart of rats]. *Physiol Pharmacol* 2007; 10 (4):303-11. [In Persian]
- 4-Veldkamp MW, Verkerk AO, van Ginneken AC, Baartscheer A, Schumacher C, de Jonge N, et al. Norepinephrine induces action potential prolongation and early afterdepolarizations in ventricular myocytes isolated from human end-stage failing hearts. *Eur Heart J* 2001; 22 (11):955-63.
- 5-Trevore AJ, Katzung BG, Masters SB. *Katzung & Trevor's Pharmacology Examination & Board Review*. 9th ed. New York: Mc Graw-Hill; 2010.
- 6-Evangelista S, Maggi CA, Meli A. The role of the local anaesthetic properties of beta-adrenoceptor blocking agents in antagonizing CaCl₂-induced arrhythmias in the rat. *Br J Pharmacol* 1981; 73 (3):725-7.
- 7-Khori V, Naebpour M, Mir-Abbasi A. Ouabaine like effects of ethanolic extract of aerial parts of urtica dioica L. on isolated rabbit atrioventricular node: potential role as an anti - arrhythmic. *J Med Plants* 2008; 7 (26):24-32. [In Persian]
- 8-Roughani M, Baluchnejadmojarad T, Roughani Dehkordi F. The effect of Crataegus SPP branchlet feeding on endotheliumdependent contractile and relaxatory response of thoracic aorta from diabetic rats. *Modarres J Med Sci* 2009;12(2):61-71. [In Persian]
- 9-Rigelsky JM, Sweet BV. Hawthorn: pharmacology and therapeutic uses. *Am J Health Syst Pharm* 2002;59(5):417-22.
- 10-Verma SK, Jain V, Verma D, Khamesra R. Crataegus Oxyacantha - A Cardioprotective Herb. *J Herb Med Toxicol* 2007;1(1):65-71.
- 11-Tadi VM, Dobri S, Markovi GM, Dordevi SM, Arsi IA, Menkovi NR, et al. Anti-inflammatory, gastroprotective, free-radical-scavenging, and antimicrobial activities of hawthorn berries ethanol extract. *J Agric Food Chem* 2008;56(17):7700-9.
- 12-Cui T, Nakamura K, Tian S, Kayahara H, Tian YL. Polyphenolic content and physiological activities of Chinese hawthorn extracts. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006;70(12):2948-56.
- 13-Zhang Z, Ho WK, Huang Y, James AE, Lam LW, Chen ZY. Hawthorn fruit is hypolipidemic in rabbits fed a high cholesterol diet. *J Nutr* 2002;132(1):5-10.
- 14-Chang WT, Dao J, Shao ZH. Hawthorn: potential roles in cardiovascular disease. *Am J Chin Med* 2005;33(1):1-10.
- 15-Khori V, Azadbakht M, Nayebpour M, Jamshidi AH, Pourabouk M, Mohammad Alizadeh A, et al. [Frequency-dependent anti arrhythmic effects of Crataegus monogyna on the extracellular field potential recordings in the rabbit atrioventricular node, an experimental model of AF]. *Physiol Pharmacol* 2009;15(1):36-46. [In Persian]
- 16-Somova LI, Shode FO, Mipando M. Cardiogenic and antidysrhythmic effects of oleanolic and ursolic acids, methyl masninate and uvaol. *Phytomedicine* 2004;11(2-3):121-9.
- 17-Schüssler M, Hölzl J, Fricke U. Myocardial effects of flavonoids from Crataegus species. *Arzneimittelforschung* 1995;45 (8):842-5.
- 18-Habs M. Prospective, comparative cohort studies and their contribution to the benefit assessments of therapeutic options: heart failure treatment with and without Hawthorn special extract WS 1442. *Forsch Komplementarmed Klass Naturheilkd* 2004;11 Suppl 1:36-9.
- 19-Bernatoniene J, Masteikova R, Majiene D, Savickas A, Kevelaitis E, Bernatoniene R, et al. Free radical-scavenging activities of Crataegus monogyna extracts. *Medicina (Kaunas)* 2008;44(9):706-12.
- 20-Koch E, Malek FA. Standardized extracts from hawthorn leaves and flowers in the treatment of cardiovascular disorders--preclinical and clinical studies. *Planta Med* 2011;77(11):1123-8.
- 21-Nattel S, Davies M, Quantz M. The antiarrhythmic efficacy of amiodarone and desethylamiodarone, alone and in combination, in dogs with acute myocardial infarction. *Circulation* 1988;77(1):200-8.

Protective Effect of Hydroalcoholic Extract of Hawthorn Fruit on CaCl₂-Induced Arrhythmias in Rat

Mahin Dianat^{1*}, Ghidafeh Akbari²

1-Assistant Professor of
Physiology.

2-MSc. Student of Physiology.

1,2-Department of Physiology,
Physiology Research Center,
Faculty of Medicine, Ahvaz
Jundishapur University of Medical
Sciences, Ahvaz, Iran.

*Corresponding author:

Mahin Dianat; Department of
Physiology, Physiology Research
Center, Faculty of Medicine,
Ahvaz Jundishapur University of
Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
Tel: +989163110437
Email: dianat@ajums.ac.ir

Abstract

Background and Objective: Antioxidant agents play an important role in prevention and protection in heart diseases, therefore, are used as medicinal plants in traditional medicine. Hawthorn fruit extract, with strong antioxidant properties, has been used effectively in treatment of many diseases. The aim of this study was to investigate the protective effect of hydroalcoholic extract of Hawthorn fruit on CaCl₂-induced arrhythmias in rat.

Subjects and Methods: Male Sprague Dawley rats divided in control, amiodarone (10 mg/kg, iv) and Hawthorn-extract groups receiving either saline solution (1ml/kg/day, by gavage) or hawthorn extract (100 and 200 mg/kg/day, by gavage) respectively for 10 days. Both groups before experiments and 10 days later lead II electrocardiogram was recorded for calculating electrophysiological parameters such as QRS complex. CaCl₂-induced arrhythmia was used for evaluation of possible antiarrhythmic calcium antagonistic effect. The arrhythmia was produced by i.v. injection of a CaCl₂ 2.5% solution (140 mg/kg) and percentage of ventricular premature beats (VPB), ventricular fibrillation (VF) and ventricular tachycardia (VT) were recorded in hawthorn groups and was compared to control and amiodarone (10 mg/kg, iv) groups. Results were analyzed by using one-way ANOVA, Fisher and student t-test. P<0.05 was considered as significant level.

Results: The inotropic and chronotropic effect was not significant with hawthorn extract after 10 days administration. Hawthorn extract displayed antidysrhythmic effects on CaCl₂-induced arrhythmia compared to control group by significant reduction of VPB, VF and V.tac, comparable to that of amiodarone.

Conclusion: The results of present study such as significant decrease in VPB, VF and V.tac in hawthorn groups showed antiarrhythmic properties of hawthorn fruit extract as a preconditioning agent and suggest the protective effect of hawthorn extract in heart disease comparable to amiodarone.

Keywords: Hawthorn fruit hydroalcoholic extract, induced arrhythmias, inotropic effect, amiodarone.

Please cite this paper as:

Dianat M, Akbari Gh. Protective Effect of Hydroalcoholic Extract of Hawthorn Fruit on CaCl₂-Induced Arrhythmias In Rats. *Jundishapur Sci Med J* 2014;12 (6):693-703

Received: Sep 4, 2013

Revised: Sep 23, 2013

Accepted: Sep 29, 2013