

Effect of aqueous extract of mango kernel (*Mangifera Indica*) on basal activity of virgin rat uterine smooth muscle: role of muscarinic receptors

Noureddini M^{1,3*}, Dehghan-Sheibani D², Alani B³

1- Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

2-Hazrat -e- Ali Asghar Hospital, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, I. R. Iran.

3-Department of Applied Cell Sciences, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received January 20, 2016; Accepted November 21, 2016

Abstract:

Background: Mango belongs to the Anacardiaceae and the extracts from its stems, leaves, fruit and kernel are reported to affect smooth muscle contractility. We studied the role of cholinergic muscarinic receptors for the effects of aqueous extract of mango kernel (*Mangifera indica*) on the basal activity of virgin rat uterine smooth muscle.

Materials and Methods: In this experimental study, mid-sections (n=24) of the uterine of healthy virgin rats were placed in an organ bath containing carbonated Tyrode's solution under 1 g tension. The cumulative effects of the aqueous extracts of mango kernel (0.002, 0.02, 0.2, 2, 20, 200, and 2000 µg/mL) or extract vehicle (Tyrode's solution) in the presence or absence of atropine were examined by isometric method using the strength, frequency and contractile activity of uterine smooth muscle.

Results: The cumulative concentrations (0.002-20 µg/ml) of mango kernel aqueous extract was significantly decreased the strength, frequency and contractile activity of uterine smooth muscle, but the contractile activity was returned to the basal level at the concentrations of 200 and 2000 µg/ml. Atropine (1 µM) could not significantly change the effects of cumulative use of extract on the strength and contractile activity of uterine smooth muscle, but it significantly enhanced the contractile frequency at low concentrations.

Conclusion: The effects of aqueous extract of mango kernel on the activity of the uterine smooth muscle might not be through cholinergic muscarinic receptors and atropine could enhance the effects of the extract on frequency through other receptors.

Keywords: Aqueous extract, Mango, Muscarinic receptors, Uterine smooth muscle, Rat

* Corresponding Author.

Email: mnoureddini@yahoo.com

Tel: 0098 913 163 8151

Fax: 0098 31 555 41112

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2017; Vol. 21, No 1, Pages 19-27

اثر عصاره آبی هسته انبه (*Mangifera indica*) بر فعالیت پایه عضلات صاف رحم موش
صحرایی بکر: نقش گیرنده های موسکارینی

مهدی نورالدینی ، معصومه دهقان شیبانی ، بهرنگ علنی *۳ او

خلاصه:

سابقه و هدف: گیاه انبه از تیره پسته‌ایان است و اثرات عصاره‌های حاصل از ساقه، برگ، میوه و هسته انبه روی عملکرد انقباضی عضلات صاف گزارش شده است. در این تحقیق اثر مهار گیرنده‌های کولینرژیک موسکارینی روی تاثیر عصاره آبی هسته انبه (Mangifera indica) بر فعالیت پایه عضلات صاف رحم موش صحرابی بکر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تجربی ۲۴ قطعه میانی رحم موش‌های سالم بکر در حمام بافت حاوی محلول تایروود کربوژن‌ه و تحت تاثیر کشش یک گرم قرار گرفتند. اثرات کاربرد تجمعی غلظت‌های عصاره آبی هسته انبه (۰/۰۰۲، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۰۶) و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و یا حامل عصاره (محلول تایروود) در حضور و عدم حضور آتروپین بر قدرت، فرکانس و فعالیت انقباضی عضلات صاف رحمی، به روش اینزومتریک بررسی شد.

نتایج: غلظت‌های تجمیعی 20 میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی هسته انبه به طور معنی‌داری سبب کاهش قدرت، فعالیت و فرکانس انقباضی عضله صاف رحمی گردید و در غلظت‌های 200 و 2000 میکروگرم عصاره، عملکرد انقباضی به حالت پایه برگشت. آتروپین یک میکرومولار تغییر معنی‌داری در اثرات حاصل از کاربرد تجمیعی عصاره روحی قدرت و فعالیت انقباضی عضله صاف رحم به وجود نیاورد، ولی در غلظت‌های بایین عصاره توانست فرکانس انقباضی، را به طور معنی‌داری تشدید نماید.

نتیجه‌گیری: احتمالاً اثرات عصاره آبی هسته انبه بر عملکرد انقباضی عضلات صاف رحمی از طریق گیرنده‌های موسکارینی صورت نپذیرفته و تشدید اثر عصاره توسط آتروپین روی فرکانس از طریق سایر گیرنده‌ها صورت می‌پذیرد.

بیست و یکم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۶، صفحات ۱۹-۲۷

گیرنده‌های کولینزیک موسکارینی در تمام سلول‌های
وسیله نورون‌های پس عقده‌ای پارامپاتیک و در
افکتوری مانند اتونوم قلب، عضلات صاف رحم، و
عروق توسط انتهای اعصاب کولینزیک سیستم عصبی
تحریک می‌شوند [۷]. تحریک گیرنده‌های کولینزیک موسکارینی استیل کولین باعث افراط عضلات صاف رحم
و این اثر به وسیله آنتاگونیست آتروپین مسدود می‌گردد [۸].
از روش‌های درمانی متعددی برای به تاخیر انداختن زایمان
استفاده می‌گردد و مهار دارویی انتقباضات رحمی
استراتژی به کار رفته در درمان زایمان زودرس است. بدلاً
آنتاگونیست‌ها و داروهای شلکنده متعدد کاهنده تون
رحم برای زنان در معرض خطر تولد و زایمان زودرس
می‌گردد [۹]. باین حال، کارابی داروهای شلکنده
رحمی کاملاً مشخص نشده و مصرف و تجویز نامناسب
برخی موارد منجر به بروز مسمومیت‌های دارویی در مادر
می‌گردد [۱۰]. باتوجه به عوارض ناخواسته و جانبی
صنعتی، گیاهان دارویی بدلیل ماهیت طبیعی اجزاء
ترکیبات همolog دارویی درکنارهم، عوارض جانی پایین‌

مقدمة

تولد نوزادان زودتر از موعد طبیعی از جمله عوارض قبل از زایمان بوده که در سه‌چهارم موارد منجر به مرگ و میر نوزادان شده و در نیمی از موارد به ناتوانی‌های ذهنی و جسمی کودکان منجر می‌گردد [۱]. اگرچه علل زایمان و تولد زودرس دقیقاً مشخص نیست، ولی احتمالاً ترکیبی از عوامل ژنتیکی و محیطی در بروز آن دخالت دارند [۳،۲]. القاء انتقباضات رحمی به عنوان یکی از وظایف اصلی سلول‌های عضله صاف رحم به شمار رفته و گیرنده‌های عصبی و هورمونی متعددی در تنظیم آن دخالت دارند [۴،۶].

۱ دانشیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

^۲ کارشناس ارشد فیزیولوژی، بیمارستان حضرت علی اصغر (ع)، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

^۳ استادیار، گروه علوم سلولی کاربردی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

نشانی نویسنده مسئول:

کاشان، کیلومتر ۵ بلوار قطب راوندی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان
تلفن: ۰۹۱۳۱۶۳۸۱۵۱ - ۰۳۱ ۵۵۵۴۱۱۱۲؛ دوچرخه‌سواری

ممتلكاتي: mnoureddini@yahoo.com

های پایین باعث شل شدن عضله صاف نای موش صحرایی در شرایط بروزنتنی می‌گردد [۳۱]. ما نیز نشان دادیم که کاربرد تجمعی عصاره آبی هسته انبه می‌توانی فرکانس، قدرت و فعالیت انقباضی عضله صاف رحم موش صحرایی را نسبت به حالت پایه بهطور معنی‌داری تغییر دهد [۳۲]. با این‌همه، تاکنون گزارشی در خصوص خاصیت موسکارینی عصاره آبی هسته انبه و یا نقش گیرنده‌های سطح سلولی عضله صاف رحم موش صحرایی بر عملکرد انقباضی آن در تاثیر عصاره آبی هسته انبه ارایه نشده است. در این تحقیق نقش گیرنده‌های موسکارینی عضلات صاف رحم مجزای موش صحرایی بر فرکانس، قدرت و فعالیت انقباضی آن در تاثیر عصاره آبی هسته انبه در حضور آتروپین (مهارکننده عملکرد گیرنده‌های موسکارینی) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

روش تهیه عصاره آبی هسته انبه:
میوه درخت انبه توسط باغ گیاه شناسی کاشان (موقعیت جغرافیایی^۱ ۲۷° ۲۴' " شمالی،^۲ ۵۶° ۰۷' " شرقی و ارتفاع^۳ ۱۸,۳۰۰ متر از سطح دریا) تهیه شد و هسته آن پس از جداسازی به تکه‌های کوچک تقسیم گردید. سپس، تکه‌های هسته در سایه خشک شد و پس از آسیاب شدن به صورت پودر درآمد. برای تهیه عصاره آبی، مقدار ۳۰ گرم از پودر حاصله با آب مقطر دوبار تقطیر مخلوط شد و مخلوط بددست آماده طی ۲۴ ساعت با کاغذ واتمن شماره یک صاف شد. محلول صاف شده در شیشه ساعت ریخته شد و به مدت ۴۸ ساعت درون آون در دمای ۵۵-۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا حلال آن کاملاً تبخیر گردد. پودر عصاره حاصله تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید [۳۳]. درصد وزنی/وزنی خشک عصاره به پودر هسته انبه معادل ۸/۸۲ درصد بود.

حیوانات آزمایشگاهی و آماده‌سازی نمونه‌ها:

در این مطالعه تجربی تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نر از نژاد Sprague-Dawley سالم بکر با وزن تقریبی 220 ± 5 گرم از انسیتو پاستور تهران تهیه شده و به صورت چهارتایی در قفس‌های پلی کربنات تحت مقررات نگهداری و کار تحقیقاتی با حیوانات آزمایشگاهی، در حیوان‌خانه مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کاشان نگهداری شدند. موش‌ها پس از ضربه زدن به پشت گردن بی‌هوش شده و رحم آنها جدا گردید. نمونه‌های رحمی جدا شده در ۴ درجه سانتی‌گراد و داخل محلول کربوژن تایروود با pH=۷/۴ (کلرید سدیم ۱۳۷ میلی‌مolar، کلرید پتاسیم ۲/۶۸ میلی‌molar،

ایران با داشتن اقلیم‌های متنوع محل رویش گونه‌های مختلفی از گیاهان بوده و خواص دارویی برخی از آنها در منابع طب سنتی ایران آورده شده است [۱۳]. براین‌اساس، مطالعات متعددی توسط محققین مختلف کشورمان در خصوص اثرات انواع عصاره‌های گیاهان بومی دارویی روی انقباضات رحمی صورت گرفته است که از جمله آنها می‌توان به بررسی اثرات عصاره آبی-آلکلی گیاه افردا، عصاره آبی دانه انار، و عصاره الکلی کرفس کوهی اشاره نمود و مکانیسم‌های مختلفی در خصوص نحوه اثر هریک از عصاره‌های گیاهی بدست آمده است [۱۴-۱۶]. انبه با نام علمی *Mangifera indica* متعلق به خانواده آنانکاردیاکه (Anacardiaceae) و از تیره پسته‌ایان بوده و در آب و هوای گرم و مرطوب رشد می‌کند. این درخت بومی مناطق آسیایی بوده و در مناطق جنوبی ایران به خصوص استان‌های هرمزگان و سیستان و بلوچستان نیز کشت می‌گردد [۱۷]. استفاده درمانی از انبه به دلیل داشتن خواص آنتی‌بیوتیکی، ضد التهابی و افزایش میل جنسی در درمان بسیاری از بیماری‌ها در بین برخی جوامع انسانی معمول بوده است [۱۸]. میوه انبه سرشار از فیبر، ویتامین C، ویتامین A، ویتامین B₆ می‌باشد. هم‌چنین، میوه انبه دارای انواع متنوعی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بوده و به علت داشتن مقادیر زیاد آهن از کم خونی جلوگیری می‌نماید. این میوه به دلیل داشتن منابع غنی از یون‌های مس، در تولید سلول‌های خونی و تنظیم فعالیت بسیاری از کوفاکتورهای آنزیمی سلولی نقش مهی را ایفاء می‌نماید. میوه تازه انبه سرشار از یون‌های پتاسیم بوده و لذا در تنظیم فعالیت قلب و فشارخون نقش مهمی می‌تواند داشته باشد [۱۹-۲۱]. تحقیقات متعددی نیز در مورد اثرات بیولوژیک انبه انجام شده و به اثرات ضد دیابتی، لیپولیتیک، ضد توموری، ضد دردی، ضد ایدزی، ضد ویروسی، ضد آرژیک، ضد زخم معده‌ای و ضد اسهالی، و دافع کرم روده آن اشاره شده است [۲۱-۲۷]. مطالعات متعددی در مورد اثرات ضد انقباضی عصاره بخش‌های مختلف انبه روی عضلات صاف گزارش شده است؛ بدین‌صورت که بررسی‌ها نشان داده‌اند عصاره آبی پوست درخت انبه از طریق کاهش فعالیت انقباضی سلول‌های عضلات صاف عروق، باعث گشادی عروقی می‌گردد [۲۸]. هم‌چنین، تحقیقات انجام شده نشان داده‌اند که عصاره متابولی هسته انبه می‌توانی قدرت انقباض عضلات صاف رحم موش صحرایی و عضلات جدار ژوژنوم خرگوش را کاهش دهد [۲۹]. در مطالعه Alkizim و همکاران، فعالیت انقباضی ژوژنوم ایزوله خرگوش در اثر تیمار با عصاره آبی هسته انبه به صورت واپسی به غلظت کاهش یافت [۳۰]. هم‌چنین، Agbonon و همکاران نشان داده‌اند که عصاره آبی پوست ساقه انبه در غلظت-

حجم مواد اضافه شده حداکثر ۱/۵ برابر حجم محیط بافت ایزوله بود.

آنالیز آماری:

مقایسه میانگین تمامی نتایج به دست آمده با نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ انجام شد. مقایسه درون گروهی اثر تجمیعی عصاره در حضور و یا عدم حضور آتروپین بر پایه روش های آماری Repeated measure و مقایسه اثرات حامل عصاره تجمعی با اثرات کاربرد تجمعی عصاره آبی هسته انبه در حضور و یا عدم حضور آتروپین با روش آماری ANOVA دو طرفه صورت پذیرفت و میانگین ها در سطح معنی داری ۵ درصد با سطح اطمینان ۹۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج

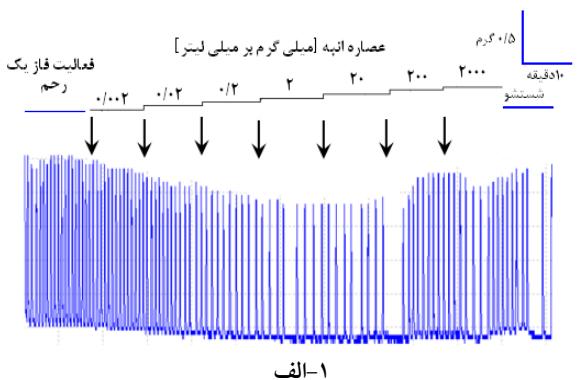
در شکل شماره ۱ ثبت فعالیت رحمی در غلظت های مختلف اثرات تجمعی عصاره آبی هسته انبه بدون حضور آتروپین (الف) و در حضور آتروپین (ب) در حمام بافتی روی قدرت، فرکانس و فعالیت انقباضی عضلات صاف رحم موش صحرابی نشان داده شده است. همانطور که در شکل شماره ۱ نشان داده شده است، غلظت های ۰/۰۰۲ تا ۲۰ میکرو گرم بر میلی لیتر عصاره آبی هسته انبه به صورت تجمعی و به طور کاملاً معنی دار توانست فعالیت انقباض رحمی را نسبت به گروه کنترل کاهش دهد $H=6$, $P<0/05$, $F(10,1)=20/94$. ANOVA دو طرفه و فعالیت پایه انقباضی رحم به صورت معنی داری از ۱۰۰ درصد به ۷۰ درصد Repeated measure یافت ($N=6$, $P<0/05$, $F(1,5)=562/6$). اثرا کاهش یافت (measured), ولی غلظت های ۲۰۰ و ۲۰۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر عصاره قادر اثر شل کنندگی معنی دار بود و فعالیت انقباضی عضله صاف رحم موش صحرابی به حالت پایه برگشت. غلظت های تجمعی ۰/۰۰۲ تا ۲۰۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر عصاره آبی هسته انبه در حضور آتروپین یک میکرومول همچنان اثرات خود بر عضله صاف رحم را حفظ نمود و آتروپین تاثیر معنی داری بر اثرات عصاره روی فعالیت انقباضی عضله صاف رحم نداشت ($P>0/05$, $F(10,1)=0/7$, ANOVA دو طرفه) (جدول شماره ۱). تیمار قطعه عضلات صاف رحمی با غلظت های تجمعی ۰/۰۰۲ تا ۲۰ میکرو گرم بر میلی لیتر عصاره آبی هسته انبه به طور معنی داری سبب کاهش قدرت پایه انقباضی عضلات صاف رحمی نسبت به گروه کنترل گردید ($N=6$, $P<0/05$, $F(10,1)=20/28$). ANOVA دو طرفه و قدرت پایه انقباضی عضلات صاف رحمی را از ۱۰۰ درصد به ۶۵ درصد کاهش داد ($N=6$, $P<0/05$, $F(1,5)=10/8$). Repeated

کلرید کلسیم ۱/۸ میلی مولار، کلرید منیزیم ۱/۰۵ میلی مولار، سدیم دی هیدروژن فسفات ۰/۴۲ میلی مولار، کربنات هیدروژن سدیم ۱۱/۹ میلی مولار، و گلوکز ۵/۵ میلی مولار)، به مدت ۶۰ دقیقه نگهداری شد.

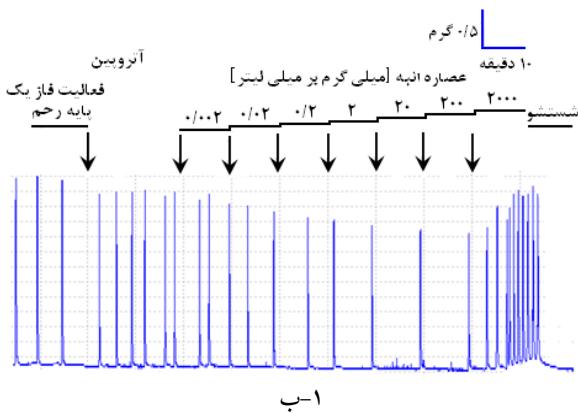
روش انجام پژوهش:

در تحقیق حاضر از مدل عضله صاف رحم دارای فعالیت انقباضی پایه برای بررسی اثرات عصاره آبی هسته انبه بر آن استفاده شد [۳۴]: بدین منظور، از قسمت میانی هر شاخ رحم، قطعه ای به طول ۱-۱/۵ سانتی متر جدا شد و در کل ۲۴ قطعه میانی رحم جهت بررسی اثرات تجمعی حامل عصاره (محلول کربوژن تایرود) و یا عصاره آبی هسته انبه در حضور و عدم حضور آتروپین بر قدرت، فرکانس و فعالیت انقباضی عضلات صاف رحمی مورد استفاده قرار گرفت. ثبت قدرت، فرکانس و فعالیت انقباضی عضلات صاف رحمی توسط دستگاه پن لب ISO 510 (Isometric TR (AD Spain) متصل به مبدل ایزو متريک ۱۲۰۲P, Spain) در حمام ایزوله بافتی حاوی تایرود کربوژن پذیرفت. ابتدا نمونه ها به حمام ایزوله بافتی حاوی تایرود کربوژن با درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد و $pH=7/4$ منتقل شده و تحت کشش اولیه ۱ گرم به مدت ۶۰ دقیقه (دوره سازگاری) قرار گرفتند. در طول این مدت محلول حمام هر ۱۵ دقیقه تعویض گردید [۳۵]. زمانی که فعالیت پایه عضله صاف رحمی ثابت شد، اثرات کاربرد تجمعی حامل عصاره و یا کاربرد تجمعی غلظت های اثرا کاهش یافت ($N=6$, $P<0/02$, $F(1,5)=2000$ میکرو گرم بر میلی لیتر عصاره آبی هسته انبه روی قدرت، فرکانس و فعالیت انقباضی عضلات صاف رحم ثبت شدند. به منظور بررسی خصوصیات آتناگونیستی عصاره آبی هسته انبه بر گیرنده های کولینرژیک موسکارینی عضله صاف رحم، آتروپین ($1\mu M$) به حمام بافتی اضافه شد. میزان قدرت، فرکانس و فعالیت انقباضی عضلات صاف رحمی به مدت ۲۰ دقیقه ثبت شد. سپس، عصاره آبی هسته انبه معادل ۰/۰۰۲, ۰/۰۲, ۰/۰۲, ۰/۰۲ و ۲۰۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر به صورت کاربرد تجمعی و با فاصله زمانی ۱۰ دقیقه و در هر مرحله ۱۰۰ میکرولیتر به حمام بافتی اضافه شد و اثرات عصاره بر میزان قدرت، فرکانس و فعالیت انقباضی عضلات صاف رحمی در حضور آتروپین یک میکرومولار ثبت و بررسی گردید. پس از اتمام هر آزمایش، محلول حمام سه بار با فاصله زمانی حداقل پنج دقیقه تعویض شده و در نهایت با برگشت فعالیت انقباضی عضله صاف به حالت پایه، آزمایش سه بار تکرار شد و میانگین نتایج به عنوان پاسخ یک نمونه برای یک آزمایش استفاده شد. مجموع

در فرکانس، قدرت و فعالیت انقباضی (سطح زیر منحنی) عضله صاف رحم موش صحرایی در مقایسه با گروه کنترل نشد ($P>0.05$).



۱-الف



۱-ب

شکل شماره ۱- ثبت فعالیت (فرکانس و قدرت انقباض) رحمی در غلظت‌های مختلف اثرات تجمعی عصاره آبی هسته انبه بدون حضور آتروپین (الف) و در حضور آتروپین (ب) در حمام بافتی

(measure)؛ با این حال، قدرت انقباضی عضله صاف رحم موش صحرایی در مواجهه با غلظت‌های ۲۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر به حالت پایه برگشت. آتروپین یک میکرومول تاثیر معنی‌داری روی عملکرد غلظت‌های تجمعی ۰/۰۰۲ تا ۰/۰۰۴ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره آبی هسته انبه در جایه‌جایی قدرت انقباضی رحم نداشت ($P>0.05$, $F(1,10)=0.254$). فرکانس انقباضات عضله صاف رحمی نیز در (جدول شماره ۲). فرکانس انقباضات عضله صاف رحمی نیز در حضور غلظت‌های تجمعی ۰/۰۰۲ تا ۰/۰۰۴ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره آبی هسته انبه به صورت کاملاً معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ($n=6$, $F(1,10)=75$, $P<0.05$). در صد رسید ($n=6$, $F(1,10)=2320/8$)، ولی فرکانس انقباضات عضله صاف رحم موش صحرایی در مواجهه با دو غلظت ۲۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره آبی هسته انبه به حالت پایه برگشت. آتروپین یک میکرومولا ر توانست اثر مهار ناشی از کاربرد غلظت‌های تجمعی ۰/۰۰۲ تا ۰/۰۰۴ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره آبی هسته انبه بر فرکانس انقباضی عضلات رحمی را به طور معنی‌داری تقویت نماید ($n=6$, $F(1,10)=36/0.8$)، در صد رسید ($n=6$, $F(1,10)=314/6$, $P<0.05$)، آتروپین یک میکرومولا ر تاثیر معنی‌داری بر برگشت فرکانس انقباضات عضله صاف رحم موش صحرایی در مواجهه با دو غلظت ۲۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره آبی هسته انبه به حالت پایه نداشت (جدول شماره ۳). لازم به ذکر است که حامل عصاره باعث ایجاد تغییر معنی‌دار

جدول شماره ۱- نتایج حاصل از کاربرد تجمعی عصاره آبی هسته انبه در غلظت‌های مختلف در حضور یا عدم حضور آتروپین یک میکرومولا ر بر فعالیت انقباضی (سطح زیر منحنی) عضلات صاف رحمی به همراه گروه‌های گروه کنترل و آتروپین.

گروه	پایه	غله	$\bar{X} \pm SD$								
			۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۴	۰/۰۰۶	۰/۰۰۸	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۶
کنترل			۹۴/۱۰±۶	۸۶/۱۶±۹	۸۷/۵±۳/۸	۸۸/۲±۱۱/۸	۹۷/۶±۷/۳	۹۸/۹±۱/۳	۱۰۱/۳±۰/۶	۱۰۰±۰	۹۶/۳±۵
آتروپین			۸۸/۵±۱۶/۲	۸۵/۲±۱۶/۳	۸۴/۸±۶/۲	۸۴±۹/۵	۸۸/۳±۴	۸۹/۸±۶/۳	۹۵/۲±۸/۷	۱۰۰±۰	۹۸/۱±۲/۴
عصاره			۸۸/۶±۱۷/۸	۸۶/۵±۱۱/۴	۶۹/۵±۳/۸*	۶۹/۹±۲	۷۳/۴±۵/۲	۸۰/۷±۲/۵	۸۵/۶±۰/۲	۱۰۰±۰	۱۰۰
عصاره+آتروپین			۸۷/۵±۱۴/۷	۸۴/۹±۱۶/۵	۶۳/۳±۹/۸*	۶۶/۶±۱/۴	۷۱±۲/۵	۷۸/۸±۳/۴	۸۳/۸±۱/۶	۱۰۰±۰	۱۰۶±۳/۷

داده‌ها به صورت $\bar{X} \pm SD$ نشان داده شده و $N=6$ است. مقایسه نتایج بین گروه‌های مختلف با روش آماری Two way ANOVA پذیرفته است. $P<0.05$ * کاربرد تجمعی غلظت‌های ۰/۰۰۲ تا ۰/۰۰۴ میکروگرم عصاره آبی هسته انبه در حضور یا عدم حضور آتروپین در مقایسه با گروه کنترل و یا آتروپین.

جدول شماره ۲- نتایج حاصل از کاربرد تجمعی عصاره آبی هسته انبه در غلظت‌های مختلف در حضور یا عدم حضور آتروپین یک میکرومولار بر قدرت انقباضی عضلات صاف رحمی بهمراه گروه‌های گروه کنترل و آتروپین.

گروه	غلظت	پایه	۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۴	۰/۰۲	۰/۲	۲	۲۰	۲۰۰	۲۰۰
$\bar{X} \pm SD$											
کنترل											
آتروپین											
عصاره											
آتروپین + عصاره											

داده‌ها به صورت $\bar{X} \pm SD$ نشان داده شده و $N=6$ است. مقایسه نتایج بین گروه‌های مختلف با روش آماری Two way ANOVA پذیرفت. $*P<0.05$ کاربرد تجمعی غلظت‌های ۰/۰۰۲ تا ۰/۰۰۴ میکرومولار عصاره آبی هسته انبه در حضور و یا عدم حضور آتروپین در مقایسه با گروه کنترل و یا آتروپین.

جدول شماره ۳- نتایج حاصل از کاربرد تجمعی عصاره آبی هسته انبه در غلظت‌های مختلف در حضور یا عدم حضور آتروپین یک میکرومولار بر فرکانس انقباضی عضلات صاف رحمی به همراه گروه‌های گروه کنترل و آتروپین.

گروه	غلظت	پایه	۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۴	۰/۰۲	۰/۲	۲	۲۰	۲۰۰	۲۰۰
$\bar{X} \pm SD$											
کنترل											
آتروپین											
عصاره											
آتروپین + عصاره											

داده‌ها به صورت $\bar{X} \pm SD$ نشان داده شده و $N=6$ است. مقایسه نتایج بین گروه‌های مختلف با روش آماری Two way ANOVA پذیرفت. $*P<0.05$ کاربرد تجمعی غلظت‌های ۰/۰۰۲ تا ۰/۰۰۴ میکرومولار عصاره آبی هسته انبه در حضور و یا عدم حضور آتروپین در مقایسه با گروه کنترل و یا آتروپین.

مشخص گردد. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که اثرات شل کنندگی اکثر عصاره‌های گیاهی بر انقباض عضله رحمی به‌واسطه اثر مهاری آنها روی گیرنده‌های آلفا وابسته به اکسی‌توسین و در برخی موارد از طریق مهار گیرنده‌های کولینرژیک موسکارینی نیز صورت می‌گردد [۳۸-۴۰]. عضلات صاف رحم موش دارای گیرنده‌های M3 و M2 موسکارینی بوده و بیان mRNA این دو گیرنده نشان داده شده است [۴۱-۴۲]. گیرنده M3 کولینرژیک موسکارینی از طریق مسیر اینوزیتول سه فسفات و دی اسیل گلیسرول منجر به باز شدن کانال کلیسیمی و ایجاد پاسخ انقباضی در عضله صاف رحم می‌گردد و گیرنده M2 در افزایش قدرت انقباضی عضله صاف رحم به گیرنده M3 کمک می‌نماید [۴۵-۴۶]. Ahmed و همکاران نشان دادند که غلظت‌های پایین عصاره مтанولی هسته انبه باعث کاهش فعالیت پایه انقباضی رحم ایزوله موش صحرائی به صورت وابسته به دوز شده و در دوزهای بالا می‌تواند فعالیت انقباضی پایه رحم را متوقف نماید، ولی تزریق عصاره مтанولی هسته انبه قبل از تیمار با استیل کولین باعث مهار اثر تحریکی استیل کولین بر رحم ایزوله می‌گردد؛ به‌طوری‌که عصاره مтанولی هسته انبه انقباضات نرمال رحم را مهار نموده و

بحث

تحقیق قبلی ما نشان داد که غلظت‌های تجمعی ۰/۰۰۲ تا ۰/۰۰۴ میکرومولار عصاره آبی هسته انبه باعث کاهش میزان فرکانس، قدرت و فعالیت انقباضی پایه عضله صاف رحم موش صحرایی می‌شود. به علاوه میزان قدرت، فرکانس و فعالیت انقباضی پایه (سطح زیر منحنی) عضلات صاف رحم موش صحرایی در مواجهه با غلظت ۰/۰۰۴ و ۰/۰۰۵ میکرومولار بر میلی لیتر به حالت پایه برگشت [۳۲]. برای نتایج حاصله دو فرضیه در نظر گرفته شد: اینکه احتمالاً افزایش غلظت عصاره باعث افزایش مقادیر ترکیبات انقباضی و غالب شدن اثر آنها بر تاثیرات ترکیبات شل‌کننده شده و یا اینکه احتمالاً دو نوع گیرنده شل‌کننده و منقبض کننده در سطح سلول وجود دارد که در غلظت‌های پایین عصاره گیرنده‌های شل‌کننده تحریک گردیده و منجر به شلی عضله شده و در غلظت‌های بالا گیرنده‌های منقبض کننده نیز تحریک می‌گردند؛ به‌طوری‌که برآیند حاصل عملکرد دو گیرنده در غلظت‌های بالا منجر به کاهش اثر شل‌کنندگی و برگشت به حالت پایه می‌شود [۳۷-۳۶]. برای رسیدن به علت‌یابی نحوه اثر عصاره، در قدم اول باستی نقش عناصر موثر در عصاره آبی و تاثیر آنها بر گیرنده‌های موثر در نحوه اثر عصاره

انقباضی هسته انبه محلول در الکل می‌باشدند. براین اساس، می‌توان نتیجه گرفت که اثرات مهاری عصاره آبی هسته انبه بر فعالیت پایه عضله صاف رحم در نتیجه وجود مواد غیرکولینرژیک در عصاره بوده و بنابراین تاثیر عصاره به‌واسطه اثر روی گیرنده‌های کولینرژیک موسکارینی نمی‌باشد. از طرف دیگر آتروپین توانست تاثیر کاربرد تجمیع غلظت‌های پایین عصاره آبی هسته انبه بر فرکانس انقباضی عضلات رحمی را به‌صورت معنی‌داری تشدید نماید. مطالعات نشان داده‌اند که کانال‌های یونی موثر بر فرکانس انقباض از نوع پتاسیمی و کانال‌های یونی موثر بر قدرت انقباضی عمدتاً از نوع کلسیمی می‌باشد [۴۹، ۴۸]. بنابراین، احتمال می‌رود که آتروپین از طریق مسیرهای غیرکولینرژیک مانند اثر بر کانال‌های پتاسیمی منجر به تقویت اثر غلظت‌های پایین عصاره آبی هسته انبه بر فرکانس فعالیت رحمی شده است؛ فرایندی که باستی صحت آن به‌صورت دقیق بررسی گردد.

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت احتمالاً اثرات عصاره آبی هسته انبه بر عملکرد انقباضی عضلات صاف رحمی از طریق گیرنده‌های موسکارینی صورت نپذیرفته و تشدید اثر عصاره توسط آتروپین روی فرکانس از طریق سایر گیرنده‌ها صورت می‌پذیرد. روشن شدن مکانیسم دقیق عملکرد این عصاره نیازمند جداسازی ترکیبات موثر عصاره، تاثیر آنها بر روی سایر گیرنده‌های سلولی و مسیر سیگنال مولکولی آن می‌باشد. این امر می‌تواند زمینه را برای بررسی مکانیسم اثر شل کنندگی یا انقباضی عناصر موثره هسته انبه و استفاده از آن برای تهیه داروهای درمانی ضد زایمان زودرس را در آینده فراهم سازد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی پزشکی بوده و با حمایت‌های معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان با شماره طرح ۹۲۳۶ صورت پذیرفته است. نویسنده‌گان مقاله از همکاری کلیه همکاران محترم در معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References:

- [1] Chang E. Preterm birth and the role of neuroprotection. *BMJ* 2015; 350: g6661.
- [2] Dolan SM. Genetic and environmental

فعالیت انقباضی افزایش یافته رحمی توسط استیل کولین را در مقایسه با آدرنالین کاهش می‌دهد [۲۹]. هم‌چنین، مطالعات نشان داده‌اند که عصاره الکلی پوست ساقه انبه می‌تواند فعالیت انقباضی افزایش یافته تراشه موش صحرایی توسط استیل کولین و هیستامین در محیط برون‌تنی را به‌طور کاملاً معنی‌داری کاهش دهد [۴۶]. بنابراین نتایج فوق الذکر به‌نظر می‌رسد که ترکیب مشترک آنتی-موسکارینی در عصاره‌های الکلی هسته میوه و پوست ساقه بوده و احتمالاً از طریق گیرنده‌های کولینرژیک موسکارینی منجر به اثرات فوق می‌شوند. اما اینکه آیا اثر عصاره آبی هسته انبه دارای عناصر موثر بر گیرنده‌های موسکارینی می‌باشد، مشخص نیست. به‌علاوه، هرگونه تحقیق علمی نیز که در آن به نقش عناصر موسکارینی عصاره آبی هسته انبه و بر انقباض عضله صاف رحمی پرداخته شده باشد، بدست نیامد. بر این اساس، در طرح مذکور اثر عصاره آبی هسته انبه بر گیرنده‌های موسکارینی عضله صاف رحمی بررسی گردید و بدین‌منظور از آتروپین با غلظت یک میکرومولار به‌عنوان آنتاگونیست غیرانتخابی این گیرنده‌ها استفاده شد. در مطالعه حاضر مهار فعالیت گیرنده‌های کولینرژیک موسکارینی به وسیله آتروپین تاثیر معنی‌داری روی اثر عصاره آبی هسته انبه در قدرت و فعالیت انقباضی پایه رحم نشان نداد. غلظت‌های پایین عصاره آبی هسته انبه در حضور آنتاگونیست غیرانتخابی گیرنده‌های کولینرژیک موسکارینی سبب کاهش انقباض عضله صاف رحمی گردید و در غلظت‌های بالاتر سبب برگشت فعالیت و قدرت انقباضی به‌حالت پایه گردید. باتوجه به اینکه آتروپین در محیط وجود داشته و روی گیرنده‌های کولینرژیک مستقر بوده، چنانچه عصاره آبی هسته انبه دارای خاصیت آنتی‌کولینرژیک می‌بود، استقرار آتروپین روی این گیرنده‌ها مانع ایجاد تاثیر معنی‌دار غلظت‌های پایین عصاره آبی هسته انبه بر کاهش قدرت و فعالیت انقباضی پایه رحمی و نیز مانع برگشت فعالیت انقباضی پایه رحمی از حالت مهاری به حالت پایه در غلظت‌های بالا می‌شد. در عصاره گیری الکلی هر دو نوع ترکیبات محلول در آب و محلول در چربی استخراج می‌گردد، ولی در عصاره گیری آبی فقط ترکیبات محلول در آب جدا می‌گردند [۴۷]. باتوجه به خواص آنتی‌کولینرژیک عصاره الکلی و عدم وجود این خاصیت در عصاره آبی به‌نظر می‌رسد احتمالاً عناصر موثر آنتی‌موسکارینی در کاهش قدرت

contributions to racial disparities in preterm birth. *Mt Sinai J Med* 2010; 77(2): 160-65.

- [3] Swaggart KA, Pavlicev M, Muglia LJ.

- Genomics of Preterm Birth. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015; 5(2): a023127.
- [4] Engström T. Myometrial receptors in rat parturition. *Dan Med Bull* 2003; 50(3): 219-37.
- [5] López Bernal A. The regulation of uterine relaxation. *Semin Cell Dev Biol* 2007; 18(3): 340-47.
- [6] Darios ES, Seitz B, Watts SW. Smooth muscle pharmacology in the isolated virgin and pregnant rat uterus and cervix. *J Pharmacol Exp Ther* 2012; 341(3): 587-96.
- [7] Crankshaw DJ. Pharmacological techniques for the in vitro study of the uterus. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2001; 45(2): 123-40.
- [8] Varol FG, Hadjiconstantinou M, Zuspan FP, Neff NH. Pharmacological characterization of the muscarinic receptors mediating phosphoinositide hydrolysis in rat myometrium. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 249(1): 11-5.
- [9] Vogel JP, Nardin JM, Dowswell T, West HM, Oladapo OT. Combination of tocolytic agents for inhibiting preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; (7): CD006169.
- [10] Hösli I, Sperschneider C, Drack G, Zimmermann R, Surbek D, Irion O. Swiss Society of Obstetrics and Gynecology. Tocolysis for preterm labor: expert opinion. *Arch Gynecol Obstet* 2014; 289(4): 903-9.
- [11] Cordell GA, Colvard MD. Natural products and traditional medicine: turning on a paradigm. *J Nat Prod* 2012; 75(3): 514-25.
- [12] Bielory L, Russin J, Zuckerman GB. Clinical efficacy, mechanisms of action, and adverse effects of complementary and alternative medicine therapies for asthma. *Allergy Asthma Proc* 2004; 25(5): 283-91.
- [13] Mills E, Dugoua JJ, Perri D, Koren G. Herbal medicines in pregnancy and lactation: an evidence-based approach: CRC Press; 2013.
- [14] Ahangarpour A, Heidari R, Abdollahzadeh M, Oroojan AA. Antispasmodic Effects of Aqueous and Hydroalcoholic Punica granatum Flower Extracts on the Uterus of Non-pregnant Rats. *J Reprod Infertil* 2012; 13(3): 138-42.
- [15] Noureddini M, Namdar F, Hidari A, Benafshe H. The effect of aqueous extract of pomegranate seed on rat uterine smooth muscle contractility. *Physiol Pharmacol* 2014; 17(4): 461-8. [in Persian]
- [16] Habibian R, Rafieian Kopaei M, Mohammadzade Z. Effect of hydroalcoholic extract of kelussia odoratissima mozaffarian on uterus contractions of mature rats. *Quarterly Horizon Med Sci* 2015; 21(3): 169-74. [in Persian]
- [17] Eslamian SS, Sharifani M. Humid Region Crops. Aeij Publishing; 2010. P. 145-78. [In Persian]
- [18] Shah KA, Patel MB, Patel RJ, Parmar PK. Mangifera Indica (mango). *Pharmacogn Rev* 2010; 4(7): 42-8.
- [19] Bragança VL, Melnikov P, Zanoni LZ. Trace element in fruit juices. *Biol Trace Elem Res* 2012; 146(2): 256-61.
- [20] Arif M, Fareed S, Rahman MA. Stress relaxant and antioxidant activities of acid glycoside from Spondias mangifera fruit against physically and chemically challenged albino mice. *J Pharm Bioallied Sci* 2016; 8(1): 58-63.
- [21] Parvez GM. Pharmacological activities of mango (Mangifera Indica): A review. *J Pharmacognosy Phytochemistry* 2016; 5(3): 1-7
- [22] Gondi M, Basha SA, Bhaskar JJ, Salimath PV, Rao UJ. Anti-diabetic effect of dietary mango (Mangifera indica L.) peel in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Sci Food Agric* 2015; 95(5): 991-9.
- [23] Mohanvelu R, Madhuri AS, Ramabhadraiah S. Evaluation of analgesic activity of aqueous extract of Mangifera indica leaves in albino rats. *Int J Basic Clin Pharmacol* 2015; 4(1): 107-10.
- [24] Rivera DG, Balmaseda IH, León AA, Hernández BC, Montiel LM, et al. Anti-allergic properties of Mangifera indica L. extract (Vimang) and contribution of its glucosylxanthone mangiferin. *J Pharm Pharmacol* 2006; 58(3): 385-92.
- [25] Prabhu K, Rajan S. Assessment of Antiulcer Activity of Ethanolic Extract of Mangifera indica Seed Kernel Using Acid Ethanol Induced Ulcer Model. *Int J Current Microbiol App Sci* 2015; 4(4): 854-60.
- [26] Yakubu MT, Salimon SS. Antidiarrhoeal activity of aqueous extract of Mangifera indica L. leaves in female albino rats. *J Ethnopharmacol* 2015; 163: 135-41.
- [27] Pallab K. An Overview on Mangifera Indica Importance and Its Various Pharmacological Action. *PharmaTutor* 2014; 2(12): 72-6.
- [28] Beltrán AE, Alvarez Y, Xavier FE, Hernanz R, Rodriguez J, et al. Vascular effects of the Mangifera indica L. extract (Vimang). *Eur J Pharmacol* 2004; 499(3): 297-305.
- [29] Ahmed A, Eltyeb I, Mohamed A. Pharmacological activities of Mangifera indica Fruit Seeds Methanolic Extract. *Omdurman J Pharmaceutical Sci* 2006; 1(2): 216-31.
- [30] Alkizim FO, Matheka D, Abdulrahman FK, Muriithi A. Inhibitory effect of Mangifera indica on gastrointestinal motility. *J Med Chem Drug Disco* 2012; 2(1): 9-16.
- [31] Agbonon A1, Eklu-Gadegbeku K, Aklikokou K, Essien K, Akpagana K, Gbeassor M. The effect of Mangifera indica stem bark and Pluchea ovalis roots on tracheal smooth muscle in vitro. *Fitoterapia* 2002; 73(7-8): 619-22.
- [32] Dehghan Shiebani M, Noureddini M. Effect of Aqueous Extract of Mangifera Indica Seed on the Basic Contractility, Frequency and Strength of Isolated Virgin Rat Uterine Smooth Muscle. CHJ. 2014; 8(2): 66-73.]
- [33] Sairam K, Hemalatha S, Kumar A, Srinivasan T, Ganesh J, Shankar M, et al. Evaluation of anti-

- diarrhoeal activity in seed extracts of *Mangifera indica*. *J Ethnopharmacol* 2003; 84(1): 11-5.
- [34] Maggio CD, Jennings SR, Robichaux JL, Stapor PC, Hyman JM. A modified Hai-Murphy model of uterine smooth muscle contraction. *Bull Math Biol* 2012; 74(1): 143-58.
- [35] Keskil Z, Bayram M, Ercan ZS, Türker RK. The contribution of nitric oxide and endothelins to angiotensin II. Evoked responses in the rat isolated uterus smooth muscle. *Gen Pharmacol* 1999; 33(4): 307-12.
- [36] Bausher LP, Gregory DS, Sears ML. Interaction between alpha 2- and beta 2-adrenergic receptors in rabbit ciliary processes. *Curr Eye Res* 1987; 6(3): 497-505.
- [37] McNellis EL, Bausher LP. Stimulatory and inhibitory cyclic AMP responses in rabbit ciliary processes after cervical ganglionectomy. *Curr Eye Res* 1991; 10(5): 399-407.
- [38] Ahangarpour A, Amirzargar A, Oroojan AA, Bakhtiyarizadeh H, Nikraftar O. The effect of *Daucus carota* aqueous extract on uterine contractions of non-pregnant rats. *Daneshvar Med* 2012; 19(3): 67-74. [in Persian]
- [39] Yektafarast-Movafegh K, Panahi N, Sadeghi Hashjin G. Antispasmodic effect of *Ephedra major* extract on adrenergic and calcium channels receptors in the rat uterus. *J Comparative Pathol* 2015; 12(1): 1569-75. [in Persian]
- [40] Cole NM, Carvalho JC, Erik-Soussi M, Ramachandran N, Balki M. In Vitro Comparative Effect of Carbetocin and Oxytocin in Pregnant Human Myometrium with and without Oxytocin Pretreatment. *Anesthesiology* 2016; 124(2): 378-86.
- [41] Gruber CW, O'Brien M. Uterotonic plants and their bioactive constituents. *Planta Med* 2011; 77(3): 207-20.
- [42] Kitazawa T, Hirama R, Masunaga K, Nakamura T, Asakawa K, Cao J, et al. Muscarinic receptor subtypes involved in carbachol-induced contraction of mouse uterine smooth muscle. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2008; 377(4-6): 503-13.
- [43] Abdalla FM, Maróstica E, Picarelli ZP, Abreu LC, Avellar MC, Porto CS. Effect of estrogen on muscarinic acetylcholine receptor expression in rat myometrium. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 213(2): 139-48.
- [44] Kitazawa T, Hashiba K, Cao J, Unno T, Komori S, Yamada M, et al. Functional roles of muscarinic M2 and M3 receptors in mouse stomach motility: studies with muscarinic receptor knockout mice. *Eur J Pharmacol* 2007; 554(2-3): 212-22.
- [45] Yasuda K, Sumi G, Kanamori C, Nakajima T, Tsuzuki T, Cho H, et al. Effects of ovarian hormone treatment on the gene expression of muscarinic acetylcholine receptors in the ovariectomized rat myometrium. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014; 143: 81-9.
- [46] Agbonon A, Aklikokou K, Gbeassor M. *Mangifera indica* stem bark effect on the rat trachea contracted by acetylcholine and histamine. *Pharm Biol* 2005; 43(5): 475-9.
- [47] Alani B, Zare M, Noureddini M. Bronchodilatory and B-adrenergic effects of methanolic and aqueous extracts of *Althaea* root on isolated tracheobronchial smooth rat muscle. *Adv Biomed Res* 2015; 4: 78.
- [48] Al-Otaibi MA. The physiological mechanism of uterine contraction with emphasis on calcium ion. *Calcium Signaling* 2014; 1(2): 70-5.
- [49] Brainard AM, Korovkina VP, England SK. Potassium channels and uterine function. *Semin Cell Dev Biol* 2007; 18(3): 332-9.