Physiology and Pharmacology, 17 (3), 349-358
Autumn 2013 [Article in Persian]

Physiology
and
Pharmacology

The effect of hydro-alcoholic extract of *Glycyrrhiza glabra* on the cardiovascular system of male rats with normal blood pressure and its interaction with cholinergic and adrenergic systems

Seyed Esmaeil Khoshnam[1*], Amin allah Bahaoddini

Dept. of Biology, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 9 Mar 2013 **Accepted: 23 Aug 2013**

Abstract

Introduction: *Glycyrrhiza glabra* (Licorice) has been traditionally used as a medicinal plant in Iran for treatment of diseases such as gastric ulcer and arthrosclerosis. In this study, in order to determine some of its mechanisms, effects of hydroalcoholic extract of *Glycyrrhiza glabra* was examined on the blood pressure in rats.

Methods: Adult male rats were anesthetized via injection of pentobarbital sodium, then the femoral vein and the femoral artery were canulated for injections and blood pressure recordings, respectively. Blood pressure and heart rate were recorded by pressure transducer linked to A-D instrument power lab. Tested groups were as follows: The first group, received *Glycyrrhiza glabra* extract (90mg/kg) and equivalent volume of the Licorice solvent (ethanol %70). The second group received *Glycyrrhiza glabra* extract and acetylcholine (0.01 mg/kg). The third group received *Glycyrrhiza glabra* extract and epinephrine (0.04 mg/kg).

Results: The data showed a significant decrease of blood pressure (mean blood pressure, systolic and diastolic pressure) in the presence of licorice extract, licorice and epinephrine, licorice and acetylcholine compared to the control condition.

Conclusion: It can be concluded that *Glycyrrhiza glabra* has a hypotensive effect on blood pressure via modulation of adrenergic system and synergistic effect with cholinergic system.

Key words: *Glycyrrhiza glabra* extract, cholinergic system, adrenergic system, blood pressure, rat

[*] Corresponding author e-mail: esmaeil.khoshnam1392@gmail.com
Available online at: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۷ (۳)، ۳۴۹ - ۳۵۸
پاییز ۱۳۹۲

فیزیولوژی و فارماکولوژی

اثر عصاره آبی- الکلی ریزوم شیرین بیان بر سیستم قلب و عروق موش‌های صحرایی نر با فشار خون طبیعی و تداخل اثر آن با سیستم‌های کولینرژیک و آدرنرژیک

سید اسماعیل خوشنام*، امین الله بهاالدینی
بخش زیست شناسی، دانشکده علوم دانشگاه شیراز، شیراز

دریافت: ۱۹ اسفند ۹۱ پذیرش: ۱ شهریور ۹۲

چکیده

مقدمه: گیاه شیرین بیان (*Licorice*) از گیاهان دارویی بومی ایران است که در طب سنتی برای درمان بیماری‌هایی از جمله زخم معده و تصلب شرایین مورد استفاده قرار گرفته است. در تحقیق حاضر جهت بررسی برخی از مکانیسم‌های آن، اثرات عصاره آبی-الکلی ریزوم شیرین بیان بر فشار خون به روش زیر مورد آزمایش قرار گرفت:

روش ها: موش‌های صحرایی نر بالغ به وسیله تزریق پنتوباربیتال سدیم بیهوش شده سپس سیاهرگ و سرخرگ رانی حیوان به ترتیب برای تزریق و اندازه گیری فشار خون کانول گذاری شدند. فشار خون و ضربان قلب توسط ترانس دیوسر فشار متصل به Power LabA to D ثبت گردید. گروه‌های مورد آزمایش به این شرح بودند: گروه اول، عصاره شیرین بیان (۹۰mg/kg) و معادل هم حجم آن، حلال شیرین بیان (اتانول ۷۰ درصد) دریافت می‌کردند. گروه دوم، عصاره و استیل کولین (۰/۰۱ mg/kg) دریافت می‌کردند. گروه سوم، عصاره و اپی نفرین (۰/۰۴mg/kg) دریافت می‌کردند.

یافته ها: نتایج نشان دهنده کاهش معنی دار فشار خون (فشار میانگین سرخرگی، فشار سیستولی و دیاستولی) در حضور عصاره شیرین بیان، عصاره و اپی نفرین، عصاره و استیل کولین در مقایسه با حالت کنترل می‌باشد.

نتیجه گیری: می‌توان نتیجه گرفت که عصاره گیاه شیرین بیان اثرات کاهش دهندگی فشار خون از طریق مهار سیستم آدرنرژیک و تقویت سیستم کولینرژیک داشته است.

واژه‌های کلیدی: شیرین بیان، سیستم کولینرژیک، سیستم آدرنرژیک، فشار خون، موش صحرایی

مقدمه

شیرین بیان از گیاهان بسیار قدیمی در طب سنتی است که اثرات درمانی وسیعی بر بیماری‌هایی مانند زخم معده، آترواسکلروزیس و بیماری‌های پیچیده نظیر سرطان داشته است [۱۹]. ترکیبات اصلی شیرین بیان شامل ساپونین ها، فلاونوئیدها - نظیر لیکوریتین و ایزولیکوریتین، ایزوفلاون ها، لیکورتی جنین چالکون که موجب دفع اسپاسم عضلات می‌گردد، گلیسریزین، کومارین ها و استیل بنوئیدها می‌باشد [۱۸]. گزارشات حاکی از تأثیر گیاه شیرین بیان بر پرفشاری و هیپوکالمی (کاهش پتاسیم خون) می‌باشد که این پرفشاری به دلیل مهار فعالیت آنزیم β-HSD2 (11beta-hydroxysteroid dehydrogenase-2) می‌باشد، این آنزیم مسئول کاتابولیسم کورتیزول به کورتیزون

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات:
esmaeil.khoshnam1392@gmail.com
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

بوده بنابراین شیرین بیان از طریق غیر فعال کردن این آنـزیم موجب افزایش نیمه عمر کورتیزول در خون می‌شود و به دلیل تمایل کورتیزول به گیرنده‌های آلدسترونی، موجب فعال شـدن گیرنده های مینرالوکورتیکوئیدی با کـورتیزول شـده و موجـب هایپرآلدسترونیسـم کـاذب، احتبـاس آب و نمـک و ایجـاد هایپرتانسیون حاد می‌شود [۹، ۱۶، ۲۰، ۲۱]. از جمله ترکیبـات فعال شیرین بیان که به عنوان مهار کننـده آنـزیم β–HSD2 عمل می‌کند گلیسریتنیک اسید و مشتقات آن مـی‌باشـد [۲۲]. تحقیقات برخی از محققین بیانگر اثرات شـل‌کننـدگی عصـاره شیرین بیـان بـر عضـلات صـاف عـروق مـی‌باشـد. از جملـه تحقیقات کنارکوهی و همکاران که نشان دادند، عصاره شیرین بیان موجب کاهش تانسیون در بافت آئورت ایزولـه مـی‌گـردد [۱۲].

بعـلاوه تحقیقـات Yu SM و همکـاران نشـان داد کـه ایزولیکورتی جنین از ترکیبات فعال ریشه شیرین بیان از طریق فعال کـردن گـوانیلات سـیکلاز حلقـوی موجـب شـل شـدن عضلات صاف عروق می‌گردد [۲۴]. برخی تحقیقات بیانگر اثر ترکیبات فعال ریشه شیرین بیان بر قلـب ایزولـه مـی‌باشـد، از جملـه Parisella و همکـاران در سـال ۲۰۱۱ نشـان دادنـد، گلیسریتیک اسید (GE) که گلیکون گلیسریزین می‌باشد اثرات گشادکنندگی عروق، افزایش ضربان قلب و اینوتروپیسم منفـی دارد کـه مسـیر سـیگنالینگ آن شـامل فعـال شـدن گیرنـده اندوتلینی نوع B (ETRB)، فعال شدن نیتریک اکساید سـینتاز و سنتز نیتریک اکساید مـی‌باشـد [۱۶]. بعـلاوه Wegener و همکاران در سال ۱۹۹۷ نشان دادند، ایزولیکورتی جنین موجب مهـار فسـفو دی اسـتراز III و در نتیجـه تجمـع cAMP در سلول‌های عضله قلب شده و از ایـن طریـق قـدرت انقباضـی، جریان کلسیمی کانـال‌هـای L-type و غلظـت درون سـلولی کلسـیم را در عضـله قلـب افـزایش مـی‌دهـد [۲۳]. از جملـه سیستم‌های کنتـرل کننـده فشـار خـون سیسـتم کولینرژیـک می‌باشد، مهمترین اثر سیستم کولینرژیک تنظیم ضربان قلـب است که از طریق رشته های پاراسمپاتیکی موجود در اعصـاب واگ اعمال می‌شود و موجب کـاهش قابـل توجـه در سـرعت ضربان قلب و کاهش قـدرت انقباضـی قلـب مـی‌شـود [۱۰]. تحقیقات برخی محققین بیان کننده اثر احتمالی شـیرین بیـان به صورت سینرژیست با سیستم کولینرژیک بر برخی عضلات صاف می‌باشد [۱، ۲]. سیستم آدرنرژیک نیـز در کنتـرل فشـار خون نقشی اساسـی دارد. تحریـک اعصـاب سـمپاتیک قلبـی موجب افزایش سرعت ورود یون‌های سـدیمی بـه گـره هـای ضربان ساز شده و سرعت ضـربان قلـب را افـزایش مـی‌دهـد همچنین نوراپی‌نفرین ترشح شده از پایانه هـای سـمپاتیکی بـا اتصال به گیرنده‌های خود باز شدن کانـال‌هـای L (طـولانی) کلسیمی را تسهیل و در نتیجه قدرت انقباضی قلب را افـزایش می‌دهد [۱۰]. بعلاوه انقباض نسبی و مداوم عـروق خـونی بـه طور طبیعی توسط تون سمپاتیکی تنـگ کننـده عـروق ایجـاد می‌شود که به دلیل سیگنال‌های مـداوم مرکـز وازوموتـور بـه اعصاب سمپاتیک مـی‌باشـد [۱۰]. تحقیقـات برخـی محققـین بیانگر اثر احتمالی شیرین بیان بر مهار گیرنده های آدرنرژیـک در عروق می‌باشد [۲، ۱۲].

از آنجایی که گیاه شـیرین بیـان در طـب سـنتی اسـتفاده فراوانی داشته و اثرات درمانی وسیعی بر بیمـاری‌هـایی ماننـد زخـم معـده، آترواسـکلروزیس و بیمـاری‌هـای پیچیـده نظیـر سرطان داشته است [۱۶] و گزارشاتی در مورد اثر این گیاه بـر افزایش فشار خون وجود دارد [۴] و با توجه به اینکه مطالعه‌ای در مورد اثر تزریق درون وریدی شیرین بیـان بـر فشـار خـون گزارش نشده است لذا در تحقیق حاضر بر آن شـدیم کـه اثـر حاد عصاره شیرین بیان (تزریق درون وریدی) را بر فشار خون مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش ها

عصاره گیری گیاه شیرین بیان به روش پرکولاتـور انجـام گردید، در ایـن روش پـودر ریـزوم شـیرین بیـان در دسـتگاه پرکولاتور قرار داده می‌شود سپس به میزان کـافی اتـانول ۷۰ درصد (۷۳ میلی لیتر اتانول و ۲۷ میلی لیتر آب مقطر) به پـودر اضافه می‌گردد تا فضای بین پودر شـیرین بیـان را پـر کنـد و حلال به طور کامل روی پودر قرار گیرد. بعـد از گذشـت نـیم ساعت که حلال بین پودر شیرین بیان نفوذ کرد، مجدداً اتانول ۷۰ درصد اضافه می‌شود. طی ۲۴ ساعت فشار ناشی از دستگاه پرکولاتور موجب جمع شدن قطرات عصاره هیـدروالکلی پـودر گیاه شیرین بیان در ظرف می‌گردد. سپس عصاره رقیـق گیـاه برای غلیظ شدن در دستگاه روتاری قرار داده می‌شـود کـه در

اینجا بسته به نوع گیاه، زمان تغلیظ متفاوت است [۱۲].

برای انجام مراحل آزمایش، تعداد ۱۵ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۰۰ گرم انتخاب شده و به مدت یک هفته در شرایط کنترل شده نور (سیکل ۱۲ ساعته تاریکی و روشنایی) و دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و در طول مدت آزمایش، غذا و آب کافی در اختیار آنها قرار می‌گرفت. مسائل اخلاقی در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی نظیر بیهوشی و جراحی، تحت نظر کمیته اخلاق زیستی بخش زیست شناسی انجام گردید. بعد از گذشت یک هفته و حصول اطمینان از سلامت حیوانات، رت ها بوسیله تزریق داخل صفاقی پنتوباربیتال سدیم (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش شده سپس برای جلوگیری از آسپیره شدن و خفگی حیوان در زمان بیهوشی، تراکئوستومی انجام می‌شد و نای حیوان کانوله می‌گردید. سرخرگ و سیاهرگ رانی حیوان کانول گذاری می‌گردید که از کانول سیاهرگی برای تزریقات ضمن آزمایش از جمله سرم فیزیولوژیک استفاده می‌شد و کانول سرخرگی برای ثبت فشار خون به ترانس دیوسر فشار وصل شده که از طریق دستگاه bridge amplifier به سیستم Power lab A-to-D متصل بود، به این ترتیب تغییرات فشار میانگین سرخرگی، فشار سیستول و فشار دیاستول ثبت شده سپس به سیگنال‌های الکتریکی تبدیل و توسط مانیتور کامپیوتر قابل مشاهده و ارزیابی بود در ضمن دمای بدن حیوان در طول آزمایش در محدوده ۳۷ درجه سانتی‌گراد کنترل می‌شد. پس از طی ۶۰ دقیقه و به تعادل رسیدن حیوان با شرایط جراحی ابتدا فشار خون نرمال در حالت پایه ثبت گردید. برای تعیین دوز موثر عصاره شیرین بیان، پس از حل کردن یک میلی لیتر از عصاره تغلیظ شده در ۱۰ سی سی اتانول ۷۰ درصد، از دوزهای ۲۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم استفاده شد [۳]. همانطور در نتایج مشاهده می‌شود، بیشترین و سریع‌ترین افت فشار خون در دوز ۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده گردید، بنابراین بعنوان دوز موثر در نظر گرفته شد.

رت ها به طور تصادفی به سه گروه تقسیم بندی شدند:

گروه اول عصاره شیرین بیان را به این صورت دریافت می‌کردند: حالت پایه که فقط سرم فیزیولوژیک دریافت می‌کردند، حالت کنترل که دوز ۱/۵ میلی لیتر بر کیلوگرم حلال عصاره (اتانول ۷۰ درصد) تزریق می‌شد و حالت آزمایش که عصاره شیرین بیان با دوز موثر ۹۰mg/kg دریافت می‌کردند و در طول مدت ۱۵ دقیقه اثر عصاره مشاهده می‌گردید.

گروه دوم که به منظور مشاهده تداخل اثر عصاره با سیستم کولینرژیک، عصاره شیرین بیان و استیل کولین به صورت توأم دریافت می‌کردند، در این گروه نیز حالت پایه فقط سرم فیزیولوژیک دریافت می‌کردند، حالت کنترل که دوز ۰/۰۱ میلی گرم بر کیلوگرم استیل کولین (تهیه شده از شرکت Merk آلمان) دریافت می‌کردند و حالت آزمایش عصاره شیرین بیان به صورت توأم با استیل کولین دریافت می‌کردند.

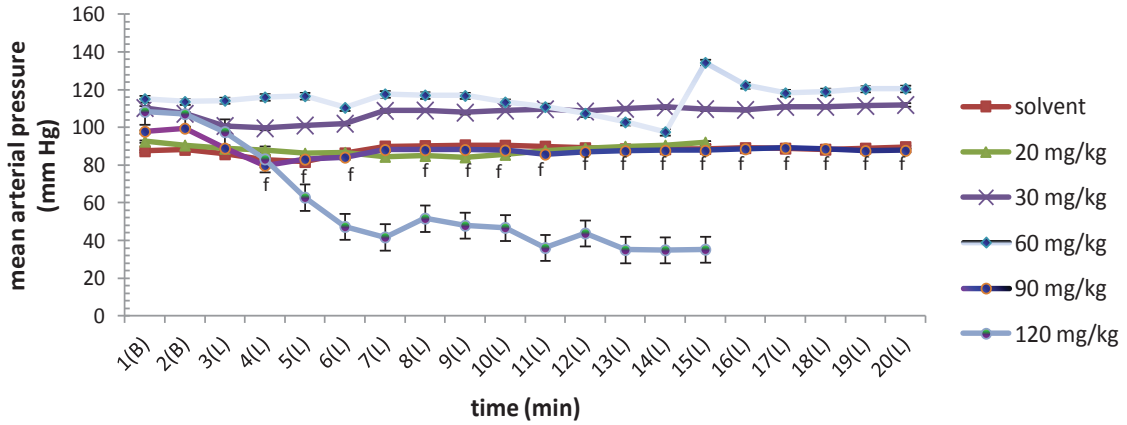
گروه سوم که به منظور مشاهده تداخل اثر عصاره با سیستم آدرنرژیک، عصاره شیرین بیان و اپی نفرین به صورت توأم دریافت می‌کردند که در این گروه، حالت پایه فقط سرم فیزیولوژیک دریافت می‌کردند، حالت کنترل که دوز ۰/۰۴ میلی گرم بر کیلوگرم اپی نفرین (تهیه شده از شرکت دارو پخش ایران) دریافت می‌کردند و حالت آزمایش که عصاره شیرین بیان به صورت توأم با اپی نفرین دریافت می‌کردند.

گراف‌های ثبت شده با استفاده از نرم افزار lab chart متعلق به سیستم power lab به اعداد تبدیل شد و نرمال بودن توزیع داده‌ها به وسیله نرم افزار SPSS و با استفاده از آزمون Paired- samples T test تایید شد. سپس برای مقایسه بین گروه‌ها از تست ANOVA استفاده شد و داده‌ها با در نظر گرفتن سطح معنی داری $P\leq0.05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

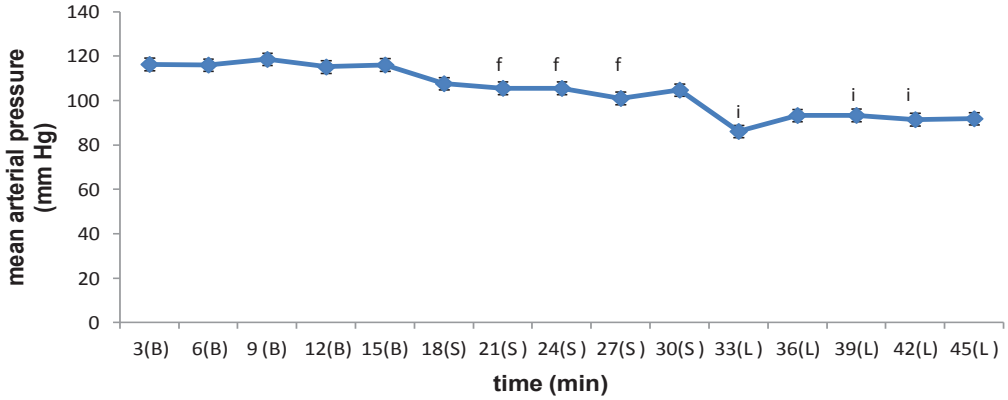
یافته ها

با توجه به شکل ۱ اثر تزریق درون وریدی دوزهای مختلف عصاره شیرین بیان بر فشار خون موش صحرایی مشاهده می‌شود، دوز ۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به سایر دوزها موجب کاهش معنی دار ($p\leq0.03$) و طولانی مدت فشار میانگین سرخرگی گردید.

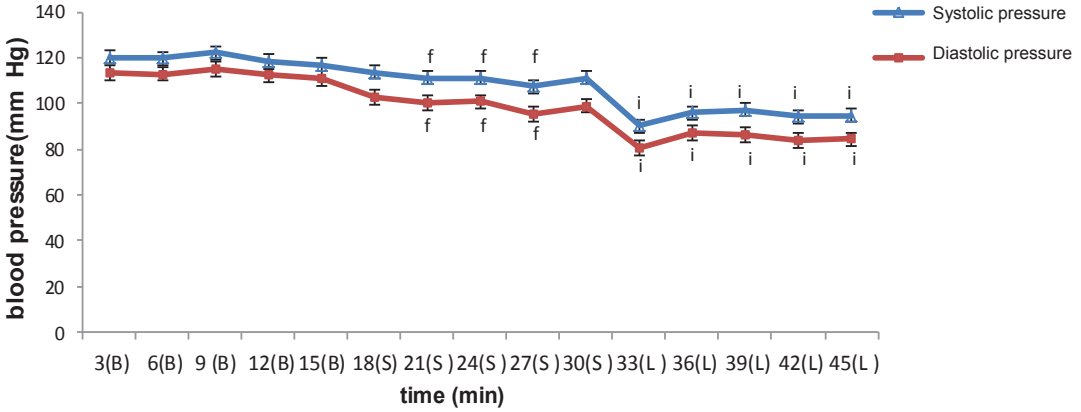
همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، تزریق حلال عصاره شیرین بیان (اتانول ۷۰ درصد) در حالت کنترل موجب کاهش معنی دار ($p\leq0.03$) فشار میانگین سرخرگی نسبت به



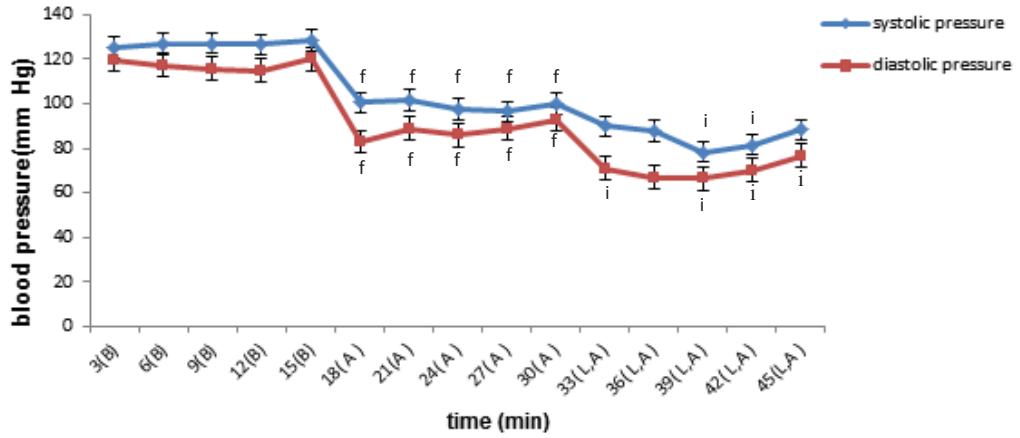
شکل ۱- مقایسه میزان کاهش فشار خون در پاسخ به دوزهای مختلف عصاره شیرین بیان و حلال هم حجم آن، در موش‌های صحرایی نر با فشار خون طبیعی (برای جلوگیری از شلوغی در شکل، علائم مربوط به سطوح معنی داری فقط برای دوز موثر آورده شده است)، (حالت آزمایش=L، حالت پایه=B)، (f: اختلاف معنی دار حالت آزمایش نسبت به حالت پایه $p\leq0.03$)



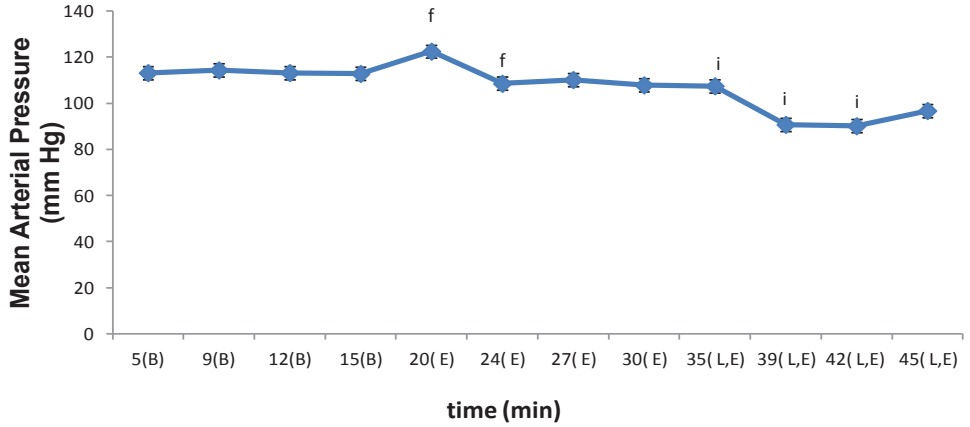
شکل ۲- تغییرات فشار میانگین سرخرگی در حالت کنترل (اتانول ۷۰ درصد) و آزمایش (عصاره شیرین بیان) نسبت به حالت پایه (سرم فیزیولوژیک)، (حالت آزمایش=L، حالت کنترل=S، حالت پایه=B)، (f: اختلاف معنی دار حالت کنترل نسبت به حالت پایه $p<0.03$)، (i: اختلاف معنی دار حالت آزمایش نسبت به حالت کنترل $p<0.04$)



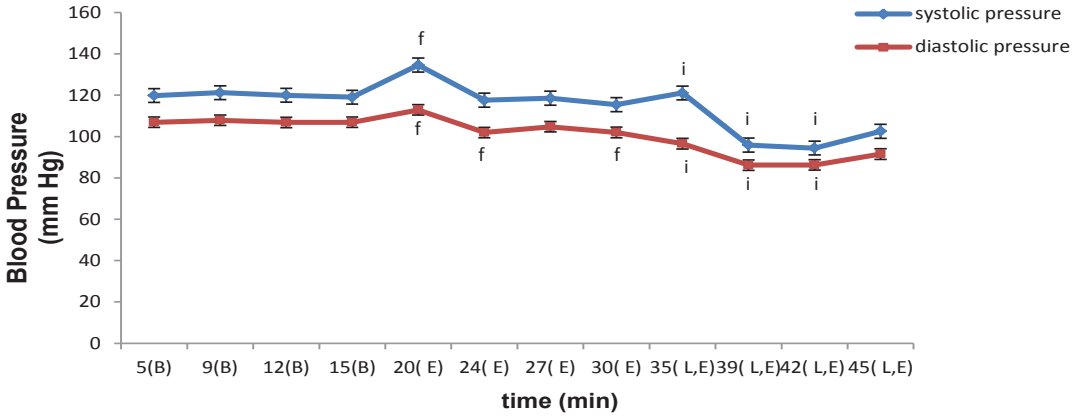
شکل ۳- تغییرات فشار سیستول و فشار دیاستول در حالت کنترل (اتانول ۷۰ درصد) و آزمایش (عصاره شیرین بیان) نسبت به حالت پایه (سرم فیزیولوژیک)، (حالت آزمایش= L، حالت کنترل=S ، حالت پایه=B)، (f: اختلاف معنی دار حالت کنترل نسبت به حالت پایه $p<0.05$)، (i: اختلاف معنی دار حالت آزمایش نسبت به حالت کنترل $p\leq0.05$)



شکل ٤- مقادیر فشار سیستولی و دیاستولی در حالت کنترل (استیل کولین+سرم فیزیولوژیک) و آزمایش (عصاره شیرین بیان+استیل کولین) نسبت به حالت پایه (سرم فیزیولوژیک)، (حالت آزمایش=L,A ، حالت کنترل=A ، حالت پایه=B)، (f: اختلاف معنی دار حالت کنترل نسبت به حالت پایه $p<0.05$)، (i : اختلاف معنی دار حالت آزمایش نسبت به حالت کنترل $p\leq0.05$)



شکل ٥- تغییرات فشار میانگین سرخرگی در حالت کنترل (اپی‌نفرین+سرم فیزیولوژیک) و آزمایش (عصاره شیرین بیان+اپی‌نفرین) نسبت به حالت پایه (سرم فیزیولوژیک) (حالت آزمایش=L, E، حالت کنترل=E، حالت پایه=B)، (f : اختلاف معنی دار حالت کنترل نسبت به حالت پایه $p\leq0.05$)، (i : اختلاف معنی دار حالت آزمایش نسبت به حالت کنترل $p<0.01$)



شکل ٦- میزان تغییرات فشار سیستولی و دیاستولی در حالت کنترل (اپی‌نفرین+سرم فیزیولوژیک) و آزمایش(عصاره شیرین بیان+اپی‌نفرین) نسبت به حالت پایه (سرم فیزیولوژیک)، (حالت آزمایش=L, E ، حالت کنترل=E ، حالت پایه=B)، (f: اختلاف معنی دار حالت کنترل نسبت به حالت پایه $p<0.05$)، (i: اختلاف معنی دار حالت آزمایش نسبت به حالت کنترل $p<0.05$)

جدول ۱- تغییرات ضربان قلب در حالت کنترل (اتانول ۷۰ درصد) و آزمایش (عصاره شیرین بیان) نسبت به حالت پایه (سرم فیزیولوژیک)

Stage	Group	Baseline (beat/min) n=5	Control (beat/min) n=5	Experimental (beat/min) n=5
Licorice\Solvent Experimental\Control	Min 3	449.53±7.1510	442.82±7.151	439.47±7.8058
	Min 6	456.09±3.451	413.99±3.4513 f	449.29±5.2988 i
	Min 9	462.49±4.306	430.36±4.3069 f	448.60±4.0762 i
	Min12	466.26±8.33	418.64±8.332 f	446.50±5.4913 i
	Min15	460.76±4.375	410.24±4.3759 f	432.76±1.8099 i

(f: اختلاف معنی دار حالت کنترل نسبت به حالت پایه $p\leq0.03$)
(i: اختلاف معنی دار حالت آزمایش نسبت به حالت کنترل $p<0.05$)

جدول ۲- تغییرات فشار میانگین سرخرگی در حالت کنترل (استیل کولین+ سرم فیزیولوژیک) و آزمایش (عصاره شیرین بیان+استیل کولین) نسبت به حالت پایه (سرم فیزیولوژیک)

Stage	Group	Baseline (mm Hg) n=5	Control (mm Hg) n=5	Experimental (mm Hg) n=5
Licorice, Ach\Ach Experimental\Control	Min3	122.08±2.183	90.9±2.18 f	79.8±1.008 i
	Min6	121.4±3.2811	94.9±3.28 f	76.5±10.24
	Min9	120.9±1.178	91.4±1.17 f	71.8±3.139 i
	Min12	120.06±3.383	92.3±3.38 f	75.2±.53 i
	Min15	123.7±1.621	96.1±1.62 f	82.00±4.66

(f: اختلاف معنی دار حالت کنترل نسبت به حالت پایه $p<0.02$)
(i: اختلاف معنی دار حالت آزمایش نسبت به حالت کنترل $p<0.05$)

حالت پایه (سرم فیزیولوژیک) گردید. همچنین در حالت آزمایش تزریق عصاره شیرین بیان موجب کاهش معنی دار ($p\leq0.05$) فشار میانگین سرخرگی نسبت به حالت کنترل (اتانول ۷۰ درصد) گردید.

با توجه به شکل ۳ مشاهده می‌شود که فشار سیستولی و فشار دیاستولی در حالت کنترل (اتانول ۷۰ درصد) نسبت به حالت پایه (سرم فیزیولوژیک) کاهش معنی داری ($p<0.05$) داشته است. همچنین در حالت آزمایش تزریق عصاره شیرین بیان موجب کاهش معنی دار ($p\leq.05$) فشار سیستولی و فشار دیاستولی نسبت به حالت کنترل (اتانول ۷۰ درصد) گردید.

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، ضربان قلب در حالت کنترل (اتانول ۷۰ درصد) نسبت به حالت پایه (سرم فیزیولوژیک) کاهش معنی داری ($p\leq0.03$) داشته است ولی در حالت آزمایش تزریق عصاره شیرین بیان موجب افزایش معنی دار ($p<0.05$) ضربان قلب نسبت به حالت کنترل (اتانول ۷۰ درصد) گردید.

با توجه به جدول ۲ مشاهده می‌شود که فشار میانگین سرخرگی در حالت کنترل (استیل کولین) نسبت به حالت پایه (سرم فیزیولوژیک) کاهش معنی داری ($p<0.02$) داشته است. همچنین در حالت آزمایش عصاره شیرین بیان توأم با استیل کولین موجب کاهش معنی دار ($p<0.05$) فشار میانگین سرخرگی نسبت به حالت کنترل (استیل کولین) گردید.

همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، فشار سیستولی و فشار دیاستولی در حالت کنترل (استیل کولین) نسبت به حالت پایه (سرم فیزیولوژیک) کاهش معنی داری ($p<0.05$) داشته است. همچنین در حالت آزمایش تزریق عصاره شیرین بیان توأم با استیل کولین موجب کاهش معنی دار ($p\leq0.05$) فشار سیستولی و فشار دیاستولی نسبت به حالت کنترل (استیل کولین) گردید. با توجه به شکل ۵، مشاهده می‌شود که فشار میانگین سرخرگی در حالت کنترل (اپی‌نفرین) نسبت به حالت پایه (سرم فیزیولوژیک) افزایش معنی داری ($p\leq0.05$) داشته است ولی در حالت آزمایش تزریق عصاره شیرین بیان توأم با

اپی‌نفرین موجب کاهش معنی دار ($p<.01$) فشار میانگین سرخرگی نسبت به حالت کنترل (اپی‌نفرین) شده است.

همانطور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، فشار سیستولی و فشار دیاستولی در حالت کنترل (اپی‌نفرین) نسبت به حالت پایه (سرم فیزیولوژیک) افزایش معنی داری ($p<0.05$) داشته است ولی در حالت آزمایش تزریق عصاره شیرین بیان توأم با اپی‌نفرین موجب کاهش معنی دار ($p<0.05$) فشار سیستولی و فشار دیاستولی نسبت به حالت کنترل (اپی‌نفرین) شده است.

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تزریق درون وریدی عصاره شیرین بیان موجب کاهش فشار خون (فشار میانگین سرخرگی، فشار سیستولی و دیاستولی) در موش‌های صحرایی با فشار خون طبیعی می‌گردد. عوامل فیزیولوژیکی تعیین کننده فشار خون شامل برون ده قلبی (ضربان قلب × حجم ضربه ای) و مقاومت عروق محیطی می‌باشند [۱۰]. پس کاهش فشار خون حاصل از تزریق عصاره شیرین بیان ممکن است ناشی از اثر عصاره بر میزان برون ده قلبی یا تغییر مقاومت عروق محیطی باشد که به بررسی این موارد می‌پردازیم. همانطور که در بخش نتایج مشاهده شد تزریق عصاره شیرین بیان موجب کاهش فشار سیستولی نسبت به حالت کنترل گردید. با توجه به اینکه فشار سیستول معرف برون ده قلبی است [۵]، پس می‌توان نتیجه گرفت که تزریق عصاره شیرین بیان موجب کاهش برون ده قلبی شده است. همچنین در بخش نتایج اشاره شد که پس از تزریق عصاره شیرین بیان ضربان قلب افزایش یافته است، با توجه به اینکه مؤلفه های برون ده قلب عبارتند از ضربان قلب و حجم ضربه ای [۱۰]، پس می‌توان گفت که کاهش برون ده قلبی ناشی از تزریق عصاره شیرین بیان از طریق کاهش حجم ضربه ای و در نهایت کاهش قدرت انقباضی قلب بوده است. نتایج بدست آمده توسط برخی محققین مبین عملکرد ضد اکسیداتیو و بهبودی ضربان قلب در موش‌های صحرایی دچار سکته قلبی می‌باشد. از جمله می‌توان به تحقیقات Ojha و همکاران در سال ۲۰۱۳ اشاره کرد که نشان دادند تجویز عصاره گیاه شیرین بیان به صورت خوراکی در موش‌های صحرایی دچار سکته قلبی، از طریق بهبود استرس اکسیداتیو و تعدیل عملکرد قلبی باعث بازگشت فشار خون و ضربان قلب به حالت طبیعی می‌شود [۱۵]، که ممکن است ناشی از وجود فلاونوئیدهای موجود در عصاره شیرین بیان باشد [۸، ۱۳، ۱۴]. برخلاف نتایج حاصل از این تحقیق، Wegener و همکاران در سال ۱۹۹۷ نشان دادند که ایزولیکورتی جنین موجب مهار فسفو دی استراز III و در نتیجه تجمع cAMP در سلول‌های عضله قلب ایزوله شده و از این طریق قدرت انقباضی، جریان کلسیمی کانال‌های L-type و غلظت درون سلولی کلسیم را در عضله قلب افزایش می‌دهد [۲۳]. دلیل تناقض در نتایج حاصل از این تحقیق با یافته های Wegener و همکاران ممکن است ناشی از اثر سایر ترکیبات شیرین بیان بر قدرت انقباضی قلب بوده یا ناشی از عملکرد متفاوت عصاره شیرین بیان در شرایط In vivo نسبت به In vitro بوده است. همانطور که در بخش نتایج مشاهده شد تزریق عصاره موجب کاهش فشار دیاستولی نسبت به حالت کنترل گردید. سایر تحقیقات بر روی اثر ترکیبات عصاره شیرین بیان بر عضلات صاف عروق نشان دهنده اثرات شل کنندگی برخی از ترکیبات شیرین بیان بر عروق ایزوله می‌باشد که می‌توان به تحقیقات Yu SM و همکاران در سال ۱۹۹۵ اشاره کرد که نشان دادند ایزولیکورتی جنین از ترکیبات فعال ریشه شیرین بیان از طریق فعال کردن گوانیلات سیکلاز حلقوی موجب شل شدن عضلات صاف عروق می‌شود [۲۴]. بعلاوه تحقیقات کنارکوهی و همکاران نشان داد که عصاره شیرین بیان موجب کاهش تانسیون در بافت آئورت ایزوله می‌گردد [۱۲]. با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق و تحقیقات سایر محققین می‌توان گفت تزریق عصاره شیرین بیان از طریق اثرات شل کنندگی بر عضلات صاف عروق موجب کاهش مقاومت عروق محیطی و فشار دیاستولی شده است [۵]. با استناد به نتایج بدست آمده در این تحقیق و تحقیقات سایر محققین می‌توان نتیجه گرفت عصاره شیرین بیان از طریق کاهش قدرت انقباضی قلب و کاهش مقاومت عروق محیطی موجب کاهش فشار خون شده است [۵، ۸]. همانطور در نتایج مشاهده شد، تزریق درون وریدی حلال عصاره شیرین بیان (اتانول۷۰ درصد) موجب کاهش فشار خون (فشار میانگین سرخرگی، فشار سیستول و دیاستول) شد. این کاهش فشار خون ممکن

است ناشی از فعال شدن گیرنده های J در شش‌ها و فعال شدن عصب واگ بوده که موجب کاهش ضربان قلب و در نتیجه کاهش فشار خون شده است [۱۸].

در این تحقیق برای بررسی تداخل اثر عصاره شیرین بیان با سیستم کولینرژیک، از استیل کولین به عنوان مقلد سیستم کولینرژیک (پاراسمپاتیک) استفاده شد. همانطور در بخش نتایج مشاهده شد، تزریق توأم عصاره شیرین بیان و استیل کولین موجب تشدید کاهش فشار خون (فشار میانگین سرخرگی، فشار سیستولی و دیاستولی) گردید. با توجه به اینکه سیستم کولینرژیک در عروق گسترش چندانی ندارد [۱۰]، بنابراین می‌توان گفت عصاره شیرین بیان در عملکرد قلب، اثر سینرژیست با سیستم کولینرژیک دارد که این اثر ممکن است ناشی از ترکیبات فلاونوئیدی شیرین بیان باشد. در عین حال اثر عصاره بر کاهش فشار خون ممکن است ناشی از فعال کردن گیرنده های استیل کولین محرک سیستم نیترژیک در اندوتلیوم عروق باشد [۵].

نتایج بدست آمده با نتایج Ajay و همکاران در سال ۲۰۰۷ مطابقت دارد آنها نشان دادند که یک فلاون غیر آنتی اکسیدانی موجب تشدید آثار شل کنندگی ناشی از استیل کولین روی آئورت ایزوله می‌گردد [۲]. بعلاوه Ajay و همکاران در سال ۲۰۰۶ در تحقیقی که در ارتباط با نقش فلاونوئید کوئرستین بر روی فعالیت مکانیکی آئورت ایزوله در موش‌های دچار دیابت انجام دادند پیشنهاد کردند که کوئرستین اثرات شل کننده استیل کولین روی آئورت را تشدید می‌کند [۱].

در این تحقیق برای بررسی تداخل اثر عصاره شیرین بیان با سیستم آدرنرژیک، از اپی‌نفرین به عنوان مقلد سیستم آدرنرژیک (سمپاتیک) استفاده شد. با توجه به نتایج تزریق توأم عصاره شیرین بیان و اپی‌نفرین موجب کاهش فشار خون (فشار میانگین سرخرگی، سیستولی و دیاستولی) نسبت به حالت کنترل گردید. با توجه به اینکه تزریق عصاره شیرین بیان و اپی‌نفرین به صورت توأم بوده پس عصاره از طریق مهار گیرنده های اپی‌نفرین در قلب و عروق موجب کاهش فشار خون شده است. ممکن است اثرات عصاره شیرین بیان بر سیستم آدرنرژیک ناشی از ترکیبات فلاونوئیدی عصاره باشد که این موضوع در تحقیقات سایر محققین مورد بررسی قرار گرفته است. در تحقیقی که توسط Ajay و همکاران در سال ۲۰۰۷ در ارتباط با نقش فلاون (یک فلاونوئید غیر آنتی اکسیدانی) بر روی فعالیت مکانیکی عروق در آئورت ایزوله انجام دادند، پیشنهاد کردند که فلاون سبب کاهش تأثیرات انقباضی ناشی از فنیل افرین می‌شود [۲]. بعلاوه تحقیق کنارکوهی و همکاران در سال ۱۳۹۰ نشان داد که تجویز اپی-نفرین بر روی بافت آئورت ایزوله‌ی موش صحرایی در حضور لیکوریس کاهش معنی داری در تانسیون آئورت ایزوله ایجاد می‌کند. در واقع لیکوریس سبب جلوگیری از تأثیر انقباضی اپی‌نفرین گردیده است [۱۰]. با توجه به اینکه در عصاره ریزوم شیرین بیان ترکیبات مهم فارماکولوژیک از جمله فلاونوئیدها وجود دارد، می‌توان تأثیرات کاهش دهندگی فشار خون را به این ترکیبات شیرین بیان نسبت داد [۸ ، ۱۳، ۱۴]. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که عصاره آبی- الکلی ریزوم شیرین بیان فشار خون شریانی را بطور کوتاه مدت در موش‌های صحرایی با فشار خون طبیعی، کاهش داده است. مکانیسم احتمالی اثر ضد فشار خونی شیرین بیان ممکن است مربوط به مهار سیستم آدرنرژیک در قلب و عروق و تقویت سیستم کولینرژیک در قلب باشد.

اینکه عصاره هیدروالکلی ریزوم شیرین بیان از طریق کدام گیرنده‌ها موجب بروز اثرات کاهش دهنده فشار خون می‌شود و اینکه این اثرات توسط کدام ترکیب یا فلاونوئید موجود در گیاه شیرین بیان بوجود آمده‌اند در تحقیقات آینده مورد بررسی قرار خواهند گرفت.

سپاسگزاری

از بخش زیست شناسی دانشگاه شیراز که با حمایت‌های مالی خود ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند و از کمیته اخلاق زیستی بخش زیست شناسی که این تحقیق تحت نظر و با رعایت اصول اخلاقی آنها انجام گردید، قدردانی می‌شود.

References

[1] Ajay M, Achike FI, Mohd Mustafa A, RaisMustaf M, Effect of quercetin on altered vascular reactivity in aortas isolated from streptozotocin-induced diabetic rats. ***Diabetes Res Clin Pract*** 73 (2006) 1-7.

[2] Ajay M, Achike FI, RaisMustaf M, Modulation of vascular reactivity in normal, hypertensive and diabetic rat aortae by a non-antioxidant flavonoid. ***Pharmacol Res*** 55 (2007) 385-391.

[3] Asgary S, JafariDinani N, Madani H, Mahzoni P, NaderiGh, Effect of GlycyrrhizaglabraExtract on Aorta Wall Atherosclerotic Lesion in Hypercholesterolemic Rabbits. ***Pak J Nut*** 6 (2007) 313-317.

[4] Baker ME, *Licorice* and enzymes other than 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. ***Steroids*** 59 (1994) 136-141.

[5] Berne RM, Levy MN, The thyroid gland. In: Bruce M. Koeppen, Bruce A. Stanton, editors. ***Physiology***. 6nd ed. Tehran: Andishe Rafi Press, 2010, p. 407- 841.

[6] De Klerk GJ, Nieuwenhuis MG, Beutler JJ, Hypokalaemia and hypertension associated with use of liquoriceflavoured chewing gum. ***BMJ*** 314 (1997) 731-732.

[7] Dellow EL, Unwin RJ, Honour JW, Pontefract cakes can be bad for you: refractory hypertension and liquoriceexcess. ***Nephrol Dial Transplant*** 14 (1999) 218-220.

[8] Duarte J, Pérez Vizcaíno F, Utrilla P, Jiménez J, Tamargo J, Zarzuelo A., vasodilatory effects of flavonoids in rat aortic smooth muscle.structure activity relationships. ***Gen Pharmacol*** 24 (1993) 857-862.

[9] Farese RV Jr, Biglieri EG, Shackleton CH, Irony I, Gomez-Fontes R, Licorice-induced hypermineralocorticoidism. ***N Engl J Med*** 325 (1991) 1223-1227.

[10] Ganong V, The heart as a pump. In: Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL, editors. ***Review of medical physiology***. 23nd ed. Tehran: JahanAdib and SinaTeb press, 2010, p. 494-495.

[11] Hodgson JM, Effects of tea and tea flavonoids on endothelial function and blood pressure: a brief review. ***Clin Exp Pharmacol Physiol*** 33 (2006) 838-841.

[12] Kenarkoohi F, ***Study the effect of aqueous_alcoholic extract of Glycyrrhizaglabrarizhome on contractile activity of isolated blood vessels of rat*** [dissertation]. Shiraz University. 2011.

[13] Kim YH, Shin EK, Kim DH, Lee HH, Park JHY, Kim JK, Antiangiogenic effect of licochalcone A. ***Biochem Pharmacol*** 80 (2010)1152-1159.

[14] Morello S, Vellecco V, Alfieri A, Mascolo N, Cicala C, Vasorelaxant effect of the flavonoid galangin on isolated rat thoracic aorta. ***Life Sci*** 78 (2006) 825-830.

[15] Ojha S, Golechha M, Kumari S, Bhatia J, Arya DS, Glycyrrhizaglabra protects from myocardial ischemia-reperfusion injury by improving hemodynamic, biochemical, histopathological and ventricular function. ***Exp Toxicol Pathol*** 65 (2013) 219-227.

[16] Palermo M, Shackleton CH, Mantero F, Stewart PM, Urinary free cortisone and the assess-ment of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in man. ***Clin Endocrinol (Oxf)*** 45 (1996) 605-611.

[17] Parisella ML, Angelone T, Alfonsina G, Cerrab MC, Pellegrino D, Glycyrrhizin and glycyrrhetinic acid directly modulate rat cardiac performance. ***J Nutr Biochem*** 23 (2011) 69-75.

[18] Penna M, Brugere S, Canas M, Saavedra A. Cardiorespiratory reflex effects induced by intravenous administration of ethanol in rats. ***Alcohol*** 2 (1985) 603-609.

[19] Saxena S, Glycyrrhizaglabra: medicine over the millennium. ***Natural Product Radiance (NPR)*** 5 (2005) 358-367.

[20] Sigurjónsdóttir HA, Franzson L, Manhem K, Ragnarsson J, Sigurdsson G, Wallerstedt S, Liquorice-induced rise in blood pressure: a linear dose-response relationship. ***J Hum Hypertens*** 15 (2001) 549-552.

[21] Sigurjonsdottir HA, Ragnarsson J, Franzson L, Sigurdsson G, Is blood pressure commonly raised by moderate consumption of liquorice? ***J Hum Hypertens*** 9 (1995) 345-348.

[22] Stewart PM, Murry BA, Mason JI, Humankidney 11β-hydroxysteroid dehydrogenase is a high affinity nicotinamide adenine dinucleotide-dependent enzyme and differs from the cloned type I isoform. ***J Clin Endocrinol Metab*** 79 (1994) 480-484.

[23] Wegener JW, Nawrath H, Differential effects of isoliquiritigenin and YC-1 in rat aortic smooth muscle. ***Eur J Pharmacol*** 323 (1997) 89-91.

[24] Yu SM, Kuo SC, Vasorelaxant effect of isoliquiritigenin, a novel soluble guanylatecyclase activator, in rat aorta. ***Br J Pharmacol*** 114 (1995) 1587-1594.