

بررسی اثر اسید پکتیک، فراکسیون موثر گیاهان لاکتوزن در ترشح پرولاکتین β -آندورفین و LH در هیپوفیز موش

دکتر حوری سپهری

فیزیولوژی جانوری - دانشکده علوم دانشگاه تهران

چکیده

پژوهشهای "Invitro" و "Invivo" نشان داده است که بعضی عصاره‌های گیاهی باعث تحریک اعمال مختلف فیزیولوژیکی می‌گردد.

بالا رفتن سنتز β -کازتین در سلولهای اپیتلیال غدد شیرزای موش و خرگوش بواسطه اضافه شدن فراکسیونهای موثر گیاهی در محیط کشت این سلولها موید این نظر می‌باشد. (سپهری - 1991 Sepehri).

همچنین اگر فراکسیونها بطور خوراکی به موش باکره داده شود باعث بالا رفتن سنتز β -کازتین می‌گردد (ساوادوگو و هودبین ۱۹۸۸). همچنین مشاهده شده است که اگر عصاره‌های موثر را به محیط کشت قطعات هیپوفیز قدامی گوسفند بیافزاییم موجب ترشح پرولاکتین در این قطعات می‌شود که نسبت به حیوانات شاهد مقدار آن بالاتر می‌باشد. (سپهری 1990 Sepehri).

در پژوهش حاضر اثر اسید پکتیک که ماده‌ای مشتق از پکتینها و از فراکسیونهای موثر گیاهان شیرزا می‌باشد، مطالعه می‌گردد. اضافه نمودن این ماده در محیط پریفوزیون که هیپوفیز موش در آن قرار دارد، مقدار ترشح هورمونهای پرولاکتین، β -آندورفین و LH توسط سلولهای هیپوفیز را افزایش می‌دهد.

در آزمایشهایی که با مقادیر مختلف اسید پکتیک انجام شد معلوم گردید که این ماده به میزان کم بی‌اثر است و با مقادیر بسیار زیاد موجب آسیب ساختمان هیپوفیز می‌گردد. در این پژوهش قطعات هیپوفیز در محیط کشت ۱۹۹ ساخته شده، همراه با مقادیر مختلف اسید پکتیک پریفوزه می‌شود و مقدار هورمونهای پرولاکتین، β -آندورفین و LH آنها اندازه‌گیری می‌شود.

- محل پژوهش در انستیتوی ملی تحقیقات کشاورزی فرانسه می‌باشد، که آقایان دکتر هودبین و دکتر ساوادوگو برای فراهم کردن همه امکانات همکاری صمیمانه داشته‌اند.

J. of Sci. Univ. Tehran, Vol 20 (1991), no2, p. 135- 142

**L'effet de l'acide pectique, la fraction active obtenue
des extraits de plantes lactogenes sur la sécrétion de la
prolactine, β - endorphine et luteinizing hormone (LH) par
l'hypophyse isolé de rate.**

Houri- Sepehri

Faculté des Sciences, Université de Téheran

Abstract

Les essais "In vitro" et "In Vivo" montrent que certains extraits des plantes lactogenes stimulent les différentes activités physiologiques.

En présence de ces extraits, la synthèse de β - caséine s'augmente dans les cellules épithéliales de la glande mammaire chez la rate et la lapine (Sepehri-1991). ces extraits sont capables en plus d'induire la synthèse du lait chez des rates vierges après administration orale.

on a constaté que les composés lactogenes agissent directement sur l'hypophyse de la brebis et ils stimulent la sécrétion de la prolactine par l'hypophyse (Sepehri 1990)

Dans ces expériences avec des concentrations croissantes de l'acide pectique, on observe qu'à des doses faibles ou élevées, la stimulation est faible ou nulle.

Il est possible que les fortes doses détruisent la structure cellulaire sécrétrice de l'hypophyse. les fragments de l'hypophyse ont été perfusés dans le milieu synthétique de 199 en présence des différentes doses de l'acide pectique. La réponse au mode d'action est mesuré par le taux de la PRL, de la LH et de la β -endorphine.

مقدمه

حدود ۳۰ سال است که گیاه درمانی و برگشت به طبیعت جای خود را در جوامع مختلف دوباره پیدا کرده است. پژوهشگران از گروههای مختلف نظیر گیاهشناسان، پزشکان، داروسازان بهم پیوسته اند تا ارزش واقعی گیاه درمانی را به آن برگردانند. عمل واقعی گیاهان دارویی هنوز بخوبی شناخته نشده و به ویژه برای گیاهان شیرزا تا چند سال قبل هیچگونه آزمایش عملی انجام نشده بود.

در اروپا بطور سنتی آبجو را موجب زیاد شدن شیر زنان شیرده می دانند. در سال ۱۹۸۵ هارولد و همکاران (Harold) پس از اتمام یک سری تحقیقات نشان دادند که این اضافه شدن شیر در زنان شیرده مربوط به وجود الکل در این ماده نیست بلکه مربوط به گیاهانی است که در ساختن این ماده بکار می روند.

بدین ترتیب فصلی جدید برای شروع کار روی گیاهان لاکتوژن گشوده شد و از این تاریخ به بعد آزمایشهای عملی بیولوژیکی روی این دسته از گیاهان صورت گرفت.

پس از استخراج فراکسیونهای موثر گیاهان، مواد مذکور را به حیواناتی نظیر خرگوش و گوسفند تزریق کرده و مقدار هورمون پرولاکتین و هورمون نمو آندوژن را در سرم خون آنها اندازه گیری می کنند.

در این حال مشاهده می شود که مقدار ترشح پرولاکتین آندوژن در این حیوانات در اثر تزریق این فراکسیونها زیاد می شود و همچنین مقدار سنتز β -کازئین در غدد افزایش می یابد.

در پژوهش حاضر اسید پکتیک که یکی از فراکسیونهای بسیار موثر گیاهان لاکتوژن است بر روی هیپوفیز موش بطور "Invitro" اثر داده شده و اضافه شدن ترشح هورمونهای پرولاکتین، LH و β -آندورفین از سلولهای هیپوفیز مشاهده گردیده است. آنچه قابل ملاحظه است، این است که این پدیده ناشی از تاثیر مستقیم عصاره ها بر هیپوفیز می باشد و از طریق راه هیپوتالاموسی صورت نمی گیرد.

مواد و روش آزمایش

حیوانات:

در این روش از هیپوفیز موشهای ماده نوع Wistar استفاده

شده است.

روش پریفوزیون: در این روش، به محیط کشت ۱۹۹

تراکمهای مختلف اسید پکتیک افزوده شده است و از هیپوفیز عبور داده می شود و سپس فراکسیونهای متعددی از آن به دست می آید که در این فراکسیونها مقدار هورمونهای پرولاکتین، LH و β -آندورفین اندازه گیری می شود.

اندازه گیری هورمونی

مستد اندازه گیری بوسیله روش RIA رادیوایمونواسه (Radioimmunoassay) می باشد که اصول آن بر رقابت بین دو نوع آنتی ژن رادیواکتیو و غیر رادیواکتیو می باشد. وقتی توازن ایجاد شد بوسیله ایمونوسرم ویژه رآکسیون را رسوب می دهند و سپس مقدار آن را بوسیله کنتور سنتیلاسیون جامد اندازه می گیرند. برای اندازه گیری از منحنی استاندارد استفاده می کنند. این منحنی معرف این است که هر قدر مقدار آنتی ژن غیر رادیواکتیو در محیط زیادتر باشد، مقدار درصد آنتی ژن رادیواکتیو که به آنتی کر ثابت می شود، پائین می آید. بوسیله این منحنی مقدار هورمون مورد نظر را اندازه می گیرند. بدین ترتیب که آنتی ژن غیر رادیواکتیو در واقع مقدار هورمون مجهول در هر لوله آزمایش می باشد. محاسبات بوسیله کامپیوتری که دارای برنامه است، انجام می شود.

میدانیم که اندازه گیری بوسیله روش RIA برای مقادیر بسیار کم حتی حدود ۵ نانوگرم (ng)، دقیق می باشد. باید به خاطر داشته باشیم که حساسیت این دوزاژ بستگی کامل به اختصاصی بودن آنتی ژن آنتی کر دارد. در آزمایشهای انجام شده از آنتی کر ویژه مونوکلنال هر هورمون استفاده شده است.

طرز تهیه فراکسیون فعال گیاهان لاکتوژن

پس از بدست آوردن عصاره خام (brut) از گیاهان لاکتوژن نظیر چغندر و ذرت خوشه ای (sorghum) و انجام آزمایشهایی که اثر آنها را در بالا بردن مقدار شیر در حیواناتی نظیر موش و خرگوش و گوسفند و گاو نشان داد، بوسیله مواد آلی توانستیم فراکسیون فعال عصاره خام را جدا نمائیم. این جداسازی بوسیله اتانول در حضور کلرورسدیم و کلروفرم صورت گرفته است. (سپهری ۱۹۹۱)

فراکسیونهای فعال غیر محلول در اتانول دوباره با کلروفرم

بحث و نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از آزمایشهایی که در این پژوهش انجام شده است، نشان می‌دهد که فراکسیون موثر عصاره گیاهان لاکتوزن دارای فاکتوری مناسب برای تحریک ترشح پرولاکتین، β -آندورفین و LH از سلولهای قطعات هیپوفیز قدامی موش میباشد.

در آزمایشهای قبلی دیده شده است که این فراکسیون حتی از راه خوراکی قادر است مقدار هورمون پرولاکتین و هورمون نمو را در سرم خون موش بالا ببرد و در همین حال سنتز شیر در حیوان را افزایش می‌دهد. (ساوادوگو ۱۹۸۸).

این مطلب میتواند بطور جدی قدرت لاکتوزنی این دسته عصاره‌های گیاهی را تأیید نماید.

در حیواناتی نظیر گوسفند و گاو نیز این عصاره‌ها مورد آزمایش قرار گرفته‌اند اما در این حیوانات، تاثیر فعالیتهای فوق هنگامی ظاهر می‌شود که این فراکسیونها به صورت درون وریدی به حیوان تزریق گردد. در این صورت فاکتور محرک که به سرعت در جریان خون حرکت می‌کند سبب ترشح هورمونهای پرولاکتین و نمو می‌شود. نکته قابل توجه این است که پکتین استخراج شده از گیاهی نظیر چغندر می‌تواند حداقل باعث افزایش ترشح این دو هورمون گردد.

پکتین نوعی ماده گیاهی به حساب می‌آید که بصورت یک پیک عمل کرده بر بافت هدف خود در هیپوفیز و یا غدد شیرزا اثر میکند.

آنچه لازم است در پژوهشهای بعدی روشن گردد این است که نحوه عمل آن چیست و گیرنده‌های حساس به این پلی ساکاریدها در سلولهای حیوانی کدام است و در کدام دسته از سلولهای جانوری، تعداد این گیرنده‌ها زیاد است و به عبارت دیگر سلولهای حساس یا سلولهای هدف این دسته از مواد کدامند.

بدیهی است روشن شدن نحوه عمل این مواد موکول به شناسایی دقیق ساختمان مولکولی جزء فعال آن می‌باشد.

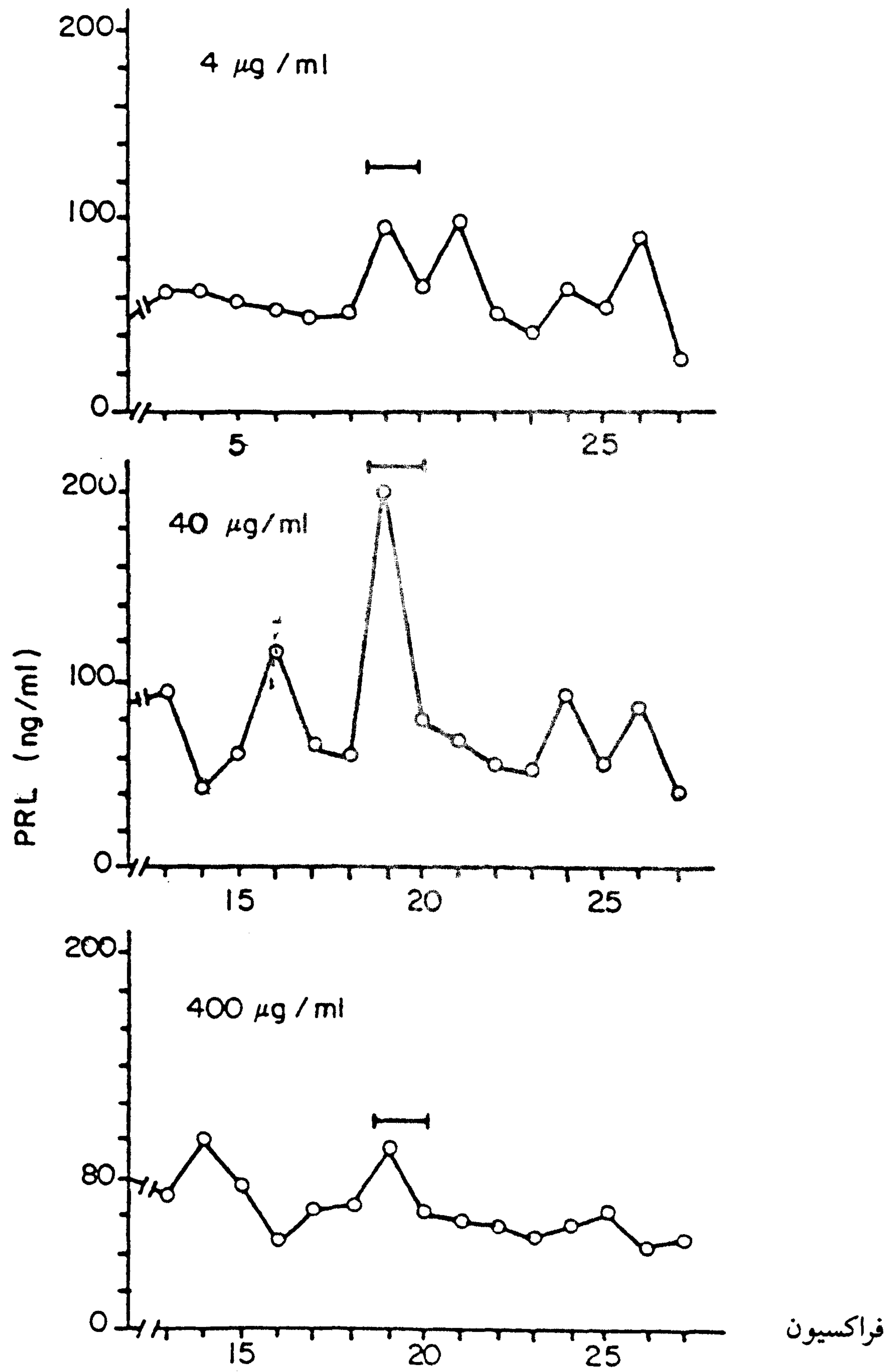
مخلوط شده و پس از سانتریفوژ شدن، فاز کلروفرمی آن جدا شده و فاز محلول در آب دوباره جدا شده و لیوفیلیزه می‌شود. تزریق این فراکسیونها به حیوانات باعث بالارفتن مقدار پرولاکتین در سرم خون آنها می‌گردد در حالیکه تزریق فراکسیونهای محلول در اتانول هیچ تاثیری در این امر ندارند. بخش عمده فراکسیون موثر پکتینها بودند که ماده موثر و اصلی آن اسید پکتیک می‌باشد.

نتیجه گیری:

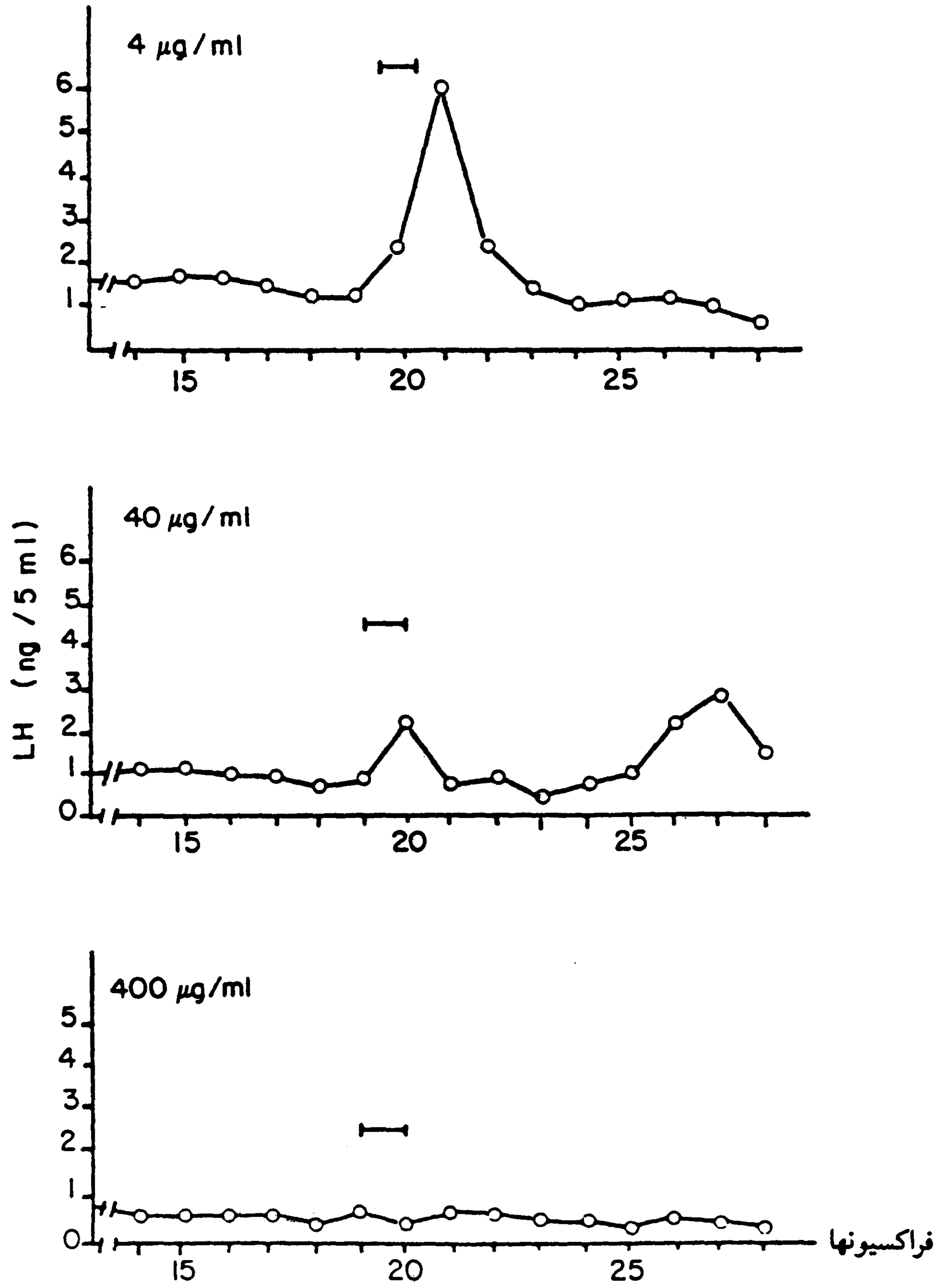
آزمایشهای "Invitro" نشان داده است که عصاره گیاهان لاکتوزن مستقیماً روی سلولهای غدد شیرزا اثر می‌کنند و ترشح بتاکازین را در آن بالا می‌برند. (سپهری ۱۹۹۱) و حتی هنگامیکه NDGA یا اسید نوردی ئیدروگائی آرتیک که بازدارنده ویژه هورمون پرولاکتین است، در محیط اضافه میکنیم این خاصیت از میان نمی‌رود.

در مطالعه حاضر فراگمانهای هیپوفیز موش در محیطهایی که دارای تراکمهای مختلف اسید پکتیک است، قرار داده شده‌اند این محیطها، محلولهایی با تراکمه‌های ۴۰،۴ و ۴۰۰ میکروگرم در میلی لیتر می‌باشد و هدف آزمایش اندازه‌گیری مقدار LH، پرولاکتین و β -آندورفین است که از سلولهای هیپوفیز تحت اثر اسید پکتیک ترشح شده‌اند.

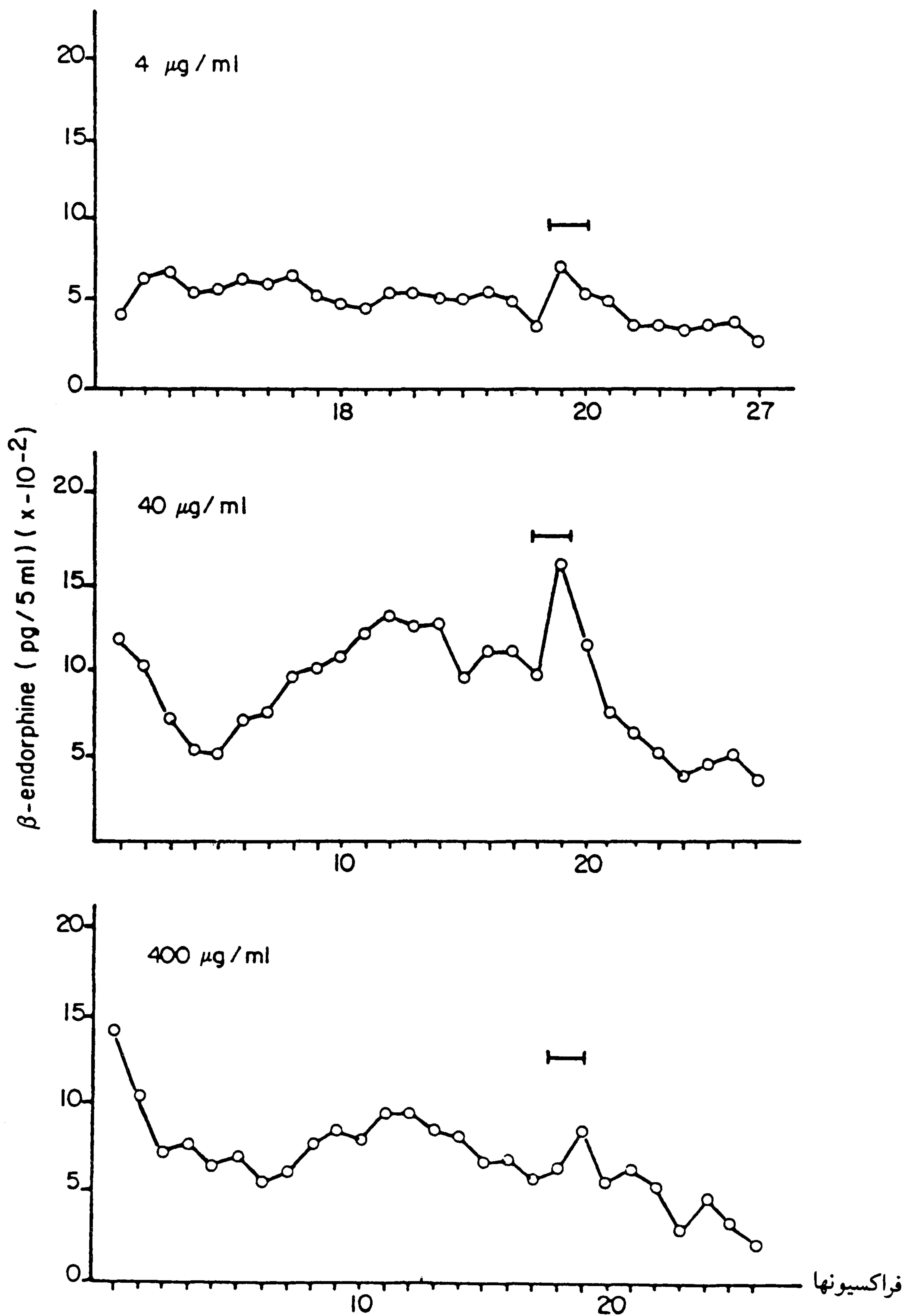
آزمایشها نشان می‌دهند که اسید پکتیک در تراکم ۴۰ mg/ml، محرک ترشح پرولاکتین، LH و β -آندورفین از قطعات هیپوفیز در محیط انکوباسیون می‌باشد. (شکل ۱-۲-۳) بطوریکه در این نتایج مشاهده می‌شود عمل عصاره‌های گیاهان لاکتوزن از یک سو با واسطه اثر بر هیپوفیز و از سوی دیگر مستقیماً با نقشی که بر سلولهای اپی تلیال غدد شیرزا دارد صورت می‌گیرد. این مواد روی بافت غدد شیرزا اثر کرده، سنتز و ترشح β -کازین را در آنها بالا می‌برد. معهدا مکانیسم عمل هنگامی بخوبی شناخته خواهد شد که ساختمان مولکولی بخش فعال و نحوه اثر آن روی سلولها و راهی را که در سلول طی میکند، بخوبی شناخته شود.



شکل ۱- اثر مقادیر مختلف اسید پکتیک در ترشح پرولاکتین بوسیله فراکسیونهای هیپوفیز در موش با روش پریفوزیون.



شکل ۲- اثر مقادیر مختلف اسید پکتیک در ترشح LH بوسیله هیپوفیز موش با روش پریفوزیون



شکل ۳- اثر مقادیر مختلف اسید پکتیک در ترشح β -آندورفین بوسیله فراکسیونهای هیپوفیز در موش

References

- 1- Harold E.C., Harris L.W. and Reidelberger R.D.1985:
Beer-induced prolactin secretion: a clinical and Laboratory study of the role of salsolinol. *Journal of clin. Endocrinol. and metab.*,60,4,673-677.
- 2- Sawadogo L. Houdebine LM.Thibault JF, Rouau X. 1988
Mise en evidence d'une activité lactogène dans des extraits végétaux. *Bull Med Trad* 2:19-30.
- 3- Sawadogo L.Sepehri H,Houdebine LM. 1989
Mise en évidence d'un facteur stimulant la sécrétion de prolactine et d'hormone de croissance dans les drèches de brasserie, *reprod nutr dev* 29:139-146.
- 4- Sepehri Houri, Catherine Renard. Louis-Marie Houndebine.1990
 β -glucan and pectin derivatives stimulate prolactin secretion from hypophysis in vitro. *Soci. exper. Biol. Med* Vol. 194:193-197.
- 5- Sepehri Houri,1991
La synthèse du β -caséine par l'acide pectique obtenu des extraits des plantes lactogènes *Revue de la faculté des sciences l'Université de Teheran* V. 20, No 1, 61-72