

دانشور پزشکی

بررسی اثر فراکشن ایمونومدولاتور سیر (R10) بر فشارخون، پروتئین، کراتینین و اسید اوریک موش باردار و غیر باردار

نویسندگان: سکینه مؤیدمحمسنی^{۱*}، انسیه سادات میرشرف^۲، فاطمه ایوبی^۲،
مرضیه اقتداردوست^۳، سیدمحمدرضاعمادی^۴، مرجان حشمتی^۵، طوبی غضنفری^۶

- ۱- استادیار، گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران
- ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران
- ۳- کارشناس ارشد سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقاتی تنظیم پاسخ‌های ایمنی دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
- ۴- دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

- ۵- استادیار، گروه تشریح و پاتولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران
- ۶- استاد، گروه ایمونولوژی و مرکز تحقیقاتی تنظیم پاسخ‌های ایمنی دانشگاه شاهد، تهران، ایران

E-mail: smmohseni@shahed.ac.ir

* نویسنده مسئول: سکینه مؤیدمحمسنی

چکیده

مقدمه: با توجه به اثراتی که سیر بر سیستم ایمنی دارد و رابطه ای که بین سیستم ایمنی و نتیجه بارداری به اثبات رسیده بر آن شدید اثر فراکشن ایمونومدولاتور سیر (R10) را بر پارامترهای مهم در دوران بارداری بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها: ۳۰ راس موش بальب سی ماده یک هفته بعد از جفتگیری به چهار گروه دریافت کننده فراکشن R10 به مدت یک هفته، دو هفته و گروه‌های کنترل متناسب با خود تقسیم شدند. تزریق فراکشن با دوز ۰/۲ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی و تا روز هجدهم بارداری ادامه داشت؛ در این فاصله، فشارخون موش‌ها اندازه‌گیری و برای سنجش پروتئین و کراتینین نمونه ادرار و به منظور سنجش اسیداوریک نمونه سرم جمع‌آوری شد.

نتایج: تزریق ۰/۲ میلی گرم بر کیلوگرم فراکشن R10 سیر به مدت دو هفته موجب افزایش معنی دار فشارخون سیستمولی و کاهش معنی دار پروتئین ادرار و نسبت پروتئین به کراتینین ادرار موش‌های غیرباردار گشت. کراتینین ادرار در هیچ یک از گروه‌ها تفاوت معنی دار نداشت. هر دو گروه باردار و غیرباردار دریافت‌کننده دو هفته فراکشن اسید اوریک بالاتری نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهند.

نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه دوز استفاده شده از فراکشن R10 سیر در این مطالعه که از دوزهای موثر بر سیستم ایمنی بیشتر بوده است اثر افزایشی بر فشارخون و اسید اوریک سرم دارد، و از آنجایی که تغییرات مشاهده شده در جهت ایجاد پراکلامپسی است، احتیاط در مصرف مقادیر بالای سیر و فراکشن R10 در زمان بارداری و مطالعات بیشتر در مدل‌های حیوانی و انسانی پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: فراکشن ایمونومدولاتور سیر (R10)، فشار خون، پروتئین، کراتینین، اسید اوریک، پراکلامپسی، باردار

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال نوزدهم- شماره ۹۵
آبان ۱۳۹۰

وصول: ۱۳۹۰/۶/۳۱
آخرین اصلاحات: ۱۳۹۰/۸/۱۵
پذیرش: ۱۳۹۰/۸/۲۲

مقدمه

سیر با نام علمی *Allium Sativum* گیاهی از خانواده *Liliaceae* است. در طب سنتی ایران برای آن، آثاری مختلف در نظر گرفته شده است از آن جمله می توان اثر ضد عفونی کنندگی، اشتها آور، هضم کننده غذا، صفرابر، خلط آور، نیرو دهنده، کاهش دهنده فشارخون و ضد سرطان و موثر در درمان بیماری قند را نام برد (۱).

در سال های اخیر توجه زیادی به جنبه های مختلف آثار دارویی عصاره سیر و جداسازی ترکیب های مختلف آن معطوف شده، گزارش های فراوانی در این خصوص وجود دارد. در اغلب موارد آثار در مانی سیر را مربوط به ترکیب های ارگانوسولفور آن مانند آلیسین می دانند (۲). از جمله ترکیبات مهم دیگر سیر، پروتئین های آن است که تحقیقات نشان می دهد که دو پروتئین ۴۵ و ۱۴ کیلودالتنی شامل الیناز و لکتین های سیر دو پروتئین عمده موجود در سیر هستند (۳)؛ مطالعات غضنفری و همکاران نشان می دهد که خواص ایمونومدولاتوری سیر شامل تقویت پاسخ های سلولی و افزایش ازدیاد حساسیت تاخیری، شیفت پاسخ های سایتوکاینی به سمت Th1 در مدل لیسمانیوزو... مربوط به ماده ای موثره است که در فراکشن R10 جدا شده است (۴).

مطالعات نشان می دهد که سیستم ایمنی نقشی مهم در حاملگی چه در شرایط طبیعی و چه در شرایط پاتولوژیک ایفای کند و بین پارامترهای ایمنی و نتیجه بارداری رابطه تنگاتنگی وجود دارد و پاسخ های ایمنی غیر طبیعی در اوایل بارداری، سقط جنین را افزایش می دهند (۵). به طور نمونه در حاملگی طبیعی پاسخ های سایتوکاینی به سمت Th2 شیفت می یابند ولی در حاملگی پراکلامپسی پاسخ Th1 غالب است (۶، ۷). پراکلامپسی یکی از اختلالات فشارخون بارداری است که با فشارخون بالا و وجود پروتئین در ادرار مشخص می شود (۸)؛ از دیگر نشانگرهای پراکلامپسی بالا بودن اسید اوریک سرم است که برخی آن را حساس ترین نشانه پراکلامپسی می دانند (۹)؛ همچنین تعیین نسبت

پروتئین به کراتینین ادرار نیز به عنوان یکی دیگر از معیارهای تشخیص پراکلامپسی مطرح شده است (۱۰). با توجه به آثار متعدد سیر و فراکشن R10 آن بر پاسخ های ایمنی و رابطه ای که سیستم ایمنی با روند بارداری دارد این سؤال در ذهن ایجاد می شود که اثر سیر و فراکشن موثره آن در دوران بارداری به چه صورتی است. از این رو در این مطالعه بر آن شدید اثر فراکشن R10 سیر را بر فشارخون، پروتئین، کراتینین و اسید اوریک در موش بلب سی ماده در دو وضعیت باردار و غیرباردار تعیین نمائیم.

مواد و روش ها

تهیه فراکشن R10

برای فراکشن گیری از عصاره سیر از روش استفاده شده توسط غضنفری و همکاران (۱۱) یعنی سیستم اولترافیلتراسیون آمیکون استفاده شد، به طوری که عصاره آبی سیر از چندین فیلتر با اندازه های ۵، ۱۰، ۳۰، ۵۰ و ۱۰۰ کیلودالتونی عبور داده شد که در نهایت فراکشن R10 تهیه شد.

حیوان آزمایشگاهی و تجویز R10

تعداد ۳۰ راس موش بلب سی ماده با وزن تقریبی ۲۵ گرم از انستیتو پاستور تهران- ایران تهیه شد. موش های ماده حدود ۱۰ روز از محیط موش های نر جدا نگهداشته شد بعد از طی این دوره موش های نر و ماده در مجاورت هم قرار گرفته و روزانه با کنترل پلاک واژنی، موش های باردار جدا می شد. بعد از گذشت یک هفته موش ها اعم از باردار و غیرباردار به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند. یک گروه فراکشن R10 سیر را به مدت یک هفته و گروه دیگر این فراکشن را به مدت دو هفته از طریق تزریق درون صفاقی و با دوز ۰/۲ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کردند. متناسب با گروه های دارو، گروه کنترل که دریافت کننده سرم فیزیولوژی بودند تعریف شد. تعداد موش های گروه های یک هفته ۷ راس و گروه های دو هفته ۸ راس در نظر گرفته شد. موش ها از شروع جفت گیری به مدت هفده روز نگهداری و در روز هجدهم با رعایت کامل

دستورالعمل کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه شاهد کشته شدند.

فشارخون

فشارخون سیستولی تمامی موش‌ها در سه زمان قبل از جفت‌گیری، انتهای هفته اول تزریق و انتهای هفته دوم تزریق با دستگاه فیزوگراف (AD instrument power lab 4/30-UK) و با کمک نرم‌افزار Lab chart اندازه‌گیری شد. به‌طور متوسط در هر مرحله فشارخون هر موش سه مرتبه اندازه‌گیری و میانگین آن در نظر گرفته شد.

پروتئین و کراتینین ادرار

ادرار موش‌ها در چهار مرحله قبل از جفت‌گیری، انتهای هفته اول تزریق و انتهای هفته دوم تزریق و روز کشتن در اپندورف جمع‌آوری و در دمای منهای ۲۰ درجه نگهداری شد. برای سنجش پروتئین از روش برادفورد از دستورالعمل موجود در بروشور معرف برادفورد (SIGMA-ADRIK-B6916-Germany) استفاده شد. کراتینین ادرار با استفاده از کیت سنجش کراتینین (پارس آزمون-ایران) سنجیده شد. هر نمونه ادرار به‌صورت دو مرتبه تکرار مورد بررسی قرار گرفت.

اسید اوریک سرم

ابتدا موش مورد بررسی با حجم بالای دی اتیل اتر بیهوش و قبل از ایستادن کامل قلب از تپش، به میزان ۱/۵ سی‌سی از قلب هر موش خون گرفته شد و در لوله‌های جداگانه ریخته شد. بعد از تشکیل لخته، سرم جمع‌آوری و در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد به‌منظور سنجش اسید اوریک نگهداری شدند. اسید اوریک سرم با کیت مربوط (زیست شیمی-ایران) سنجیده شد. هر نمونه سرم به‌صورت سه مرتبه تکرار مورد بررسی قرار گرفت.

آنالیز آماری

داده‌های به‌دست‌آمده به‌وسیله آزمون آماری تی استیودنت و آنووا با نرم‌افزار SPSS Ver19 مورد بررسی قرار گرفت؛ و سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

فشارخون

فشارخون سیستولی تمامی موش‌های تحت آزمایش در سه مرحله مختلف اندازه‌گیری و یادداشت شد. میانگین فشارخون موش‌ها قبل از جفت‌گیری $81/65 \pm 0/22$ میلی/متر جیوه برآورد شد. تزریق یک هفته فراکشن، میزان فشارخون را به $86/85 \pm 1/69$ رساند و تزریق دو هفته به $87/87 \pm 2/01$ میلی/متر جیوه افزایش داد. اختلاف مشاهده‌شده بین فشارخون گروه دریافت‌کننده دو هفته فراکشن با قبل از جفت‌گیری و دریافت‌کننده یک هفته با آزمون آماری معنی‌دار ($P < 0.05$) شد.

در هفته دوم تزریق، فشارخون موش‌های باردار و غیرباردار به‌طور جداگانه ثبت شد. فشارخون موش‌های غیرباردار بعد از دو هفته دریافت فراکشن از $81/65 \pm 0/22$ میلی/متر جیوه در قبل از جفت‌گیری به $86/85 \pm 1/69$ و در موش باردار به $106/25 \pm 2/85$ میلی/متر جیوه تغییر یافته است. با وجود افزایش چشمگیر در فشارخون موش‌های دریافت‌کننده فراکشن تنها اختلاف فشارخون موش‌های غیرباردار با قبل از جفت‌گیری معنی‌دار گزارش شد. در نمودار ۱ اثر تزریق دو هفته فراکشن R10 بر فشارخون موش باردار و غیرباردار آورده شده است.

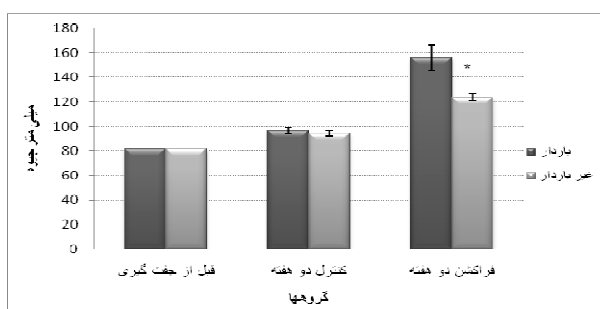
کراتینین ادرار

سنجش کراتینین ادرار موش‌ها نشان می‌دهد که میزان این بیو مارکر در ادرار موش‌ها در انتهای یک هفته تزریق فراکشن R10 از حدود $0/36$ در گروه کنترل به $0/42$ میلی‌گرم بر دسی لیتر رسیده است. میزان کراتینین در گروه کنترل دو هفته $0/42$ میلی‌گرم بر دسی لیتر بوده که بعد از تزریق دو هفته پیوسته این فراکشن به $0/51$ میلی‌گرم بر دسی لیتر رسید. نتایج روز نهایی آزمایش نشان می‌دهد که در گروه یک هفته میزان کراتینین از $0/39$ به $0/52$ میلی‌گرم بر دسی لیتر (به ترتیب گروه کنترل و دریافت‌کننده فراکشن) افزایش یافته، در گروه دو هفته نیز به ترتیب از $0/47$ به $0/57$

موش غیرباردار ۰/۳۵ میلی گرم بر دسی لیتر بوده، در گروه تزریق یک هفته فراکشن ۰/۵۶ میلی گرم بر دسی لیتر است در همین گروه‌ها کراتینین ادرار موش‌های باردار ۰/۴۰ و ۰/۴۶ میلی گرم بر دسی لیتر به ترتیب در گروه کنترل و فراکشن مشاهده شد. موش غیرباردار در گروه کنترل دو هفته کراتینینی در حدود ۰/۴۷ میلی گرم بر دسی لیتر داشت ولی گروه دریافت کننده فراکشن ۰/۶۱ میلی گرم بر دسی لیتر گزارش شد. در گروه باردار کراتینین از ۰/۴۶ به ۰/۵۱ میلی گرم بر دسی لیتر (به ترتیب گروه کنترل و فراکشن) افزایش یافته بود. این نتایج در نمودار ۲ قابل مشاهده است. اختلاف‌های مشاهده شده در هیچ یک از گروه‌ها معنی دار نبوده است.

میلی گرم بر دسی لیتر افزایش یافته است. با اینکه کراتینین ادرار در تمامی گروه‌های دریافت کننده فراکشن R10 سیر نسبت به گروه کنترل خود افزایش نشان می‌دهد ولی آنالیز آماری هیچ کدام از این تفاوتها را معنی دار تشخیص نداده است.

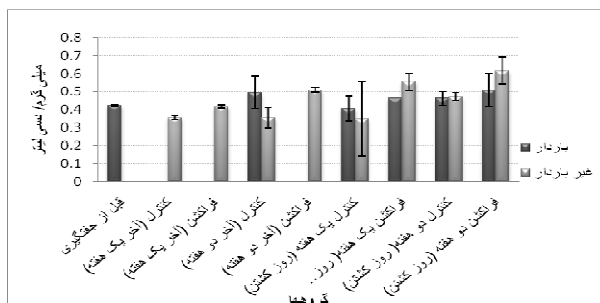
بعد از امکان تشخیص موش باردار از غیرباردار کراتینین ادرار موش‌ها به تفکیک وضعیت بارداری نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تزریق R10 به مدت یک هفته کراتینین ادرار موش غیرباردار را از ۰/۳۵ به ۰/۴۲ میلی گرم بر دسی لیتر تغییر داده است و تزریق دو هفته، کراتینین این موش‌ها را از ۰/۳۵ به ۰/۵۱ میلی گرم بر دسی لیتر افزایش داده است. کراتینین ادرار روز نهای تست در گروه کنترل یک هفته در



نمودار ۱- اثر تزریق فراکشن R10 به مدت دو هفته بر فشارخون سیستولی موش باردار و غیرباردار میانگین فشارخون و خطای انحراف معیار نشان داده شده است.

$P < 0.05$ سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

*: معنی دار با قبل از جفت گیری



نمودار ۲- اثر تزریق یک و دو هفته فراکشن R10 سیر بر کراتینین ادرار موش باردار و غیرباردار میانگین کراتینین ادرار و خطای انحراف معیار نشان داده شده است.

$P < 0.05$ سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

پروتئین ادرار

پروتئین ادرار در نمونه‌های جمع‌آوری شده با روش برادفورد سنجیده شد. میزان پروتئین قبل از جفت‌گیری ۰/۶۲۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود و بعد از دو هفته تزریق به ۰/۴۸۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رسید، در گروه کنترل دو هفته میزان پروتئین در حدود ۰/۵۰۶ است. در انتهای آزمایش یکبار دیگر نمونه ادرار موش‌ها جمع‌آوری و پروتئین آن سنجیده شد. در این زمان میزان پروتئین گروه یک هفته از ۰/۶۳ به ۰/۲۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (به ترتیب گروه کنترل و فراکشن) کاهش یافته بود. در گروه دو هفته میزان پروتئین از ۰/۴۵ به ۰/۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (به ترتیب گروه کنترل و فراکشن) کاهش یافته بود. اختلاف بین گروه دریافت‌کننده فراکشن به مدت دو هفته در روز انتهایی تست با قبل از جفت‌گیری معنی‌دار است ($P < 0.05$).

بعد از تشخیص موش‌های باردار مقدار پروتئین ادرار این موش‌ها از موش‌های غیرباردار قابل تفکیک بود. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد میزان پروتئین ادرار موش غیرباردار در گروه کنترل دو هفته ۰/۵۰۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و در گروه فراکشن ۰/۴۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است. در روز انتهایی تست پروتئین ادرار موش‌های باردار در گروه کنترل یک هفته ۰/۶۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و در گروه دریافت‌کننده فراکشن ۰/۲۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. میزان پروتئین ادرار موش‌های باردار دریافت‌کننده فراکشن به مدت دو هفته ۰/۳۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و موش‌های گروه کنترل ۰/۶۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است. همچنین پروتئین موش‌های غیرباردار از ۰/۴۰ به ۰/۲۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (به ترتیب در گروه کنترل و فراکشن) کاهش یافته است. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد تزریق فراکشن R10 به مدت یک و دو هفته موجب کاهش پروتئین ادرار در موش‌های باردار و غیرباردار شده است و اختلاف بین موش‌های غیرباردار دریافت‌کننده دو هفته فراکشن با قبل از جفت‌گیری از

لحاظ آماری معنی‌دار است ($P < 0.05$). داده‌های این تست در نمودار ۳ نشان داده شده است.

با توجه به اهمیت نسبت پروتئین به کراتینین ادرار در تشخیص پراکلامپسی، نسبت بین این دو بیومارکر در موش باردار و غیرباردار تعیین شد. نتایج نشان می‌دهد که این نسبت در موش‌های باردار در گروه یک هفته در روز انتهایی تست از 0.41 ± 0.15 به 0.08 در گروه دریافت‌کننده یک هفته فراکشن کاهش یافته است. در گروه کنترل دو هفته این نسبت 0.98 ± 0.178 است ولی در گروه فراکشن دو هفته 0.04 ± 0.075 است. در موش‌های غیرباردار با نمونه‌های روز انتهایی تست این نسبت تعیین شد. در گروه کنترل یک هفته 0.6 ± 0.14 و در گروه فراکشن 0.24 ± 0.094 بود و در گروه دو هفته 0.22 ± 0.067 در گروه کنترل و 0.21 ± 0.05 در گروه فراکشن است. این نسبت در نمونه‌های قبل از جفت‌گیری نیز تعیین شد و 0.41 ± 0.166 به دست آمد. نتایج در نمودار ۴ آورده شده است. نسبت پروتئین به کراتینین ادرار در موش‌های غیرباردار دریافت‌کننده فراکشن به مدت دو هفته با قبل از جفت‌گیری تفاوت معنی‌دار دارد ($P < 0.05$).

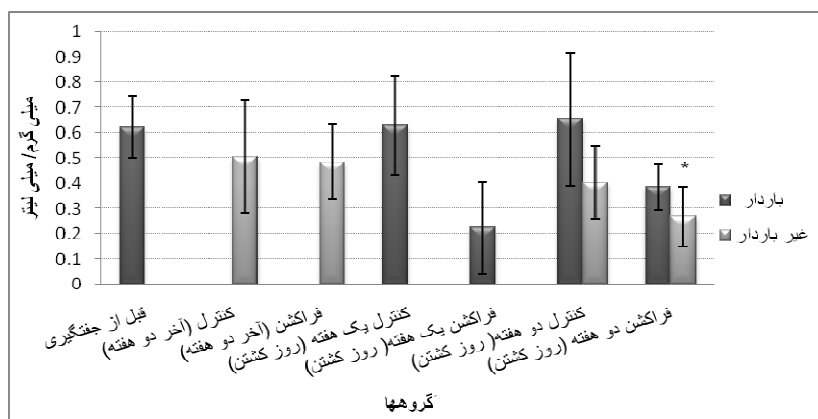
اسید اوریک سرم

بعد از کشتن موش‌ها و تهیه سرم هر موش اسید اوریک موجود در آنها با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده کیت سنجیده شد. میزان اسید اوریک سرم در موش‌های گروه کنترل یک هفته 0.56 ± 0.2 میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بوده که بعد از دریافت یک هفته فراکشن به 0.68 ± 0.094 کاهش یافته است. درباره گروه دوم اسید اوریک سرم از 0.14 ± 0.051 در گروه کنترل به 0.38 ± 0.07 میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در گروه دریافت‌کننده دو هفته فراکشن تغییر یافته است. تغییر مشاهده شده در گروه دوم از نظر آماری معنی‌دار گزارش شد ($P < 0.05$).

به دلیل مشخص بودن بارداری هر موش در روز انتهایی تست سرم موش‌ها به تفکیک وضعیت بارداری بررسی شد. نتایج نشان می‌دهد که در گروه باردار اسید اوریک از 0.78 ± 0.118 به 0.39 ± 0.05 میلی‌گرم بر

لیتر در گروه یک هفته کاهش یافته ولی در همین نشان می‌دهد که اسید اوریک سرم موش‌های باردار بعد از دریافت دو هفته فراکشن R10 سیر اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل خود دارد. درباره موش‌های غیرباردار باز هم اختلاف بین گروه دریافت‌کننده فراکشن به مدت دو هفته با گروه کنترل خود و با گروه دریافت‌کننده فراکشن معنی‌دار بود ($P < 0.05$). داده‌های این نتایج در نمودار ۵ آورده شده است.

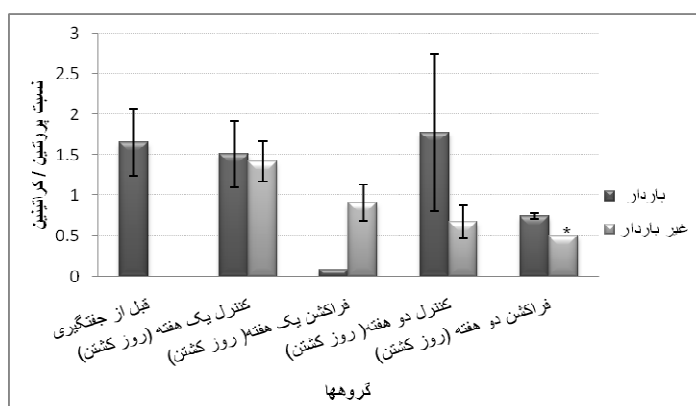
دسی لیتر در گروه یک هفته کاهش یافته ولی در همین نشان می‌دهد که اسید اوریک سرم موش‌های باردار بعد از دریافت دو هفته فراکشن R10 سیر اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل خود دارد. درباره موش‌های غیرباردار باز هم اختلاف بین گروه دریافت‌کننده فراکشن به مدت دو هفته با گروه کنترل خود و با گروه دریافت‌کننده فراکشن معنی‌دار بود ($P < 0.05$). داده‌های این نتایج در نمودار ۵ آورده شده است.



نمودار ۳- اثر تزریق یک و دو هفته فراکشن R10 سیر بر پروتئین ادرار موش باردار و غیرباردار میانگین پروتئین ادرار و خطای انحراف معیار نشان داده شده است.

$P < 0.05$ سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

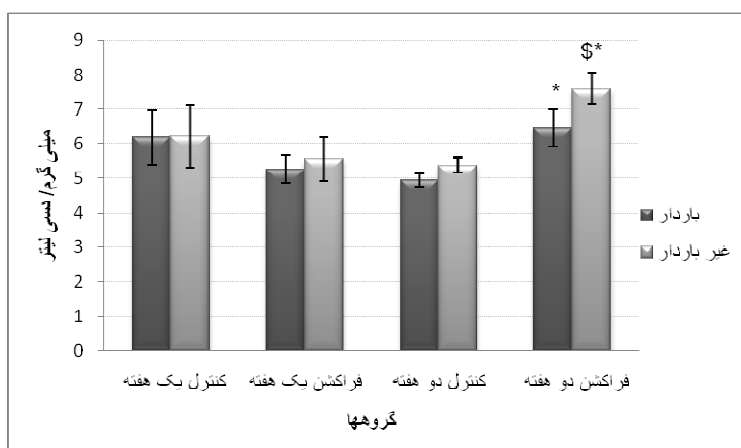
* معنی‌دار با قبل از جفت‌گیری



نمودار ۴- اثر تزریق یک و دو هفته فراکشن R10 سیر بر نسبت پروتئین به کراتینین ادرار موش باردار و غیرباردار نسبت پروتئین به کراتینین ادرار و خطای انحراف معیار نشان داده شده است.

$P < 0.05$ سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

* معنی‌دار با قبل از جفت‌گیری



نمودار ۵- اثر تزریق یک و دو هفته فراکشن R10 سیر بر اسید اوریک سرم موش باردار و غیرباردار میانگین اسید اوریک سرم و خطای انحراف معیار نشان داده شده است. $P < 0.05$ سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

*= معنی دار با گروه کنترل دو هفته

\$= معنی دار با گروه فراکشن یک هفته

بحث و نتیجه گیری

اهمیت دوارن بارداری و خطرات متعددی که در این زمان حیات مادر و جنین را تهدید می کند بر کسی پوشیده نیست؛ بنابراین یکی از نکاتی که باید درباره هر فرآورده جدید مشخص شود بررسی آثار آن در دوران حاملگی است. در سال های اخیر مطالعات متعددی درباره تاثیر سیر بر سیستم ایمنی انجام شده و فراکشن ایمونومدولاتور آن جداسازی و شناسایی شده است. این مطالعات همچنین نشان داده است که سیر و فراکشن R10 آن باعث افزایش پاسخ های سایتوکاینی Th1 و کاهش Th2 می شود (۴). از آنجایی که در طی حاملگی طبیعی غلبه پاسخ Th2 و در وضعیت پراکلامپسی شیفیت پاسخ به سمت Th1 وجود دارد (۶، ۷)؛ به این دلیل بررسی اثر R10 بر فشارخون دوران حاملگی و سایر متغیرهای وابسته به آن ضروری به نظر می رسد. در این مطالعه بر آن شدیم اثر فراکشن R10 سیر که به عنوان فراکشن ایمونومدولاتور سیر نیز شناخته می شود بر پارامترهای بیوشیمیایی، مانند پروتئین و کراتینین ادرار، اسید اوریک سرم و پارامتر فیزیولوژیک فشارخون در موش های باردار و غیرباردار مورد بررسی قرار دهیم. در مطالعه ضیائی و همکاران در سال ۲۰۰۰ اشاره شده است که تجویز روزانه ۸۰۰ میلی گرم قرص سیر به

۵۰ زن باردار در سه ماهه سوم بارداری موجب کاهش فشارخون تنها ۱ این افراد در مقایسه با زنان دریافت کننده دارونما شده است ولی بر فشارخون سیستولی و دیاستولی اثر معنی داری نداشته است (۱۲). در مطالعه حاضر تزریق فراکشن R10 سیر به مدت دو هفته موجب افزایش فشارخون سیستولی موش های غیرباردار شده است و در موش باردار افزایش فشارخون مشاهده شد اگر چه این افزایش معنی دار نبوده است، با توجه به تعداد کم نمونه های گروه باردار بررسی دقیقتر با تعداد نمونه بیشتر توصیه می شود، از طرفی در مطالعه ضیائی و همکاران از سیر به صورت تام استفاده شده است در حالی که در مطالعه حاضر از فراکشن ایمونومدولاتور سیر (R10) استفاده شد و چه بسا وجود ترکیبات دیگر در سیر تام باعث تعدیل آثار اجزای مختلف آن می شود. با قدری تامل در فشارخون موش های باردار و غیرباردار این نکته نمایان می شود که در موش غیرباردار تجویز دو هفته فراکشن موجب افزایش ۵۰ درصد و در موش باردار موجب افزایش ۹۰ درصد در فشارخون شده است و احتمال دارد این عدم معنی داری با وجود افزایش چشمگیر در فشارخون موش باردار مربوط به تعداد موش های باردار در این گروه باشد.

در نگاه کلی مطالعه حاضر نشان می‌دهد که پروتئین ادرار در موش‌های غیرباردار در گروه دو هفته فراکشن نسبت به قبل از جفت‌گیری کاهش معنی‌دار داشته‌است؛ و در موش باردار اثری معنی‌دار ندارد؛ البته توجه در نتایج نشان می‌دهد که میزان پروتئین ادرار در موش غیرباردار کاهش یافته ولی در موش باردار تغییری قابل توجه نداشته‌است؛ یعنی نسبت به موش غیرباردار بالاتر است که شاید بتوان گفت به‌طور کلی، فراکشن R10 با دو هفته تزریق موجب افزایش پروتئینوری موش باردار نسبت به غیرباردار می‌شود. مطالعات متعددی نشان‌دهنده رابطه بین وجود پروتئین در ادرار و بالا رفتن احتمال پراکلامپسی در افراد باردار است؛ ولی با وجود این، چون پروتئینوری به‌صورت تاخیری ظاهر می‌شود، ممکن است تعدادی از افراد باردار به انتهای حاملگی برسند و با وجود مشاهده سایر علائم پراکلامپسی هنوز افزایش پروتئین در ادرار آنها به حد غیر طبیعی نرسد (۱۳)؛ و با توجه به دوران سه هفته‌ای بارداری در موش امکان دارد برای افزایش پروتئین ادرار متعاقب بالا بودن فشارخون به زمان بیشتری نیاز باشد؛ همچنین Pedraza-Chaverri و همکاران در سال ۲۰۰۳ نشان می‌دهند که دلایل سولفید، یک ترکیب مشتق از سیر، پروتئینوری ناشی از آسیب کلیوی جنتامایسین را در رت‌های دریافت‌کننده آن کاهش می‌دهد و آنها این اثر ترکیب سیر را به کاهش استرس اکسیداتیو در کورتکس کلیه نسبت می‌دهند (۱۴)؛ شاید هم این کاهش پروتئینوری متعاقب استفاده از فراکشن از اثر حفاظتی سیر از آسیب کلیوی ناشی از فشارخون بالا نشأت بگیرد، به‌رحال جهت تأیید اثر فراکشن R10 سیر بر پروتئینوری مطالعات تکمیلی لازم به‌نظر می‌رسد.

ذکر این نکته ضروری است که در اغلب مطالعات پروتئینوری با نمونه ادرار ۲۴ ساعته سنجیده شده‌است ولی در مطالعه حاضر از نمونه ادرار تصادفی (یک نمونه در روز) استفاده شد. مطالعه مبشری و همکاران در سال ۱۳۸۳ نشان می‌دهد که بین پروتئین ادرار ۲۴ ساعته و نسبت پروتئین به کراتینین ادرار تصادفی همبستگی

بسیار بالائی وجود دارد و هرچند جمع‌آوری ادرار ۲۴ ساعته برای سنجش پروتئین موجود در ادرار قابل اعتمادتر است ولی تعیین نسبت پروتئین به کراتینین ادرار در نمونه تصادفی ادرار می‌تواند جایگزین مناسب و قابل اعتمادی برای نمونه ۲۴ ساعته باشد (۱۰). از این رو کراتینین نمونه ادرارهای موجود نیز سنجیده شد و نتایج نشان می‌دهد کراتینین ادرار در موش‌های باردار و غیرباردار تحت اثر فراکشن چه در گروه دریافت‌کننده یک هفته چه گروه دریافت‌کننده دو هفته، نسبت به قبل از جفت‌گیری و کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. نسبت بین دو مارکر پروتئین به کراتینین ادرار در گروه غیرباردار و دریافت‌کننده دو هفته فراکشن نسبت به قبل از جفت‌گیری کاهش معنی‌دار نشان می‌دهد. در مابقی گروه‌ها کاهش غیر معنی‌دار ولی چشمگیر مشاهده می‌شود که شاید این کاهش در نسبت پروتئین به کراتین ادرار در هر دو گروه موش (با توجه به افزایش کراتینین در این گروه‌ها) ناشی از کاهش چشمگیر پروتئین در ادرار دانست که در بالا به توضیح علت احتمالی آن پرداخته شد.

نتایج درباره اسید اوریک سرم قابل تامل است هر دو گروه موش باردار و غیرباردار با دریافت دو هفته فراکشن سطح سرمی بالاتری از اسید اوریک را نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهند این اختلاف نه تنها در هر دو گروه معنی‌دار است بلکه در موش غیرباردار نسبت به گروه دریافت‌کننده یک هفته فراکشن نیز معنی‌دار است. مطالعات متعددی تأیید کننده ارتباط افزایش اسید اوریک سرم و پرفشاری خون هستند (۱۵-۱۷) و محققان سازوکار اثر اسید اوریک بر پرفشاری خون را در بسیاری از مطالعات مورد بررسی قرار داده‌اند و از مهم‌ترین عواملی می‌توان به تحریک پرولیفراسیون سلول‌های ماهیچه صاف عروق (۱۸) و کاهش غلظت نیتریک اکساید اندوتلیال (۱۹) اشاره کرد؛ همچنین مطالعات زیادی افزایش غلظت اسید اوریک را در پراکلامپسی تأیید کرده‌اند و برخی آن را حساس‌ترین نشانگر پراکلامپسی می‌دانند (۹). با توجه به این مطالب

منابع

1. Avicenna A. Al-Qanun Fil-Teb: 221-30. 286 - 8; 1991.
2. Ghazanfari T. Hassan Z. Yaraee R. Experimental effect of Garlic Extract and its fractions on L. major growth curve. *Kousar Med.* 2000;5:117 - 22.
3. Schagger H. Jagow G. Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Anal Biochem.* 1987;166:368 - 79.
4. Ghazanfari T. Hasan Z. Ebrahimi M. Immunomodulatory activity of a protein isolated from garlic. *Int Immunopharmacol.* 9-5:1540;2002.
5. Kwak-Kim J. Gilman-Sachs A. Kim C. T helper 1 and 2 immune responses in relationship to pregnancy, nonpregnancy, recurrent spontaneous abortions and infertility of repeated implantation failures. *Chem Immunol Allergy* 2005;88:64-79.
6. Martinez-Orgado J. Gonzalez R. Alonso M. Salaices M. Impairment of fetal endothelium-dependent relaxation in a rat model of preeclampsia by chronic nitric oxide synthase inhibition. *J Soc Gynecol Investig.* 2004 11(2):82-6.
7. Visser N, Rijn Bv, Rijkers G, Franx A, Bruinse H. Inflammatory changes in preeclampsia: current understanding of the maternal innate and adaptive immune response. *Obstet Gynecol Surv.* 2007;62(3):191-201.
8. Cunningham F, Gant N, Leveno K, Gilstrap L, Hauth J, Wenstrom K. *Williams Obstetrics.* 21 ed. New York: McGraw-Hill Companies; 2001
9. Fakhri M, M AS, Mohammadpour T. Comparative study of serum uric acid levels in preeclamptic and normal pregnant women and its related outcomes. *Journal of mazandaran university of medical sciences.* 2.34-26:(47) 15:00.
10. Mobsheri E. Azarhoush R. Khoddam H. Rabeia M. Tazik M. The comparison of total Protein/Creatinine ratio versus 24-hour urine protein in women with suspected preeclampsia *J Gorgan Uni Med Sci.* 2004;6(2):97-102.
11. Ghazanfari T, Hassan Z, Ebrahimi M. Immunomodulatory activity of a protein isolated from garlic extract on delayed type hypersensitivity. *International Immunopharmacology.* 2002;2:1541-9.
12. Ziaei S. Hantoshzadeh S. Rezasoltani P. Lamyian M. The effect of garlic tablet on plasma lipids and platelet aggregation in nulliparous pregnant at high risk of preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001;99(2):201-6.

شاید دلیل دیگر بر افزایش فشارخون ناشی از اثر فراکشن R10 بالا رفتن اسید اوریک سرم تحت اثر این فراکشن باشد.

در انتها ذکر این نکته ضروری است که تمامی نتایج به دست آمده در موش‌های بارداری و غیرباردار کاملاً مشابه بوده است و نمی‌توان مطرح کرد که فراکشن R10 با دوز ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثر متفاوتی در دوران بارداری دارد؛ ولی با توجه به اهمیت دوران بارداری و شرایط خاصی که در این دوران بر بدن حاکم است که هرگونه تغییر در پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بدن می‌تواند حیات مادر و جنین را تهدید کند؛ اهمیت نتایج به دست آمده در موش‌های بارداری را دوچندان می‌کند.

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان اینطور نتیجه‌گیری کرد که فراکشن R10 سیر با دوز ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب افزایش فشارخون سیستمی و اسید اوریک سرم و کاهش پروتئین ادرار شود و با توجه به این نتایج باید اثر سایر غلظت‌های فراکشن نیز مورد بررسی قرار بگیرد؛ به خصوص، لازم است مطالعاتی کامل‌تر درباره آثار اجزای مختلف سیر با دوزهای متفاوت بر روند بارداری انجام پذیرد.

13. Shahgheibi S, Naghshbandi M, Shahsavari S, Khaledian A. Assessment of correlation of 4 hour and 24 hour urine protein in pregnant women with hypertensive disorders. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*. 2007;11(4):1-5.
14. Pedraza-Chaverri J, Maldonado P, Barrera D, Cerón A, Medina-Campos O, Hernández-Pando R. Protective effect of diallyl sulfide on oxidative stress and nephrotoxicity induced by gentamicin in rats. *Mol Cell Biochem*. 2003;254(1-2):125-30.
15. Alper J, Chen W, Yau L, Srinivasan S, Berenson G, Hamm L. Childhood uric acid predicts adult blood pressure: the Bogalusa Heart Study. *Hypertension*. 2005;45:34-8.
16. Masuo K, Kawaguchi H, Mikami H, Ogihara T, MLTuck. Serum uric acid and plasma norepinephrine concentrations predict subsequent weight gain and blood pressure elevation. *Hypertension*. 2003;42: 474-80.
17. Nagahama K, Inoue T, Iseki K, Touma T, Kinjo K, Ohya Y. Hyperuricemia as a predictor of hypertension in a screened cohort in Okinawa. *Japan. Hypertens Res*. 2004;27:835-41.
18. Rao G, Corson M, Berk B. Uric acid stimulates vascular smooth muscle cell proliferation by increasing platelet-derived growth factor A-chain expression. *Biol Chem*. 1991;266:8604-8.
19. Feig D, Mazzali M, Kang D-H, Nakagawa T, Price K, Kannelis J. Serum uric acid: a risk factor and a target for treatment? *Am Soc Nephrol* 2006;17:S69-73.

Daneshvar

Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
Seventeenth Year,
No.95
October, November
2011*

Received: 22/9/2011

Last revised: 5/11/2011

Accepted: 12/11/2011

The effect of immunomodulator fraction of garlic (R10) on blood pressure, protein, creatinine and uric acid in pregnant and non-pregnant mice

Sakine Moaied Mohseni^{*1}, Mirsharif Ensieh Sadat², Fatemeh Aiiobi², Marzieh Eghtedardoost³, Seied Mohamed Reza Emadi⁴, Marjan Heshmati⁵, Tooba Ghazanfari⁶.

1.Assistant professor, Obstetrics and Gynecology Department, Shahed University, Tehran, Iran

2.M Sc Student of Immunology , Shahed University, Tehran, Iran

3.MS of Immunology, Immunoregulation Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

4.Medical student, Student Research Committee, Shahed University, Tehran, Iran

5.Assistant Professor, Anatomy and Pathology Department, Shahed University, Tehran, Iran

6.Professor, Immunology Department, Immunoregulation Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

E-mail: smmohseni@shahed.ac.ir

Abstract

Background and Objective: Due to the effect of garlic on immune system and a relationship between immune responses and pregnancy outcome, we designed this study to evaluate the effect of immunomodulator fraction of garlic (R10) on main parameters in pregnancy period.

Materials and Methods: One week after mating of 30 female BALB/c mice, they were divided into four groups: one group received R10 fraction for one week, one group received R10 fraction for two weeks and their corresponding control groups. Intraperitoneal injection of 0.2 mg/kg of the fraction continued until 18th days of pregnancy. During this time, blood pressure was measured and their urine for protein and creatinine assay and serum for uric acid assay were collected.

Results: Injection of 0.2 mg/kg of R10 fraction for two weeks significantly increased systolic blood pressure, declined urine protein and protein to creatinine ratio in non-pregnant mice. No significant difference was observed regarding urine creatinine between the groups. In both groups (i.e. pregnant and non-pregnant), serum level of uric acid increased as compared to control group.

Conclusion: Garlic isolated R10 fraction which was used at a higher dose in this study compared to its immunostimulatory dose increased blood pressure and uric acid. Since this may cause preeclampsia, it is suggested to have precaution for use of high dose garlic and R10 fraction in pregnancy period and more study are warranted on pregnancy in human and animal models.

Key words: Immunomodulator fraction of garlic (R10), Blood pressure, Protein, Creatinine, Uric acid, Preeclampsia, Pregnant