

اثر عصاره هیدروالکلی نعنای بر پاسخ‌های حرکتی کولون به دنبال مواجهه با استرس بی حرکتی در موش آزمایشگاهی

دکتر رضا رحمتی*^۱، دکتر شهریار سمنانی^۲، غلامرضا وقاری^۳، دکتر سیدمهران حسینی^۴، ابراهیم حسام^۵

۱- استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ۲- دانشیار، مرکز تحقیقات کبد و گوارش، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ۳- استادیار، مرکز تحقیقات اختلالات ایسکمیک، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ۴- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ۵- کارشناس گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: عصاره هیدروالکلی نعنای برای کاهش اختلالات گوارشی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره هیدروالکلی نعنای بر پاسخ‌های حرکتی کولون به دنبال مواجهه با استرس بی حرکتی در موش آزمایشگاهی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۳۰ سر موش آزمایشگاهی نژاد آلبینو در سه گروه ده تایی کنترل، استرس بی حرکتی (گروه تجربی اول) و استرس بی حرکتی + تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی نعنای به میزان ۲۷ mg/kg (گروه تجربی دوم) قرار گرفتند. گروه‌های تجربی اول و دوم به مدت ۴ ساعت در روز برای سه روز متوالی تحت استرس بی حرکتی قرار گرفتند. در آزمایشات برون تنی (*in vitro*) قطعاتی از کولون در حمام عضو (حاوی کریس) قرار گرفت و به ترانسدایوسر ثابت فشار ایزومتریک متصل گردید. پس از نیم ساعت تثبیت بافت، انقباضات ایجاد شده در بافت‌های جدا شده از حیوانات مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. وزن مدفوع به صورت شاخص حرکات روده در شرایط درون تنی (*in vivo*) و تغییرات فشار داخل روده در شرایط برون تنی مقایسه گردید.

یافته‌ها: در محیط درون تنی، میانگین و انحراف معیار وزن مدفوع بعد از سه مرحله استرس بی حرکتی در گروه‌های کنترل، تجربی اول و دوم به ترتیب ۰/۷۱±۱/۳۶، ۱/۰۶±۰/۶۴ و ۰/۳۹±۰/۴۷ گرم تعیین شد و اختلاف بین گروه تجربی دوم در مقایسه با گروه‌های کنترل و تجربی اول از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$). در محیط برون تنی، میانگین و انحراف معیار فشار داخل روده برای گروه‌های کنترل، تجربی اول و دوم به ترتیب ۱/۱۵±۰/۴۷، ۱/۲۵±۰/۴۸ و ۰/۳۷±۰/۷۷ میلی‌متر جیوه تعیین شد و اختلاف بین گروه تجربی دوم در مقایسه با گروه‌های کنترل و تجربی اول از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: عصاره نعنای سبب کاهش پاسخ حرکتی کولون بعد از استرس مزمن در شرایط درون تنی و برون تنی می‌گردد.

کلید واژه‌ها: عصاره نعنای، استرس بی حرکتی، کولون، موش

* نویسنده مسؤول: دکتر رضا رحمتی، پست الکترونیکی rahmati.r@gmail.com

نشانی: گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، تلفن ۰۱۷-۳۲۴۲۱۶۵۱، نامبر ۳۲۴۴۰۲۲۵

وصول مقاله: ۱۳۹۴/۶/۲۹، اصلاح نهایی: ۱۳۹۴/۱۲/۵، پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۱۲/۵

مقدمه

استرس بی حرکتی، با تحریک محور هیپوتالاموس - هیپوفیز و همچنین تحریک عصبی سمپاتیک سبب رهاسازی هورمون‌ها و نوروترانسمیترهای مختلف می‌شود (۳ و ۴).

با توجه به اثرات جانبی کمتر داروهای گیاهی نسبت به داروهای شیمیایی، در طب سنتی گیاهان دارویی از جمله نعنای کاربرد فزاینده‌ای یافته است. گیاه نعنای به‌طور قابل ملاحظه‌ای در نقاط مختلف دنیا به‌ویژه در نقاطی با ظرفیت ذخیره بالای آب رشد می‌کند (۵). ترکیبات متعدد و مهمی از جمله کارون، لیمونن، لینالول، منتول و منتون در عصاره نعنای یافت شده است (۶). اثرات شل‌کنندگی عروقی، ضدالتهابی، ضددردی و ضداضطرابی توسط

مجموعه واکنش‌هایی که در پاسخ به محرک‌های بیرونی و یا درونی بدن و یا هر عامل دیگری که سبب عدم تعادل سیستم‌های بدن می‌شود؛ استرس نامیده می‌شود. یکی از مشکلات رایج جوامع امروزی استرس است. میزان اثر استرس به عوامل مختلفی از جمله مدت، شدت و ماهیت عامل استرس بستگی دارد. پاسخ‌های هورمونی و عصبی ویژه‌ای در نتیجه این عوامل به‌وجود می‌آید. از جمله این پاسخ‌ها، تحریک محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - غده آدرنال است (۱). استرس بی حرکتی در حیوانات یکی از روش‌های مطلوب در جهت ایجاد اضطراب و بی‌اشتهایی عصبی است (۲).

عصاره هیدروالکلی گیاه نعناع را به میزان ۲۷ mg/kg به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. به طوری که به ازای هر ۱۰ گرم وزن موش، مقدار ۰/۲ میلی لیتر از عصاره هیدروالکلی گیاه نعناع توسط سرنگ انسولین داخل صفاقی تزریق شد.

برای بررسی اثر استرس و عصاره نعناع در محیط درون تنی (in vivo) میانگین مدفوع در زمان چهار ساعت اندازه گیری شد. برای بررسی اثر استرس و عصاره نعناع بر پاسخ های حرکتی در محیط برون تنی (in vitro) در ابتدا حیوانات با مخلوطی از کتامین (۱۰۰ mg/kg, ip) و گزیلازین (۲۵ mg/kg, ip) بیهوش شدند. پس از باز کردن شکم، از ابتدای روده بزرگ یک قطعه به طول چهار سانتی متر طوری جدا گردید که به آن صدمه ای وارد نشود. داخل قطعات روده با محلول سرد و اکسیژنه کربس به آرامی شستشو داده شدند و بافت همبند و چربی آنها جدا گردید. حمام بافتی حاوی ۲۰ میلی لیتر محلول کربس با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد بود که با گاز محتوی ۹۵ درصد اکسیژن و ۵ درصد دی اکسید کربن هوادهی شد. محتویات کربس برحسب میلی مولار شامل NaHCO₃ (۹۰/۲۱)، (۱۴/۱) NH₂PO₄، (۱۶/۱) MgSO₄، (۴۸/۱۱۵) NaCl و KCL (۶۱/۴) بود.

کربس توسط اکسیژن ۹۵ درصد و دی اکسید کربن ۵ درصد گازدهی شد و توسط پمپ به میزان ۴ میلی لیتر در دقیقه به حمام وارد شد. برای جلوگیری از تجمع کربس در حمام حاوی بافت، مایع حاوی بافت با سرعت ۴ میلی لیتر در دقیقه به خارج تخلیه شد. به مدت ۳۰ دقیقه به بافت اجازه داده شد که به شرایط عادت کند. بعد از قرار دادن بافت به طور افقی در محفظه، دو طرف بافت به طور محکم به دو کاتر بسته شد. ثبت انقباضات خودبه خودی روده به صورت تغییرات فشار روده تحت شرایط ایزوولومتریکی با استفاده از ترانسدوسر فشار مدل (MLT844 physiological pressure transducer AD Instruments transducer series) متصل شده به بخش آنالی بافت انجام شد. بعد از ۳۰ دقیقه تثبیت بافت، انقباضات روده در گروه های کنترل، تجربی اول و دوم ارزیابی شد. انقباضات ایجاد شده به وسیله ترانسدوسر فشار به علامت الکتریکی تبدیل و سپس با دستگاه Bridge Amplifire تقویت و فیلتر شد. سیگنال های به دست آمده از طریق دستگاه مبدل انالوگ به دیجیتال (Power lab, AdInstrument, Australia) به کامپیوتر منتقل گردید. داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-18 و آزمون های ANOVA و t در سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها

بعد از سه مرحله استرس، میانگین و انحراف معیار وزن مدفوع ناشی از فعالیت حرکتی روده در شرایط درون تنی در گروه های کنترل، تجربی اول و دوم به ترتیب ۱/۳۶±۰/۷۱، ۱/۰۶±۰/۶۴ و

ترکیبات نعناع گزارش شده است (۸و۷). نعناع به عنوان مسکن، درمان کننده ناراحتی های گوارشی، گرفتگی عضله و التهاب در طب سنتی مورد استفاده قرار می گیرد (۹). عصاره نعناع از طریق کاهش اسپاسم عضلات صاف دستگاه گوارش در کاهش درد در ناحیه شکم و درمان سندرم روده تحریک پذیر مؤثر است (۱۰). علی رغم اهمیت چنین اثراتی گزارش های موجود در مورد اثرات نعناع بر عملکرد دستگاه گوارش به ویژه حرکات گوارشی در معده و روده در شرایط استرس محدود و نیازمند بررسی های تکمیلی است. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره هیدروالکلی نعناع بر پاسخ های حرکتی کولون به دنبال مواجهه با استرس بی حرکتی در موش کوچک آزمایشگاهی انجام شد

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۰ موش نر کوچک آزمایشگاهی از نژاد آلبینو با وزن تقریبی ۲۵-۳۰ گرم و سن ۳-۴ هفته ای خریداری شده از انستیتو پاستور ایران در گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی گلستان انجام شد.

اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی طبق مقررات دانشگاه علوم پزشکی گلستان رعایت گردید.

برای نگهداری موش ها از قفسه های مخصوص و استاندارد استفاده شد. به طوری که درجه حرارت نگهداری ۲۴±۲ درجه سانتی گراد و محیط روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته بود. حیوانات به آب و غذای کافی (پارس دام) دسترسی آزادانه داشتند.

عصاره تام هیدروالکلی گیاه نعناع (از تیره *Mentha piperita*) از شرکت دارویی بارباج اسانس کاشان خریداری و برای رقیق نمودن آن از نرمال سالین استفاده گردید. با توجه به مطالعات قبلی (۱۲و۱۱) مناسب ترین دوز و مناسب ترین دوره زمانی برای سنجش پاسخ های حرکتی استفاده شد.

بعد از آزمایش های اولیه (pilot) غلظت ۲۷ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی گیاه نعناع به صورت داخل صفاقی به عنوان غلظت مؤثر انتخاب شد. موش ها به مدت ۳ روز و در هر بار ۴ ساعت در وضعیت استرس بی حرکتی از طریق محفظه پلاستیکی (در دستگاه restrainer) قرار گرفتند. این محفظه در ابعاد ۱۵ × ۱۵ سانتی متر توسط محققین ساخته شد. مدت زمان مصرف عصاره نعناع سه روز و در هر روز دو بار قبل از استرس و بعد از استرس بود. موش ها در سه گروه ده تایی به شرح زیر تقسیم شدند.

گروه کنترل: مقدار ۰/۲ میلی لیتر محلول نرمال سالین به ازای هر گرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تزریق گردید.

گروه تجربی اول: تحت استرس بی حرکتی قرار گرفتند و مقدار ۰/۲ میلی لیتر محلول نرمال سالین به ازای هر گرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تزریق گردید.

گروه تجربی دوم: علاوه بر قرارگیری تحت استرس بی حرکتی،

تغییرات فشار داخل روده به دنبال استرس بی‌حرکتی در نمودار ۳ نشان داده شده است. میانگین و انحراف معیار فشار داخل روده در گروه‌های کنترل، تجربی اول و تجربی دوم به ترتیب $4/47 \pm 1/15$ ، $3/48 \pm 1/25$ و $0/77 \pm 0/37$ میلی‌متر جیوه تعیین شد. اختلاف بین دو گروه کنترل و گروه تجربی اول از نظر آماری معنی‌دار نبود؛ ولی بین گروه تجربی دوم در مقایسه با گروه کنترل ($P < 0/001$) و نیز در مقایسه با گروه تجربی اول ($P < 0/001$) اختلاف آماری معنی‌دار بود.

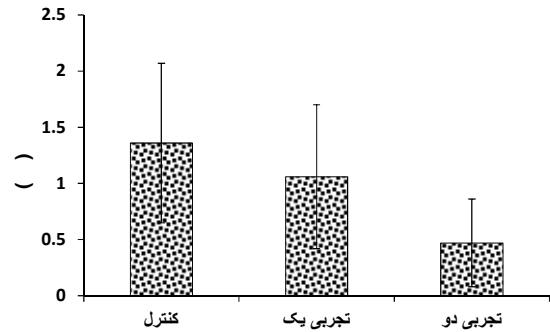
بحث

با توجه به نتایج این مطالعه کاهش معنی‌داری در پاسخ‌های حرکتی روده در شرایط درون‌تنی در گروه استرس + عصاره نعناع در مقایسه با گروه کنترل و گروه استرس به تنهایی مشاهده شد. بین گروه استرس + نعناع تفاوت معنی‌داری از نظر کاهش وزن مدفوع نسبت به گروه‌های دیگر مشاهده شد. هرچند وزن مدفوع در گروه استرس کاهش نسبی در مقایسه با گروه کنترل نشان داد؛ ولی تغییر آن از نظر آماری معنی‌دار نبود. نتایج آزمایش در شرایط بیرون‌تنی نیز اختلاف معنی‌داری را در فعالیت‌های حرکتی پرستالیتسم روده در گروه استرس بی‌حرکتی در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. با این وجود، تجویز عصاره نعناع همراه با استرس بی‌حرکتی سبب مهار معنی‌داری در فعالیت‌های حرکتی پرستالیتسم روده در مقایسه با گروه کنترل و گروه استرس بی‌حرکتی گردید.

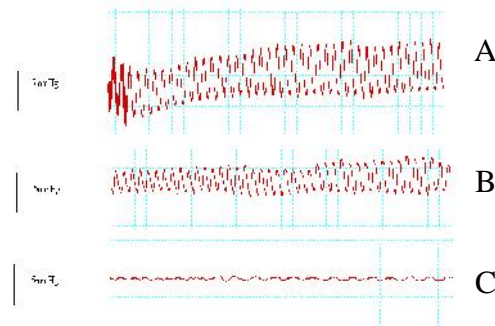
استرس‌ها سبب تغییرات بیوشیمیایی - فیزیولوژیکی و رفتاری مختلفی می‌شوند. در شرایط استرس، وضعیت پایداری سیستم‌های بدن می‌تواند تغییر کند (۱۳). یکی از سیستم‌هایی که تحت تاثیر استرس قرار می‌گیرد؛ سیستم گوارشی است. شواهدی مبنی بر اثر استرس بر تغییر عملکرد حرکتی دستگاه گوارش در دست است. با وجود این بسته به ماهیت استرس، نوع حیوان و قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش این اثرات متفاوت است (۱۷-۱۴). استفاده از گیاهان دارویی روز به روز افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد این پدیده ناشی از اثرات جانبی کمتر این داروها باشد. مطالعات متعدد نتایج امیدبخشی از این گیاهان در کاهش یا درمان بیماری‌های مختلف نشان داده است. از جمله این گیاهان، گیاه نعناع است که در طب سنتی جنبه‌های مختلفی از خواص درمانی برای آن از جمله اختلالات گوارشی ناشی از استرس گزارش شده است (۹ و ۱۰).

در مطالعه حاضر ایجاد کاهش نسبی در فعالیت‌های حرکتی پرستالیتسم روده در گروه استرس بی‌حرکتی نشان داد که استرس ممکن است سبب تغییراتی در فعالیت میوالکتریکی روده یا امواج آهسته آن شود. با این وجود الگوی پاسخ‌های حرکتی در گروه کنترل و گروه استرس بی‌حرکتی تفاوت معنی‌دار نشان نداد. این موضوع ممکن است نوعی پاسخ سازشی ناشی از تکرار استرس در این مطالعه باشد (۱۴). پاتوفیزیولوژی سوء هاضمه عملکردی لوله

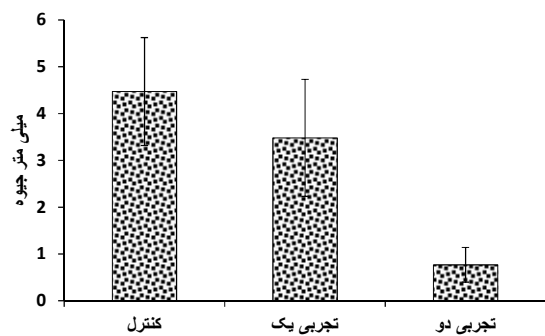
گرم تعیین شد. اگرچه اختلاف بین گروه‌های کنترل و تجربی اول از نظر آماری معنی‌دار نبود؛ ولی این اختلاف بین گروه تجربی دوم در مقایسه با گروه کنترل ($P < 0/004$) و نیز در مقایسه با گروه تجربی اول ($P < 0/019$) از نظر آماری معنی‌دار بود (نمودار یک).



نمودار ۱: مقایسه میانگین مدفوع در گروه‌های کنترل، تجربی یک (استرس) و تجربی دو (استرس + نعناع)



نمودار ۲: مقایسه ثبت انقباضات روده در گروه کنترل (A)، استرس (B) و استرس + عصاره نعناع (C)



نمودار ۳: مقایسه میانگین پاسخ‌های حرکتی در در گروه‌های کنترل، تجربی یک (استرس) و تجربی دو (استرس + نعناع)

پاسخ حرکتی به صورت امواج فشاری در شرایط بیرون‌تنی در نمودار ۲ آمده است. در گروه تجربی دوم فرکانس و دامنه فعالیت‌های حرکتی در مقایسه با گروه‌های کنترل و تجربی اول به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش نشان داد.

عضلات صاف رحم (۲۵) و اثر ضد اسپاسم *Mentha pulegium* (از تیره نعناع) بر تراشه و مثانه گزارش شده است (۲۶). نتایج برخی از مطالعات دیگر نیز نشان داده عصاره *Mentha piperita* (از تیره نعناع) حاوی منتول در درمان بیماری‌های گوارشی از قبیل اسپاسم کولون (۲۰)، اسپاسم و درد ناشی از آندوسکوپ (۲۷) و سندرم روده تحریک‌پذیر (۲۸) مؤثر است.

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به مشخص نبودن شماره علمی گیاه و عدم بررسی ترکیبات نعناع به‌طور مجزا نام برد.

اگرچه یافته‌های این مطالعه شواهدی برای نقش تعدیلی عصاره نعناع در پاسخ‌های حرکتی روده در شرایط استرس فراهم می‌کند؛ اما اینکه دقیقاً چه مکانیسم‌هایی این اثرات را واسطه‌گری می‌کند؛ نیاز به بررسی بیشتری دارد. البته برای تعیین مکانیسم اثر عصاره، جدا کردن اجزای ترکیبات گیاه و بررسی جداگانه آنها بر روی رستپورها و دیگر عوامل حرکتی روده لازم است. همچنین تحقیقات بیشتر برای تعیین اثر احتمالی عصاره هیدروالکلی نعناع در پاتوفیزیولوژی بیماری‌های گوارشی پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره نعناع سبب کاهش پاسخ حرکتی کولون بعد از استرس مزمن در شرایط درون‌تنی و برون‌تنی می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۳۲۱۱) معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان بود. بدین وسیله به‌خاطر حمایت مالی از آن معاونت محترم سپاسگزاری می‌گردد.

References

- Carrasco GA, Van de Kar LD. Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol.* 2003 Feb; 463(1-3): 235-72.
- Shimizu N, Oomura Y, Kai Y. Stress-induced anorexia in rats mediated by serotonergic mechanisms in the hypothalamus. *Physiol Behav.* 1989 Nov; 46(5): 835-41.
- Mamalaki E, Kvetnansky R, Brady LS, Gold PW, Herkenham M. Repeated immobilization stress alters tyrosine hydroxylase, corticotropin-releasing hormone and corticosteroid receptor messenger ribonucleic Acid levels in rat brain. *J Neuroendocrinol.* 1992 Dec; 4(6): 689-99. doi: 10.1111/j.1365-2826.1992.tb00220.x
- Wang J, Charboneau R, Barke RA, Loh HH, Roy S. Mu-opioid receptor mediates chronic restraint stress-induced lymphocyte apoptosis. *J Immunol.* 2002 Oct; 169(7): 3630-6.
- WHO Traditional Medicine Strategy 2002-2005. World Health Organization: Geneva, Switzerland. 2002.
- Zeinali H, Arzani A, Razmjoo K, Rezaee MB. Evaluation of oil compositions of Iranian Mints (*Mentha* spp.). *J Essent Oil Res.* 2005; 17(2): 156-9. <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2005.9698863>
- Parlatan A, Sariçoban C, Ozcan MM. Chemical composition and antimicrobial activity of the extracts of Kefe cumin (*Laser trilobum* L.) fruits from different regions. *Int J Food Sci Nutr.* 2009 Nov;

گوارش و سندرم روده تحریک‌پذیر در انسان با استرس مرتبط است. باوجود این پاسخ‌های حرکتی به استرس بین معده و روده متفاوت است و نقش واقعی استرس در این رابطه با توجه به الگوهای مختلف استرس دقیقاً روشن نیست (۱۷-۱۹). مطالعه حاضر نشان داد عصاره نعناع می‌تواند پاسخ‌های حرکتی کولون را در زمان اعمال استرس مزمن در شرایط درون‌تنی و برون‌تنی مهار کند. این موضوع در شرایط درون‌تنی به صورت کاهش دفع مدفوع و در شرایط برون‌تنی به صورت کاهش قدرت انقباضات خودبه‌خودی روده صورت می‌گیرد.

مکانیسم احتمالی اثر مهارکنندگی عصاره نعناع ممکن است به دلیل وجود منتول در آن باشد که بخش عمده ترکیب آن را تشکیل می‌دهد و نقش اصلی شل‌کنندگی عضلات صاف را در بافت‌های مختلف به‌عهده دارد (۲۰ و ۲۱). از آنجا که افزایش غلظت کلسم داخل سلولی، عامل اصلی قدرت انقباضی در عضله صاف است (۲۰ و ۲۲)؛ می‌توان احتمال داد که در مطالعه حاضر عصاره نعناع جریان کلسم را از طریق کانال‌های کلسمی موجود در عضلات صاف کاهش داده و سبب کاهش پاسخ‌های حرکتی در روده شده است.

همچنین گزارش شده اثر آنتی‌اسپاسمودیک عصاره نعناع روی عضلات صاف مجاری تنفسی و آئورت از طریق تولید پروستاگلاندین‌ها و نیتریک‌اکسید صورت می‌گیرد (۲۳ و ۲۴). با وجود این در مطالعات دیگر (۲۲) در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی نشان داده شده عصاره نعناع از طریق باز شدن کانال‌های پتاسیمی در اتساع مجاری هوایی و هایپریپلاریزاسیون عضلات صاف مجاری هوایی نقش دارند. همچنین اثر آنتی‌اسپاسمودیک عصاره نعناع روی

60(7): 606-17. doi: 10.3109/09637480801993938

8. Murakami S, Matsuura M, Satou T, Hayashi S, Koike K. Effects of the essential oil from leaves of *Alpinia zerumbet* on behavioral alterations in mice. *Nat Prod Commun.* 2009 Jan; 4(1): 129-32.

9. Kline RM, Kline JJ, Di Palma J, Barbero GJ. Enteric-coated, pH-dependent peppermint oil capsules for the treatment of irritable bowel syndrome in children. *J Pediatr.* 2001 Jan; 138(1): 125-8.

10. Liu JH, Chen GH, Yeh HZ, Huang CK, Poon SK. Enteric-coated peppermint-oil capsules in the treatment of irritable bowel syndrome: a prospective, randomized trial. *J Gastroenterol.* 1997 Dec; 32(6): 765-8.

11. Marjani A, Rahmati R, Mansourian AR, Veghary G. Effect of peppermint oil on serum lipid peroxidation and hepatic enzymes after immobility stress in mice. *Open Biochem J.* 2012; 6:51-5. doi: 10.2174/1874091X01206010051

12. Rahmati R, Semnani S, Sepehry H, Veghari Gh, Hoseiny SM, Haji Mashadi Z, et al. [Effect of peppermint extract on food intake and body weight following immobilization stress in mice]. *Koomesh.* 2013; 14(3): 367-72. [Article in Persian]

13. Kyrou I, Tsigos C. Stress hormones: physiological stress and regulation of metabolism. *Curr Opin Pharmacol.* 2009 Dec; 9(6): 787-93. doi: 10.1016/j.coph.2009.08.007

14. Masere C, Nakade Y, Zheng J, Babygirija R, Ludwig K, Takahashi T. Chronic restraint stress has no more stimulatory effects on colonic motility in rats. *Neurosci Lett*. 2009 Apr; 453(3): 147-50. doi: 10.1016/j.neulet.2009.02.042
15. Babygirija R, Zheng J, Bülbül M, Cerjak D, Ludwig K, Takahashi T. Sustained delayed gastric emptying during repeated restraint stress in oxytocin knockout mice. *J Neuroendocrinol*. 2010 Nov; 22(11): 1181-6. doi: 10.1111/j.1365-2826.2010.02069.x
16. Nakade Y, Fukuda H, Iwa M, Tsukamoto K, Yanagi H, Yamamura T, et al. Restraint stress stimulates colonic motility via central corticotropin-releasing factor and peripheral 5-HT₃ receptors in conscious rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2007 Apr; 292(4): G1037-44.
17. Babygirija R, Bülbül M, Cerjak D, Ludwig K, Takahashi T. Sustained acceleration of colonic transit following chronic homotypic stress in oxytocin knockout mice. *Neurosci Lett*. 2011 May; 495(1): 77-81. doi: 10.1016/j.neulet.2011.03.045
18. Babygirija R, Zheng J, Ludwig K, Takahashi T. Central oxytocin is involved in restoring impaired gastric motility following chronic repeated stress in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010 Jan; 298(1): R157-65. doi: 10.1152/ajpregu.00328.2009
19. Nakade Y, Tsuchida D, Fukuda H, Iwa M, Pappas TN, Takahashi T. Restraint stress delays solid gastric emptying via a central CRF and peripheral sympathetic neuron in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2005 Feb; 288(2): R427-32.
20. Amato A, Liotta R, Mulè F. Effects of menthol on circular smooth muscle of human colon: analysis of the mechanism of action. *Eur J Pharmacol*. 2014 Oct; 740: 295-301. doi: 10.1016/j.ejphar.2014.07.018
21. Grigoleit HG, Grigoleit P. Pharmacology and preclinical pharmacokinetics of peppermint oil. *Phytomedicine*. 2005 Aug; 12(8): 612-6.
22. Ratz PH, Berg KM, Urban NH, Miner AS. Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calcium-sensitizing stimulus. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2005 Apr; 288(4): C769-83.
23. de Sousa AA, Soares PM, de Almeida AN, Maia AR, de Souza EP, Assreuy AM. Antispasmodic effect of *Mentha piperita* essential oil on tracheal smooth muscle of rats. *J Ethnopharmacol*. 2010 Jul; 130(2): 433-6. doi: 10.1016/j.jep.2010.05.012
24. Guedes DN, Silva DF, Barbosa-Filho JM, de Medeiros IA. Endothelium-dependent hypotensive and vasorelaxant effects of the essential oil from aerial parts of *Mentha x villosa* in rats. *Phytomedicine*. 2004 Sep; 11(6): 490-7.
25. Soares PM, Assreuy AM, Souza EP, Lima RF, Silva TO, Fontenele SR, et al. Inhibitory effects of the essential oil of *Mentha pulegium* on the isolated rat myometrium. *Planta Med*. 2005 Mar; 71(3): 214-8.
26. Soares PM, de Freitas Pires A, de Souza EP, Assreuy AM, Criddle DN. Relaxant effects of the essential oil of *Mentha pulegium* L. in rat isolated trachea and urinary bladder. *J Pharm Pharmacol*. 2012 Dec; 64(12): 1777-84. doi: 10.1111/j.2042-7158.2012.01558.x
27. Asao T, Mochiki E, Suzuki H, Nakamura J, Hirayama I, Morinaga N, et al. An easy method for the intraluminal administration of peppermint oil before colonoscopy and its effectiveness in reducing colonic spasm. *Gastrointest Endosc*. 2001 Feb; 53(2): 172-7.
28. Ford AC, Talley NJ, Spiegel BM, Foxx-Orenstein AE, Schiller L, Quigley EM, et al. Effect of fibre, antispasmodics, and peppermint oil in the treatment of irritable bowel syndrome: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2008; 337, a2313. doi: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.a2313>

Original Paper

Effect of *Peppermint* extract on colon motor activity following immobilization stress in mice

Rahmati R (Ph.D)*¹, Semnani S (M.D)², Veghari GhR (M.Sc)³
Hoseiny SM (Ph.D)⁴, Hesam E (B.Sc)⁵

¹Assistant Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ²Associate Professor, Golestan Research Center of Gastroenterology & Hepatology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ³Assistant Professor, Ischemic Disorders Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ⁴Associate Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ⁵Department of Physiology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

Abstract

Background and Objective: Hydroalcoholic extract of *Peppermint* is traditionally used for gastrointestinal disorders. This study was done to evaluate the effect of *Peppermint* extract on the mice colon motor activity following immobilization stress.

Methods: In this experimental study, 30 male Albino mice were randomly allocated into the three groups; including control, stress and stress + *Peppermint* oil groups (n=10). The second group as a stress group exposed to immobilization stress for four hours during three days. Third group as stress plus *Peppermint* oil group was exposed to stress in addition to administration of 27 mg/kg/bw *Peppermint* oil intraperitoneally prior to stress. After three days, intestinal and peristaltic activity was recorded using pressure transducer from in vitro segments of colon (4-5 cm in length. Also, fecal weight, food intake and body weight was measured for each mouse for in vivo condition.

Results: The mean±SD of fecal weight after three times stress immobilization was 1.36±0.71, 1.06±0.6 and 0.47±0.39 gr in control, stress and Stress + *Peppermint* oil groups, respectively (P<0.05). The mean±SD of internal luminal pressure after three times stress immobilization was 4.47±1.15, 3.48±1.25 and 0.77±0.37 mm/hg in control, Stress and stress + *Peppermint* oil groups, respectively (P<0.05).

Conclusion: *Peppermint* oil is a strong inhibitor for colon motor activity following immobilization stress.

Keywords: *Peppermint*, Immobilization stress, Colon motor activity, Mouse

* Corresponding Author: Rahmati R (Ph.D), E-mail: rahmati.r@gmail.com

Received 20 Sep 2015

Revised 24 Feb 2016

Accepted 24 Feb 2016