Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:39 +0430 on Monday August 23rd 2021

Original Article

Effect of hydroalcoholic extract of *Ferula szowitsiana* DC. on paw edema in rat

Saghravanian SJ, Fereidoni M*, Asadollahi A

Rayan Center for Neuroscience and Behavior, Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I. R. Iran.

Received June 14, 2015; Accepted January 30, 2016

Abstract:

Background: Due to the side effects of chemical medicines, nowadays the use of drugs of natural origin is concerned. In traditional medicine plants *of Ferula* family generally regarded as the inhibitor of pain and inflammation. In this study using the sub-plantar formalin injection the anti-inflammatory effect of the hydroalcoholic extract of *Ferula szowitsiana* DC., as one of the species of this family, is investigated on rat paw edema.

Materials and Methods: The hydroalcoholic extract of *Ferula szowitsiana* DC. was prepared and solved in Saline, Ethanol and Tween 80 (in a ratio of 8:1:1, respectively). Male Wistar rats (200-250 g) were assigned to: Control, Solvent (i.p), Solvent (i.t), Extract (50, 100, 200, 400 mg/kg, i.p), Naloxone (2 mg/kg, i.p), Naloxone-Extract (2 mg/kg, i.p and 400 mg/kg, i.p, respectively) and Extract (8 µg/10 µl, i.t) groups. For inducing inflammation Formalin 2.5% (0.05 ml) and for assessing the volume of edema plethysmometeric methods were used.

Results: The extract *of Ferula szowitsiana* DC. reduced inflammation in a dose dependent manner ($P<0.001$). The effects of central (i.t.) administration of the equivalent concentration of the effective dose of extract were similar to their systemic administration. Naloxone partially reduced the anti-inflammatory effect of extract ($P<0.05$).

Conclusion: The anti-inflammatory property of *Ferula szowitsiana* DC. extract is probably induced because of its effect on central nervous system (CNS) and part of this effect is mediated by opioid system.

Keywords: *Ferula szowitsiana* DC., Inflammation, Plethysmometer, Rat

*** Corresponding Author.**
Email: fereidoni@um.ac.ir
Tel: 0098 915 524 2015
Fax: 0098 513 876 2227

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2016; Vol. 20, No 2, Pages 125-132

Please cite this article as: Saghravanian SJ, Fereidoni M, Asadollahi A. Effect of hydroalcoholic extract of *Ferula szowitsiana* DC. on paw edema in rat. ***Feyz*** 2016; 20(2): 125-32.

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:39 +0430 on Monday August 23rd 2021

اثر عصاره هیدروالکلی گیاه کمای بیابانی (*Ferula szowitsiana* DC.) بر ادم التهابی پا در موش صحرایی

سید جواد ساغروانیان [۱]، مسعود فریدونی [۲*]، علی اسداللهی [۳]

خلاصه:

سابقه و هدف: امروزه با توجه به‌عوارض داروهای شیمیایی، داروهای با منشاء طبیعی مورد توجه بسیار است. گیاهان خانواده کما عموما در طب سنتی به‌عنوان مهار کننده درد و التهاب مطرح هستند. مطالعه حاضر اثر ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی گیاه کمای بیابانی (*Ferula szowitsiana* DC.) را به‌عنوان یکی از گونه‌های این خانواده بر ادم التهابی ناشی از تجویز کف پایی فرمالین مورد بررسی قرار داده است.

مواد و روش‌ها: عصاره هیدروالکلی گیاه کمای بیابانی در نرمال سالین، اتانول و توئین ۸۰ به نسبت ۱:۱:۸ حل شد. موش‌های صحرایی نر با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم در گروه‌های کنترل، حلال (i.p)، حلال (i.t)، دوزهای مختلف عصاره (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰mg/kg، i.p و ۸µg/۱۰µl، i.t)، نالوکسان (۲ mg/kg، i.p) و نالوکسان (۲ mg/kg، i.p)-عصاره (۴۰۰mg/kg، i.p) قرار گرفتند. به‌منظور ایجاد التهاب از ۰/۰۵ سی‌سی فرمالین ۲/۵ درصد و برای سنجش میزان التهاب از روش پلتیسموتری استفاده شد.

نتایج: عصاره گیاه کمای بیابانی به‌صورت وابسته به دوز باعث کاهش التهاب گردید ($P<۰/۰۰۱$). از تجویز نخاعی غلظت معادل مؤثرترین دوز در تجویز مرکزی استفاده شد که نتایج مشابه تجویز سیستمیک آن بود. اگرچه نالوکسان باعث کاهش اثر ضدالتهابی عصاره شد ($P<۰/۰۱$)، اما به‌طور کامل آن را از بین نبرد ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: اثر ضدالتهابی عصاره گیاه کمای بیابانی احتمالاً به‌واسطه تأثیر بر سیستم اعصاب مرکزی است و بخشی از این اثر به‌دلیل تأثیر بر سیستم اپیوئیدی می‌باشد.

واژگان کلیدی: کمای بیابانی، التهاب، پلتیسموتری، موش صحرایی

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیستم، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۵، صفحات ۱۳۲-۱۲۵

مقدمه

تحقیقات نشان داده است که نورون‌های شاخ پشتی نخاع می‌توانند با رهایش میانجی‌های عصبی و مواد بیواکتیو اثراتی را به‌صورت وابران بر محیط بگذارند که برخی از این اثرات می‌تواند منجر به ایجاد التهاب شود. التهاب را به‌واسطه ویژگی‌هایی نظیر قرمزی، گرم شدن (تأثیر ثانویه گشاد شدگی عروق)، ورم (تأثیر ثانویه خروج پلاسما به مایع میان بافتی) و زیاد شدن تحریک پذیری مشخص می‌کنند. خروج مواد از انتهای نورون‌های حسی اولیه این پدیده را موجب می‌شود. از جمله موادی که از انتهای اعصاب حسی اولیه در محیط آزاد می‌شود، ماده P و CGRP می‌باشد. این مواد با تأثیر بر سلول‌های اندوتلیال، ماست‌سل‌ها و سلول‌های ایمنی باعث ایجاد التهاب نوروژنیک می‌شوند [۱]. در طی التهاب، آسیب بافتی ایجاد شده باعث آزادسازی برادی‌کینین و پروستا-گلاندین می‌شود. این مواد می‌توانند منجر به فعال شدن گیرنده‌های درد شوند. هم‌چنین، با تأثیر بر سلول‌های دیگر باعث فعال شدن عواملی مثل CGRP و NF-κB در سایر سلول‌ها شده که آن‌ها به‌نوبه‌خود، آزادسازی بیشتر عوامل التهابی، مثل سیتوکین‌های پیش‌التهابی و پروستاگلاندین‌ها را به‌دنبال دارند. از طرفی تأثیر همین عوامل التهابی بر پایانه‌های اعصاب محیطی درد، باعث آزادسازی CGRP و ماده P شده که به‌ترتیب گشاد شدن رگ و افزایش نفوذپذیری پلاسما به مایع میان بافتی و ادم را به‌دنبال دارند [۲]. امروزه اگرچه داروهای شیمیایی متنوعی برای درمان التهاب وجود دارد، اما باتوجه به اثرات جانبی آن‌ها یافتن داروهای جدید و خصوصا با منشاء طبیعی و گیاهی ضروری به‌نظر می‌رسد. گیاه کمای بیابانی (*Ferula szowitsiana* DC.)، بومی ایران و آسیای مرکزی است و در طب سنتی به‌عنوان تسکین دهنده درد و کاهش‌دهنده التهاب از آن یاد شده است و به‌طور عمده در کاهش درد و نفخ معده مورد استفاده قرار می‌گیرد. علاوه‌براین، گیاه کمای بیابانی در بین مردم محلی به‌عنوان یک ماده ضد کرم روده نیز

[۱] کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و رفتار رایان، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

[۲] دانشیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و رفتار رایان، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

[۳] استادیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و رفتار رایان، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

* **نشانی نویسنده مسئول:**
مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تلفن: ۰۹۱۵۵۲۴۲۰۱۵ **دورنویس:** ۰۵۱ ۳۸۷۶۲۲۲۷

پست الکترونیک: fereidoni@um.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۲۴ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۴/۱۱/۱۰

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:39 +0430 on Monday August 23rd 2021

شناخته می‌شود [۳]. این گیاه حاوی ترکیبات مختلفی از جمله آلفا-پینن، بتا-پینن، لیمونن، کاریوفیلین می‌باشد [۵،۴]. در مطالعات مختلف اثرات ضدالتهابی این مواد به‌طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفته است. α pinene، یکی از موادی است که اثر ضد-التهابی آن از طریق مهار مسیرهای MAPK و NF-kappaB مشاهده شده است [۶]. β pinene بر سر نشستن بر روی گیرنده-های اپیوئیدی با مورفین رقابت می‌کند و سریع‌تر از مورفین بر روی این گیرنده‌ها نشسته و بدین‌گونه منجر به کاهش درد و هم-چنین التهاب می‌گردد [۷]. Limonen نیز به‌عنوان ترکیب دیگر حاضر در گیاه التهاب ایجاد شده توسط اسید استیک را کاهش می‌دهد [۸]. باتوجه به موارد مذکور به‌نظر می‌رسد که عصاره هیدروالکلی گیاه کمای بیابانی بتواند اثرات ضد التهابی از خود بروز دهد. لذا، در این تحقیق اثر ضدالتهابی این گیاه و اثر آن بر سیستم اپیوئیدی مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق تعداد ۷۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات، در حیوان‌خانه گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد، تحت چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد در قفس‌های Plexy glass با دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. حیوانات، تنها برای انجام آزمایش از قفس خارج شده و سپس دوباره به محل خود برگردانده می‌شدند. کلیه تحقیقات و عملیات آزمایشگاهی روی جانوران، با رعایت مقررات بین‌المللی اخلاق علمی و حمایت از حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت [۹]. حیوانات مورد استفاده به‌طور تصادفی در ۱۰ گروه هفت‌تایی قرار گرفتند. گروه‌بندی حیوانات به‌شرح ذیل بود: کنترل (حیوانات تحت هیچ‌گونه تیماری قرار نگرفتند)؛ حلال (تجویز داخل صفاقی، i.p.)؛ حلال (تجویز نخاعی، i.t.)؛ ۵۰mg/kg عصاره (i.p.)؛ ۱۰۰mg/kg عصاره (i.p.)؛ ۲۰۰mg/kg عصاره (i.p.)؛ ۴۰۰mg/kg عصاره (i.p.)؛ غلظت ۸ µg/۱۰µl عصاره (i.t.)؛ ۲g/kg نالوکسان (i.p.)؛ و ۴۰۰mg/kg عصاره ۲ mg/kg نالوکسان (i.p.). به‌منظور بررسی میزان التهاب پا، در ابتدا حجم پای حیوانات در گروه‌های مختلف توسط آزمون پلتیسمومتری مورد سنجش قرار گرفت و ۶۰ دقیقه پس از تزریق زیرجلدی فرمالین به کف پای حیوان حجم ثانویه پا سنجش شد [۱۰]. در گروه‌های دریافت کننده داخل صفاقی، ۳۰ دقیقه پس از دریافت ماده مورد نظر (حلال یا عصاره گیاه) فرمالین به کف پای حیوانات تزریق شد. در گروه‌های دریافت کننده نخاعی، ۵ دقیقه پس از تجویز ماده مورد نظر (حلال یا عصاره گیاه) تزریق فرمالین صورت گرفت. در گروه دریافت کننده نالوکسان، ۱۰ دقیقه پس از تجویز نالوکسان حیوانات مورد آزمون قرار گرفتند و در گروه نالوکسان-عصاره حیوانات ۲۰ دقیقه پس از دریافت عصاره نالوکسان را دریافت کرده و ۱۰ دقیقه بعد مورد آزمون قرار گرفتند [۱۱].

روش تهیه عصاره

گیاه کمای بیابانی (*Ferula szowitsiana* DC.) در دوره گل‌دهی (اردیبهشت ماه) از جاده سرخس (ارتفاع ۹۷۳ متر، طول جغرافیایی "۱۷'۱۴°۳۶ و عرض جغرافیایی "۲۵'۴۰°۵۹) استان خراسان رضوی جمع‌آوری گردید و توسط متخصص هرباریوم پژوهشکده گیاه شناسی دانشگاه فردوسی مشهد با کد (Voucher number) ۳۷۸۳۷ شناسایی شد. ساقه و برگ گیاه در محیط خشک و در سایه خشک گردید و سپس به‌وسیله دستگاه خردکن آسیاب شد. مقدار ۵۰ گرم گیاه خرد شده توسط ترازو وزن گردید و داخل بشر ریخته شد. به‌مقداری‌که سطح گیاه پوشانده شود، اتانول ۷۰ درصد به آن اضافه شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در تاریکی برای حل شدن ترکیبات گیاه به آن فرصت داده شد. محلول به‌دست آمده پس از ۲۴ ساعت توسط کاغذ صافی صاف گردید و این عمل برای اطمینان از صاف شدن و شفاف شدن محلول چند مرتبه تکرار شد. عصاره تهیه شده در بشر ریخته شده و زیر هود در محل تاریک قرار داده شد تا به‌صورت یک محلول کاملا عسلی شکل در بیاید [۱۲]. عصاره پس از غلیظ شدن رطوبت سنجی شد (۸۷ درصد ماده خشک) و برای نگهداری و به‌منظور عدم تغییر میزان رطوبت سر بشر توسط درپوش پوشانیده شد. از اتانول، توئن۸۰ و نرمال سالین به نسبت ۸:۱:۱ به‌عنوان حلال عصاره برای تجویز به حیوانات استفاده شد [۱۳].

روش پلتیسمومتری

یکی از بهترین روش‌هایی که برای اندازه گیری التهاب استفاده می‌شود، تعیین میزان حجم ادم به‌روش پلتیسمومتری است. در نوعی از روش پلتیسمومتری یک استوانه شیشه‌ای درباز به قطر ۲ و ارتفاع ۵ سانتی‌متر مورد استفاده قرار می‌گیرد. این استوانه روی یک پتری دیش به قطر ۱۰ سانتی‌متر قرار گرفته و ۴ سانتی‌متر از آن توسط مایع (جیوه) پر می‌شود. مجموعه ستون و پتری دیش روی یک ترازوی دیجیتالی با حساسیت مناسب (برای جیوه با دقت ۰/۱ گرم) قرار داده می‌شود. پای حیوان در منطقه قوزک علامت گذاری

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:39 +0430 on Monday August 23rd 2021

می‌گردد. سپس، پای حیوان تا منطقه علامت گذاری شده وارد مایع می‌شود. باید توجه داشت که پا کاملا غوطه‌ور شده باشد و با دیواره و کف ظرف برخورد نداشته باشد. اختلاف حجم مایع در ابتدای آزمایش و پس از ایجاد ادم به‌صورت زیر به‌دست می‌آید که نشان‌گر میزان التهاب ایجاد شده است: $V=W/\rho$.

V حجم پا، W وزن مایع و ρ وزن مخصوص مایع (برای جیوه برابر ۱۳/۶ gr/cm^3) می‌باشد. در نهایت Vt – V0 میزان التهاب را مشخص می‌کند (V0 حجم اولیه پا و Vt حجم نهایی پای است). این روش آسان، دارای هزینه پایین و بسیار در دسترس است [۱۰].

روش تجویز داخل نخاعی

حیوان با تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰mg/kg) و زایلوزین (۲۰mg/kg) بی‌هوش شد. سر حیوان در دستگاه استریوتاکس جهت انجام جراحی ثابت شده و یک برش کوچک به طول ۱ تا ۲ سانتی‌متر از بین گوش‌ها به طرف پایین ایجاد شده و عضلات گردنی کنار زده شد و به آرامی از روی تیغه اکسی‌پیتال جمجمه آزاد گردید. وسط غشای اطلس-اکسی‌پیتال سوراخ کوچکی ایجاد شد تا منجر به خروج مایع مغزی-نخاعی گردد که نشانه‌ای از دسترسی به فضای زیر عنکبوتیه است. یک لوله پلی‌اتیلن ۱۰ (OD = 0.61mm, ID= 0.28 mm) به‌طول ۱۱ سانتی‌متر آماده و ۸ سانتی‌متر آن به آرامی در فضای زیرعنکبوتیه به طرف قطعه کمری نخاع پیش برده شد. سه سانتی‌متر از لوله خارج از نخاع قرار گرفت که برای تزریق دارو استفاده شد. نقص حرکتی در هیچ‌یک از حیوانات بعد از کانول‌گذاری دیده نشد. یک هفته بعد از ریکاوری، دارو به‌صورت داخل نخاعی در حجم مورد نظر تزریق گردید [۱۴]. به‌منظور ایجاد التهاب از ۰/۰۵ میلی‌لیتر فرمالین ۲/۵ درصد به‌صورت تزریق زیرجلدی به کف پای حیوان استفاده شد [۱۵].

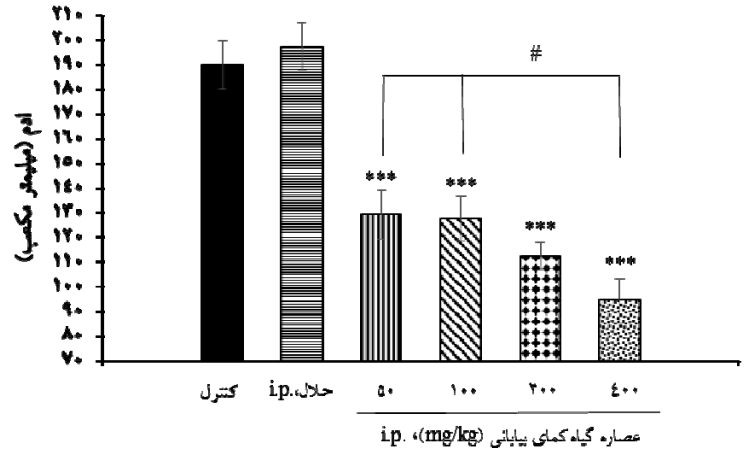
تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های به‌دست آمده به‌صورت mean ± SEM ارائه شدند و سپس توسط آزمون‌های آماری شامل تجزیه و تحلیل یک-طرفه ANOVA و پس‌آزمون Newman-keuls به‌منظور مقایسه میانگین‌ها با حداقل سطح معنی‌داری $P<0/05$، به‌کمک نرم‌افزار GraphPad prism 5 مورد ارزیابی قرار گرفتند.

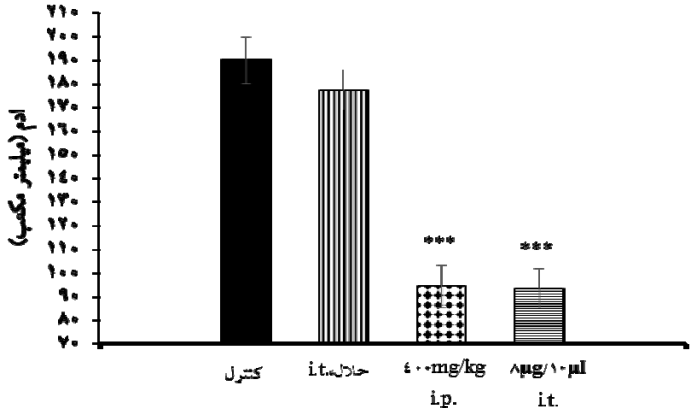
نتایج

بررسی نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که تفاوت معنی-داری بین گروه کنترل و حلال (i.p.) وجود ندارد که گویای عدم تأثیر حلال عصاره بر روند التهاب ناشی از تزریق کف پایی فرمالین است (نمودار شماره ۱). تجویز داخل صفاقی دوزهای مختلف عصاره شامل ۴۰۰mg/kg، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ کاهش معنی‌داری، در میزان حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد ($P<0/001$). هم‌چنین، دوز ۴۰۰mg/kg عصاره کاهش معنی‌داری را نسبت به دوزهای ۵۰mg/kg و ۱۰۰mg/kg نشان می‌دهد و لذا اثر ضدالتهابی قوی‌تری دارد $P<0/05$ (نمودار شماره ۱). به‌منظور بررسی مرکزی یا محیطی بودن اثر عصاره، بهترین دوز عصاره در تجویز داخل صفاقی (۴۰۰mg/kg)، معادل سازی شده (۸µg/۱۰µl) و در تجویز نخاعی به‌کار گرفته شد. مقایسه نتایج حاصل از تزریق کف پایی فرمالین در گروه کنترل، حلال (i.t.)، دوز ۴۰۰mg/kg عصاره (i.p.) و غلظت ۸ µg/۱۰µl عصاره (i.t.) تفاوت معنی‌داری را بین گروه کنترل و دریافت کننده حلال عصاره (i.t.) نشان نداد. بنابراین، روند جراحی، کانول گذاری و تجویز نخاعی حلال عصاره بر میزان حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین تأثیری نداشته است. دوز ۴۰۰mg/kg عصاره (i.p.) و غلظت ۸ µg/۱۰µl عصاره (i.t.) کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل در میزان حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین نشان دادند ($P<0/001$). گروه ۴۰۰mg/kg عصاره (i.p.) نسبت به گروه غلظت ۸µg/۱۰µl عصاره (i.t.) تفاوت معنی‌داری را در میزان کاهش حجم ادم التهابی پا نشان نداد (نمودار شماره ۲). به-منظور بررسی مکانیسم عمل عصاره و ارتباط آن با مسیرهای اپیوئیدی، مؤثرترین دوز عصاره (۴۰۰mg/kg) به همراه نالوکسان (آنتاگونیست گیرنده‌های اپیوئیدی) استفاده شد و نتایج به‌دست آمده با نتایج حاصل از ادم ایجاد شده به‌واسطه تزریق کف پایی فرمالین در دوز ۴۰۰mg/kg عصاره مقایسه گردید. مقایسه نتایج حاصل از تزریق کف پایی فرمالین در گروه کنترل، دوز ۲mg/kg نالوکسان (i.p.)، دوز ۴۰۰mg/kg عصاره به‌همراه دوز ۲mg/kg نالوکسان (i.p.) و دوز ۴۰۰mg/kg عصاره (i.p.) نشان داد که گروه کنترل و دریافت کننده دوز ۲mg/kg نالوکسان (i.p.)، نسبت به‌هم تفاوت معنی‌داری ندارند و در نتیجه تجویز نالوکسان به‌تنهایی بر میزان حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین تاثیری ندارد. کاهش حجم التهاب در گروه دریافت کننده دوز ۴۰۰mg/kg عصاره به‌همراه دوز ۲ mg/kg نالوکسان (i.p.) و گروه دریافت کننده دوز ۴۰۰mg/kg عصاره (i.p.) در مقایسه با گروه کنترل (به‌ترتیب $P<0/05$ و $P<0/001$) معنی‌دار بود. به-علاوه، اثر ضدالتهابی دوز ۴۰۰mg/kg عصاره به‌همراه دوز ۲ mg/kg نالوکسان (i.p.) نسبت به گروه ۴۰۰mg/kg عصاره (i.p.) به‌طور معنی‌داری کمتر بود ($P<0/01$، نمودار شماره ۳).

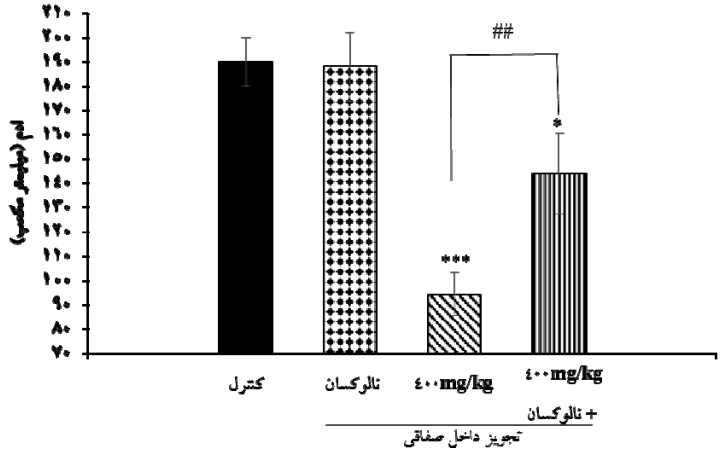
Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:39 +0430 on Monday August 23rd 2021



نمودار شماره ۱- مقایسه میزان حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین بین گروه‌های کنترل، حلال (i.p) و دوزهای مختلف عصاره (i.p). (*** $P<۰/۰۰۱$ نسبت به کنترل و # $P<۰/۰۵$ نسبت به دوز ۴۰۰ mg/kg). داده‌ها به‌صورت $\overline{X} \pm SD$ ارائه شده است و n=۷ می‌باشد.



نمودار شماره ۲- نتایج حاصل از تزریق کف پایی فرمالین بین گروه کنترل، حلال (i.t)، عصاره (۴۰۰mg/kg، i.p) و عصاره (۸µg/۱۰µl i.t). (*** $P<۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه کنترل). داده‌ها به‌صورت $\overline{X} \pm SD$ ارائه شده است و n=۷ می‌باشد.



نمودار شماره ۳- مقایسه نتایج حاصل از تزریق کف پایی فرمالین بین گروه‌های کنترل، نالوکسان (۲mg/kg، i.p)، عصاره (۴۰۰mg/kg، i.p) نالوکسان (۲mg/kg، i.p)-عصاره (۴۰۰mg/kg، i.p). (* $P<۰/۰۵$ و *** $P<۰/۰۰۱$ نسبت به گروه کنترل، ## $P<۰/۰۱$ نسبت به گروه عصاره ۴۰۰mg/kg) داده‌ها به‌صورت $\overline{X} \pm SD$ ارائه شده است و n=۷ می‌باشد.

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:39 +0430 on Monday August 23rd 2021

بحث

در مورد اثر ضدالتهابی عصاره گیاه باید گفت میزان التهاب به‌صورت وابسته به دوز کاهش پیدا کرده است. علاوه‌براین، تجویز مرکزی عصاره مشابه با تجویز سیستمیک آن باعث کاهش التهاب گردیده است و تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نمی‌شود. این نتایج نشان می‌دهد که اثر ضدالتهابی نیز احتمال دارد به‌واسطه تأثیر عصاره بر سیستم عصبی مرکزی باشد و شاید جلوگیری از آزادسازی عوامل التهابی از پایانه اعصاب منجر به بروز این مهم شده باشد [۲]. به‌دلیل اینکه عصاره گیاه کمای بیابانی حاوی ترکیباتی است که هریک می‌توانند التهاب را از طریق سیستم‌های مختلف از جمله سیستم اپیوئیدی، کانابینوئیدی، و آدنوزینی کاهش دهند [۱۶] به‌منظور بررسی مکانیسم اثر عصاره از نالوکسان به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های اپیوئیدی استفاده شد. هم‌چنین، احتمالا شاید بخش مهمی از اثرات ضدالتهابی عصاره نیز با تأثیر بر سیستم اپیوئیدی صورت گیرد و این کاهش التهابی که در زمان تجویز هم‌زمان عصاره و نالوکسان دیده می‌شود به‌واسطه تأثیر هم‌زمان عصاره بر سیستم‌های ضدالتهابی دیگر و تعامل این سیستم‌ها با سیستم اپیوئیدی است [۱۸،۱۷]. در طی التهاب آسیب بافتی ایجاد شده باعث آزادسازی برادی‌کینین و پروستاگلاندین می شود. این مواد می‌توانند باعث فعالیت گیرنده‌های درد شوند. هم‌چنین، با تأثیر بر سلول‌های دیگر باعث فعال شدن عواملی مثل CGRP و NF-κB در سایر سلول‌ها شده که آن‌ها به‌نوبه‌خود، آزادسازی بیشتر عوامل التهابی مثل سیتوکین‌ها (اینترلوکین و TNFα) و پروستاگلاندین‌ها را به‌دنبال دارند. از طرفی تأثیر همین عوامل التهابی بر پایانه‌های اعصاب محیطی درد باعث آزادسازی CGRP و SP شده که به‌ترتیب گشاد شدن رگ و افزایش نفوذپذیری پلاسما به مایع میان بافتی و ادم را به‌دنبال دارند [۲]. هم‌چنین، برادی‌کینین می‌تواند باعث Up Regulation گیرنده Toll-like receptor 4 (TLR4) محیطی و مرکزی شود. به‌دنبال افزایش تعداد این گیرنده NF-κB درون سلولی فعال‌تر شده و در نهایت افزایش و آزاد سازی بیش از پیش عوامل التهابی را در پی دارد [۱۹]. تاثیر مونوترپن‌های موجود در این گیاه بر سیستم اپیوئیدی و اثر ضدالتهابی آن‌ها که قبلا به اثبات رسیده است [۲۰،۷] و هم‌چنین تاثیر گونه‌های دیگر این جنس در فعال کردن سیستم اپیوئیدی [۲۱] این احتمال را تقویت می‌کند که عصاره گیاه منجر به فعالیت اپیوئیدها در مرکز می‌شود. اپیوئیدها از مسیرهای گوناگونی می‌توانند اثرات ضدالتهابی را ایجاد کنند. برای مثال این مواد می‌توانند با تأثیر بر پایانه‌های محیطی اعصاب آزاد کننده ماده P از آزاد شدن این ماده جلوگیری کنند که به‌دنبال این اتفاق هم میزان خروج پلاسما و ادم کاهش پیدا می‌کند و هم با تأثیر کمتر بر روی ماست‌سل‌ها تولید عوامل التهابی کمتر می‌شود [۲۲]. از طرفی اپیوئیدها می‌توانند مهار فعالیت NF-κB را به‌دنبال داشته باشند. به‌عنوان مثال تحقیقات نشان داده است که آنتاگونیست گیرنده‌های μ اپیوئیدی با فعال سازی این گیرنده‌ها منجر به راه اندازی آبشار سیگنالی درون سلول می‌شوند که در نهایت به بالا رفتن سطح NF-κB غیر فعال (IκB) ختم می‌گردد [۲۳]. هم‌چنین، فعالیت آگونیست‌های اپیوئیدی بر روی μ اپیوئیدها باعث Down Regulation، TLR4 و از این طریق اثر تحریکی TLR4 بر NF-κB برداشته می‌شود [۲۴]. ازآنجاکه پس از تجویز نالوکسان اثر ضدالتهابی عصاره گیاه کمای بیابانی به‌طور کامل از بین نرفته است، احتمالا سیستم‌های دیگری در اثر ضدالتهابی عصاره نیز درگیر شده است. یکی از احتمالاتی که وجود دارد این است که لیمونین یا مجموعه‌ای از ترکیبات موجود در عصاره که دارای اثرات آگونیستی بر گیرنده آدنوزین هستند با تأثیر بر گیرنده‌های A2a آدنوزینی باعث فعال شدن G پروتئین شده و سپس افزایش سطح cAMP داخل سلولی، آستروسیتی و سلول های میکروگلیا می‌شود و فعال شدن PKA را به‌دنبال دارد. این آنزیم به‌نوبه‌خود می‌تواند سبب فعال شدن CREB شود که خود این پروتئین منجر به مهار NF-κB می‌گردد. از طرف دیگر PKA می‌تواند باعث کاهش فعالیت مسیر سیگنالی MAPK شده و از این طریق اثرات ضدالتهابی را بروز دهد [۲۵]. فعال شدن گیرنده A2a آدنوزینی باعث مهار تولید فاکتور رشد عصبی می‌شود. این ماده خود باعث آزادسازی ماده P و CGRP می‌گردد که در نتیجه مهار آن تولید این مواد نیز کاهش می یابد [۲۶] و احتمالا لیمونین می‌تواند با فعال کردن گیرنده A2a آدنوزینی باعث مهار التهاب شود. از طرف دیگر، طی مطالعات صورت گرفته فعال شدن گیرنده مذکور سبب کاهش آزاد سازی سیتوکین‌های التهابی مثل TNFα، IL6، IL8 و IL12 می‌شود و افزایش در رهاسازی سیتوکین ضدالتهابی IL10 را به‌دنبال دارد [۲۷]. سیتوکین‌های التهابی به‌نوبه‌خود سبب تحریک ترشح CGRP و SP در نورون‌های شاخ پشتی نخاع می‌شوند. در نتیجه، مهار آنها می‌تواند منجر به کاهش میزان CGRP وSP و به‌دنبال آن کاهش التهاب گردد [۲۹،۲۸].

نتیجه‌گیری

اثر ضدالتهابی عصاره گیاه احتمالا به‌دلیل تأثیر بر سیستم اعصاب مرکزی می‌باشد و البته بخشی از این اثر احتمالا با تاثیر بر سیستم اپیوئیدی است و به‌دلیل مهار نشدن تمام اثر ضدالتهابی عصاره توسط نالوکسان بخشی دیگر از این اثرات از طریق سیستم‌های دیگر اعمال می‌شود که نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد بوده است که در دانشگاه فردوسی مشهد انجام پذیرفته است. بدین‌وسیله از آن سازمان قدردانی و تشکر به‌عمل می‌آید.

References:

[1] Richardson JD, Vasko MR. Cellular mechanisms of neurogenic inflammation. ***J Pharmacol Exp Ther*** 2002; 302(3): 839-45.

[2] Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siejelbaum SA, Hudspeth AJ. Principles of neural science. 5th ed. New York: McGraw-Hill Companies; 2013. p. 530-55.

[3] Sharififar F, Koohpayeh A, Motaghi MM, Amirkhosravi A, Puormohseni Nasab E, Khodashenas M. Study the ethnobotany of medicinal plants in Sirjan, Kerman province, Iran. ***J Herbal Drugs*** 2010; 1(3): 19-28.

[4] Dehghan G, Solaimanian R, Shahverdi AR, Amin G, Abdollahi M, Shafiee A. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of Ferula szovitsiana D.C. ***Flavour Frag J*** 2007; 22: 224-7.

[5] Habibi Z, Aghaie HR, Ghahremanzadeh R, Masoudi S, Rustaiyan A. Composition of the essential oils of Ferula szowitsiana DC., Artedia squamata L. and Rhabdosciadium petiolare Boiss. & Hausskn.ex Boiss. three umbelliferae herbs growing wild in Iran. ***J Essent Oil Res*** 2006; 18: 503-5.

[6] Kim DS, Lee HJ, Jeon YD, Han YH, Kee JY, Kim HJ, et al. Alpha-Pinene Exhibits Anti-Inflammatory Activity Through the Suppression of MAPKs and the NF-kappaB Pathway in Mouse Peritoneal Macrophages. ***Am J Chin Med*** 2015; 43(4): 731-42.

[7] Liapi C, Anifandis G, Chinou I, Kourounakis AP, Theodosopoulos S ,Galanopoulou P. Antinociceptive properties of 1,8-Cineole and beta-pinene, from the essential oil of Eucalyptus camaldulensis leaves, in rodents. ***Planta Med*** 2007; 73(12): 1247-54.

[8] Karlsten R, Gordh T, Post C. Local antinociceptive and hyperalgesic effects in the formalin test after peripheral administration of adenosine analogues in mice. ***Pharmacol Toxicol*** 1992; 70(6 Pt 1): 434-8.

[9] Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. ***Pain*** 1983; 16(2): 109-10.

[10] Fereidoni M, Ahmadiani A, Semnanian S, Javan M. An accurate and simple method for measurement of paw edema. ***J Pharmacol Toxicol Methods*** 2000; 43(1): 11-4.

[11] Ahmadiani A, Fereidoni M, Semnanian S, Kamalinejad M, Saremi S. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Sambucus ebulus rhizome extract in rats. ***J Ethnopharmacol*** 1998; 61(3): 229-35.

[12] Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Dehpour AA. Antioxidant activity of hydroalcholic extract of Ferula gummosa Boiss roots. ***Eur Rev Med Pharmacol Sci*** 2011; 15(6): 658-64.

[13] Urushidani T, Forte JG, Sachs G. Mechanisms and consequences of proton transport. Boston, Mass.; London: Kluwer Academic; 2002.

[14] Yaksh TL, Rudy TA. Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. ***Physiol Behav*** 1976; 17(6): 1031-6.

[15] Alizadeh Z, Fereidoni M, Behnam-Rassouli M, Hosseini S. Role of C-fibers in pain and morphine induced analgesia/hyperalgesia in rats. ***Iran J Neurol*** 2014; 13(1): 19-27.

[16] de Cassia da Silveira e Sa R, Andrade LN, de Sousa DP. A review on anti-inflammatory activity of monoterpenes. ***Molecules*** 2013; 18(1): 1227-54.

[17] Merighi S, Gessi S, Varani K, Fazzi D, Mirandola P, Borea PA. Cannabinoid CB(2) receptor attenuates morphine-induced inflammatory responses in activated microglial cells. ***Br J Pharmacol*** 2012; 166(8): 2371-85.

[18] Abo-Salem OM, Hayallah AM, Bilkei-Gorzo A, Filipek B, Zimmer A, Muller CE. Antinociceptive effects of novel A2B adenosine receptor antagonists. ***J Pharmacol Exp Ther*** 2004; 308(1): 358-66.

[19] Gutierrez-Venegas G, Arreguin-Cano JA, Hernandez-Bermudez C. Bradykinin promotes Toll like receptor-4 expression in human gingival fibroblasts. ***Int Immunopharmacol*** 2012; 14(4): 538-45.

[20] Hosseinzadeh H, Behravan E, Soleimani MM. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Pistacia vera leaf extract in mice. ***Iran J Pharm Res*** 2011; 10(4): 821-8.

[21] Kiasalari Z, Khalili M, Roghani M, Heidari H, Azizi Y. Antiepileptic and Antioxidant Effect of Hydroalcoholic Extract of Ferula Assa Foetida Gum on Pentylentetrazole- induced Kindling in Male Mice. ***Basic Clin Neurosci*** 2013; 4(4): 299-306.

[22] Damas J, Liegeois JF. The inflammatory reaction induced by formalin in the rat paw. ***Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*** 1999; 359(3): 220-7.

[23] Borner C, Hollt V, Kraus J. Mechanisms of the inhibition of nuclear factor-kB by morphine in neuronal cells. ***Mol Pharmacol*** 2012; 81(4): 587-97.

[24] Franchi S, Moretti S, Castelli M, Lattuada D, Scavullo C, Panerai AE, et al. Mu opioid receptor activation modulates Toll like receptor 4 in murine macrophages. ***Brain Behav Immun*** 2012; 26(3): 480-8.

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:39 +0430 on Monday August 23rd 2021

[25] Morello S, Sorrentino R, Pinto A. Adenosine A2a receptor agonists as regulators of inflammation: pharmacology and therapeutic opportunities. ***J Receptor Ligand Channel Res*** 2009; 2: 11-7.
[26] Kidd BL, Urban LA. Mechanisms of inflammatory pain. ***Br J Anaesth*** 2001; 87(1): 3-11.
[27] Fredholm BB, Cunha RA, Svenningsson P. Pharmacology of adenosine A2A receptors and therapeutic applications. ***Curr Top Med Chem*** 2003; 3(4): 413-26.
[28] Freidin M, Kessler JA. Cytokine regulation of substance P expression in sympathetic neurons. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 1991; 88(8): 3200-3.
[29] Hua XY, Chen P, Fox A, Myers RR. Involvement of cytokines in lipopolysaccharide-induced facilitation of CGRP release from capsaicin-sensitive nerves in the trachea: studies with interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha. ***J Neurosci*** 1996; 16(15): 4742-8.

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:39 +0430 on Monday August 23rd 2021