فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۳۶، جلد ۱۰، شماره ۱، زمستان ۹۵، صفحه ۵۳ تا ۶۴

اثرات سیلیمارین در مدل تجربی درد التهابی ناشی ازفرمالین و ارتباط آن با سیستم هیستامینرژیک

میترا قلی‌زاده نیک‌پی[۱]،**علی مجتهدین**[۲]، رضا سید شریفی[۳]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

۲- بخش فیزیولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.**a_mojtahedin@uma.ac.ir**

۳-گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۸

چکیده

زمینه و هدف: دردشایع ترینشکایتکلینیکیبیمارانبوده ویکیازقدیمی ترینمشکلاتبشریراتشکیلمی‌دهد. با توجه به اثرات درمانی گیاهان دارویی،در تجربه حاضر اثرات سیلیمارین،ماده مؤثره گیاه خار مریم،در مدل تجربی درد التهابی ناشی از فرمالینو ارتباط آن با سیستم هیستامینرژیک مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: در پژوهش حاضر از ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد. حیوانات در ۷ گروه ٦ تایی تقسیم شدند.گروه۱(شاهد):سالین نرمال + فرمالین ۱درصد کف پایی،گروه۲، ۳، ٤ و ٥:دریافت کنندهسیلیمارین(۲۰۰،۱۰۰،۵۰و۴۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم،داخل صفاقی) +فرمالین ۱درصد. گروه ٦: دریافت کننده رانیتیدین(۲۰ میلی گرم به کیلوگرم،داخل صفاقی)+ فرمالین ۱درصد. گروه ۷: دریافت کننده پیش تزریق رانیتیدین(۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم،داخل صفاقی) + سیلیمارین(۲۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم،داخل صفاقی) + فرمالین ۱درصد.

یافته ها: نتایج پژوهش حاضر نشان داد تزریق کف پایی فرمالین ۱درصد به طور معنی داری($P< ۰/۰۵$) موجب بروز یک پاسخ درد دو مرحله ای در حیوان گردید. تزریق سیلیمارین موجب کاهش معنی‌دار($P< ۰/۰۵$)پاسخ‌های درد فرمالینی در هر دو مرحلهشد. از طرفی پیش تزریق رانیتیدین به مقدار ۲۰ میلی گرم به کیلوگرم قبل از سیلیمارین(۲۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم) موجب کاهش معنی-دار($P< ۰/۰۵$) پاسخ‌های درد در هر دو مرحله اول و دوم گردید.

نتیجه گیری: نتایج مشخص نمود که سیلیمارین موجب بروز اثرات ضد دردی در درد ناشی از فرمالین شده واحتمالاً این اثرات از طریق تداخل با گیرنده‌های H_2هیستامینی انجام می‌گیرد.

واژه های کلیدی: درد التهابی، رانیتیدین، سیلیمارین،سیستم هیستامینرژیک.

مقدمه

درد،یک احساس آزار دهنده و بسیار نامطلوب است. آدمی همیشه در پی مبارزه با درد بوده است و دانش پزشکی از همان ابتدا سعی در تسکین آن داشته است. درد یکی از تضعیف کننده‌ترین ناراحتی‌هاست، ولی می-توان گام‌هایی در راه جلوگیری از بروز آن، کاهش و یا حتی تسکین کامل آن برداشت. درد فرآیندی پیچیده در مغز و سلسله اعصاب دارد. شناخت ساز و کار و رفتار درد ممکن است در جلوگیری از آن و یا کاهش آن مفید باشد(۸). درد و پردردی در نتیجه آسیب وارد شده به بافت و یا در اثر عفونت ایجاد می‌شود و باعث ظهور فرآیند التهاب می‌گردد(۲۰). بیشتر بیماری‌های بدن و نه همه‌ی آن‌ها موجب درد می‌شوند. درد یک مکانیسم حفاظتی است. هنگامی که هر بافتی دچار آسیب می‌شود درد به‌وجود می‌آید و موجب می‌شود که شخص از خود واکنش نشان داده و محرک مولد درد را از میان بردارد(۷). درد به دو نوع عمده تقسیم شده است: درد

www.SID.ir

حاد (سریع) و درد مزمن (آهسته). درد سریع در ظرف یک دهم ثانیه بعد از وارد آمدن یک محرک درد زا به وجود می‌آید در حالی‌که درد آهسته بعد از یک ثانیه یا بیشتر شروع می‌شود و سپس شدت آن به آهستگی در طی ثانیه‌ها و حتی دقیقه‌ها افزایش می‌یابد. دردسریع (حاد) پاسخ بیولوژیکی مستقیم به بیماری، التهاب یا صدمه بافت است و غالباً به دلیل شدت آن، با بی‌قراری و اضطراب همراه است و در عین حال یک سیستم هشداری مفید برای بدن نیز به شمار می‌رود(۲۰). درد مزمن می‌تواند شکل‌گیری فرآیندهای جسمی، روانی، روحی و اجتماعی را مختل کند. از عوامل مختلفی به منظور تسکین این نوع درد می‌توان استفاده نمود(۳۳). محرک‌های ایجاد کننده درد شامل انواع محرک‌های مکانیکی، حرارتی و شیمیایی هستند. محرک‌های حرارتی و مکانیکی درد حاد یا تند ایجادمی‌کنند، در حالی‌که درد مزمن یا کند به‌وسیله هر سه نوع محرک تولید می‌شود. مواد مختلفی به‌عنوان واسطه‌های شیمیایی درد در انسان‌ها مطرح شده‌اند: هیستامین، پتاسیم آزاد شده از سلول‌های آسیب دیده، برادی‌کینین، ماده P و سایر پپتیدهای مرتبط، محیط اسیدی(یعنی کاهش موضعی pH در اطراف پایانه‌های عصبی)، ATP، سروتونین و استیل کولین. زمانی‌که این مواد گیرنده‌های درد را تحریک می‌کنند انسان‌درد سوزشی را احساس می‌کند. بنابراین محتمل است که گیرنده‌های درد در واقع گیرنده‌های شیمیایی باشند که به تجمع مواد شیمیایی آزاردهنده که توسط محرک حرارتی یا مکانیکی در بافت اطراف آزاد می‌شوند، یا مواد شیمیایی اگزوژن که ممکن است به درون پوست نفوذ کرده و به پایانه‌های حسی آن‌ها متصل می‌شوند، حساس هستند. هیستامین ماده‌ی واسطه‌ای مهم در واکنش‌های فوری آلرژیک و التهابی است. هیستامین توسط انواع مختلف سلول‌های بدن شامل ماست‌سل‌ها، بازوفیل‌ها، پلاکت‌ها، سلول‌های شبه آنتروکرومافینی، سلول‌های آندوتلیال و نورون‌ها ساخته می‌شود و به‌عنوان یک پیامبر فیزیولوژیک در سراسر بدن عمل می‌کند. هیستامین محیطی فیبرهای عصبی منتقل‌کننده درد را تحریک می‌کند و موجب آزادشدن نوروپپتیدهای مربوط به درد می‌شود و در هنگام تزریق به پوست خارش و درد ایجاد می‌کند(۳۶). در حالی‌که هیستامین نورونی مغز در تنظیم مرکزی بسیاری از اعمال فیزیولوژیک بدن نقش دارد. گیرنده‌هایی که به‌طور انتخابی به محرک‌هایی که می‌توانند به بافت آسیب برسانند پاسخ می‌دهند، گیرنده‌های درد خوانده می‌شوند(۱۳). اخیراً آنتی‌هیستامین‌ها به‌عنوان عوامل کاهش دهنده درد مورد توجه قرار گرفته‌اند. اگرچه ویژگی‌های تسکین دهندگی درد آنتی‌هیستامین‌ها به‌خوبی تصدیق شده است، اما مکانیسم فعالیت و عملکرد داخل سلولی این ترکیبات کمتر شناخته شده است. هیستامین از مدت‌ها پیش به‌عنوان محرک قدرتمند ترشح اسید معده و به میزان کمتر به‌عنوان محرک تولید پپسین و فاکتور داخلی شناخته شده است. این اثرات هیستامین از فعال شدن گیرنده‌های H_2 سلول‌های جداری(پاریتیال) معده ناشی می‌شود و با افزایش فعالیت آدنیلیل سیکلاز، افزایش غلظت cAMP و افزایش غلظت یون کلسیم(ca^{++}) داخل سلولی همراه است. تزریق داخل جلدی هیستامین باعث ایجاد یک واکنش مشخص قرمزی، ادم و گرمی می‌شود(۶). هسیتامین دارای گیرنده‌های متنوعی شامل H_1، H_2، H_3 و H_4 می‌باشد. گیرنده‌های H_2 مشابه گیرنده‌های H_1، بیان گسترده‌ای در مغز دارند. این گیرنده‌ها به طور گسترده‌ای در عقده‌های قاعده‌ای و قسمت‌هایی از سیستم لیمبیک نظیر تشکیلات هیپوکامپی و آمیگدال یافت شده است. از آگونیست‌های گیرنده‌ی H_2 هیستامینی دیماپریت، آمفتامین یا ایمپرومیدین و از آنتاگونیست‌های گیرنده‌ی H_2 هیستامینی بوریمامید، سایمتیدین، رانیتیدین، تیوتیدین،

Archive of SID

www.SID.ir

فاموتیدین یا لوراتیدین را می‌توان نام برد. گیرنده‌های H_2 هیستامینی دارای فعالیت‌های فیزیولوژیک از قبیل ترشح معدی در بافت‌های محیطی، انتقال، شکل‌گیری و انعطاف‌پذیری سیناپسی در CNSمی‌باشد(۱۳). امروزه عمدتاً کنترل درد از طریق مصرف داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی و داروهای اوپیوئیدی صورت می‌گیرد. از عوارض ناخواسته این داروها می‌توان به ایجاد اختلالات دستگاه‌های گوارش، تنفس، ادراری و عصبی اشاره نمود. ضمناً مصرف مزمن برخی از این داروها وابستگی روانی ایجاد می‌کند(۴). با توجه به عوارض جانبی داروهای سنتتیک در طول درمان و شرایط دردناک بیماری و التهاب، در بسیاری از مطالعات هدف از بررسی عصاره‌های گیاهی و ترکیبات فعال آن‌ها ارزیابی فعالیت ضددردی و ضدالتهابی آن ها می‌باشد(۳۲،۲۳). در میان گیاهان، گیاه دارویی خار مریم مورد توجه پژوهشگران مختلف قرار گرفته‌است. این گیاه با نام علمی *Silybum marianum* به طور خودرو در کنار جاده‌های متروک اراضی بایر در مناطق مختلف ایران یافت می شود. این گیاه دارای ترکیبات متعدد از جمله سیلی‌مارین می باشد(۴۵). در پژوهش‌ها اثرات فارماکولوژیکی مختلفی برای سیلی‌مارین شناسایی شده است. این اثرات شامل خاصیت آنتی‌اکسیدانی، محافظت کبدی، ضد سرطانی، عامل محافظت نورونی در برابر بیماری‌های عصبی، ضد التهابی و فعالیت ایمنی می‌باشد(۴۰، ۳۹، ۲۶، ۲۱، ۱۲-۱۰). سیلی‌مارین به‌عنوان یک داروی گیاهی، در حیواناتی که در آن ها درد القا شده مورد استفاده واقع شده و اثرات ضد درد معنی‌داری از خود نشان داده و به عنوان یک داروی ضد درد با امتیازات هزینه پایین، دسترسی راحت، کیفیت مناسب توصیه شده است(۳۹). با عنایت به مطالب ذکر شده در مورد اثرات درمانی این ماده، با این وجود در تحقیقات محدود صورت گرفته در رابطه با سیلی‌مارین در زمینه درد به چگونگی اثر ضد دردی و مکانیسم عمل آن به‌ویژه مداخله سیستم‌های نوروترنسمیتری مرتبط با اثر ضد دردی آن پرداخت نشده است. لذا هدف ازتحقیق حاضر مطالعه اثرات سیلی‌مارین بر درد التهابی با استفاده از روش تجربی آزمون فرمالین با تاکید بر سیستم نوروترنسمیتری هیستامینرژیک در موش های صحرایی می‌باشد.

مواد و روش ها

حیوانات مورد استفاده: در این مطالعه که به‌صورت تجربی انجام گردید از تعداد ۴۲سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن بین۲۵۰-۲۲۰ گرم استفاده شد. حیوانات در گروه‌های۶ تایی در قفس‌های مخصوص پرورش موش صحرایی در آزمایشگاه با درجه حرارت ۲۳-۲۰ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعت نگهداری شدند. غذای پلتی استاندارد و آب به طور آزاد در اختیار حیوانات قرار داده شد.

داروهای مورد استفاده: سالین نرمال، محلول فرمالین ۳۷٪(مرک- آلمان)، سیلی‌مارین(شرکت سیگما-آلدریچ آلمان)، رانیتیدین(آنتاگونیست H_2 هیستامینی) تهیه شده از شرکت سیگما- آلدریچ آلمان. از سالین نرمال به عنوان حلال و رقیق کننده داروها استفاده شد.

گروه‌های آزمایشی

۱-گروه اول(گروه شاهد): دریافت کننده سالین نرمال به‌صورت داخل صفاقی و سپس تزریق کف‌پایی فرمالین ۱ درصد(۳۴، ۳۱-۲۹).

۲- گروه ۲، ۳، ۴ و ۵: دریافت کننده سیلی-مارین(۵۰،۱۰۰،۲۰۰ و۴۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت داخل صفاقی و سپس تزریق کف‌پایی فرمالین ۱درصد(۱۰، ۲-۱).

۳-گروه ۶: دریافت کننده رانیتیدین(آنتاگونیست H_2 هیستامینی) به مقدار ۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن

Archive of SID

www.SID.ir

به‌صورت داخل صفاقی و سپس تزریق کف‌پایی فرمالین ۱درصد(۴۴، ۳۱، ۱۵).

۴-گروه ۷: دریافت کننده پیش تزریق رانیتیدین(۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت داخل صفاقی و سپس سیلی‌مارین(۲۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت داخل صفاقی و سپس تزریق کف‌پایی فرمالین ۱درصد(۴۴،۳۱، ۱۵، ۲-۱).

نحوه ارزیابی درد التهابی: برای ایجاد درد التهابی در حیوانات از آزمون فرمالین استفاده شد. حیوانات سه روز متوالی و هر روز ۳۰ دقیقه در دستگاه آینه درد قرار داده شدند. این عمل به منظور سازگاری حیوانات با روش کار و کاهش عوامل استرس‌زا انجام شد. دستگاه آینه درد از یک محفظه‌ی شیشه‌ای در ابعاد ۲۵×۳۰×۳۰ سانتی متر و یک چهارچوب چوبی تشکیل شده است. در داخل چهارچوب یک آینه با زاویه ۴۵ درجه قرار داده شد به طوری که نحوه قرار گرفتن آینه باعث مشاهده رفتارهای حیوان متعاقب تزریق کف پایی فرمالین و یا سایر مواد دردزا از آینه گردید. در روز سوم پس از سازگاری، فرمالین ۱ درصد به حجم ۵۰ میکرولیتر توسط سرنگ با سر سوزن شماره ۲۹ به صورت زیر جلدی در کف پای راست حیوان تزریق شد و مدت زمان لیسیدن و گازگرفتن پنجه پای تزریق شده به‌عنوان پاسخ درد در فواصل زمانی ۵ دقیقه‌ای به مدت یک‌ساعت توسط کرونومتر بر حسب ثانیه محاسبه شد(۳۴، ۳۱-۲۹).

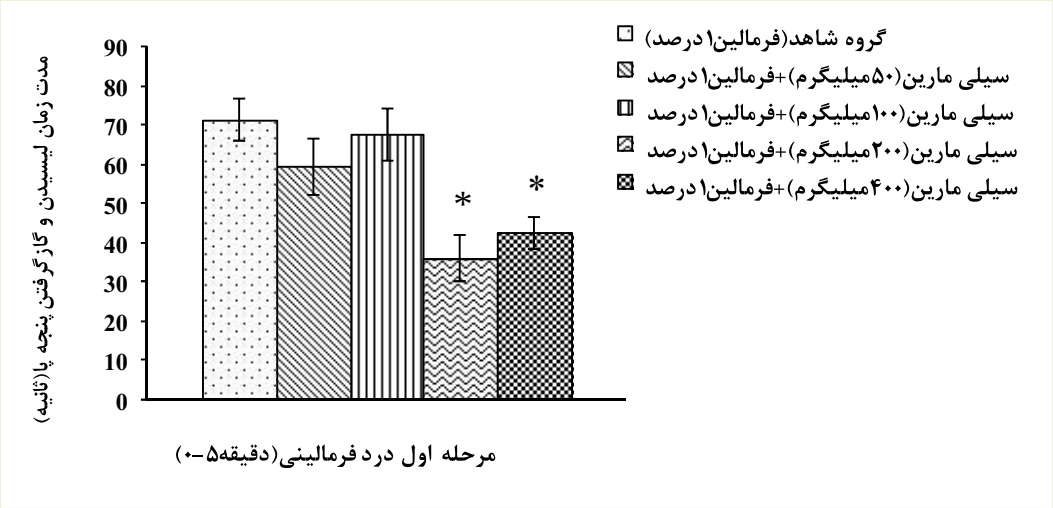
روش تجزیه و تحلیل آماری: داده های حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم افزار آماری SPSS. 19 و آنالیز واریانس یک طرفه(ANOVA) و سپس آزمون تعقیبی دانکن تجزیه و تحلیل شدند. نتایج به صورت میانگین و انحراف استاندارد(Mean±SEM) ودر سطح معنی داری P< ۰/۰۵ ارزیابی و در نظر گرفته شد.

نتایج

در مطالعه حاضر، تزریق کف‌پایی فرمالین ۱درصد موجب بروز یک پاسخ درد دو مرحله‌ای(مرحله اول ۵-۰ دقیقه و مرحله دوم ۴۰-۱۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین) در حیوانات گردید. به‌طوری‌که مدت زمان لیسیدن و گازگرفتن پنجه پای تزریق شده در حیوان در مرحله اول ۵/۲±۷۲/۵ و در مرحله دوم ۳/۱۲±۶۰/۰۶ ثبت گردید(نمودار۱). تزریق داخل صفاقی سیلی‌مارین در مقادیر ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و۴۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش پاسخ درد در هر دو مرحله اول و دوم درد فرمالینی گردید. به‌طوری‌که مقدار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی-گرم به کیلوگرم وزن بدن به‌طور معنی‌داری(P< ۰/۰۵) موجب سرکوب پاسخ‌های درد در هر دو مرحله اول و دوم نسبت به گروه شاهدشد(نمودار۱و۲). نتایج مشخص نمود تزریق داخل صفاقی رانیتیدین به مقدار ۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش معنی دار(P< ۰/۰۵) پاسخ درد فرمالینی در مرحله اول نسبت به گروه شاهدگردید. از طرفی پیش تزریق رانیتیدین به مقدار ۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن قبل از سیلی‌مارین به مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم موجب پاسخ‌های درد فرمالینی در هر دو مرحله اول و دوم گردید. به طوری که در مرحله دوم درد فرمالینی این کاهش پاسخ نسبت به گروه سیلی-مارین به تنهایی، اختلاف معنی دار(P< ۰/۰۵) نشان داد(نمودار۳و۴).

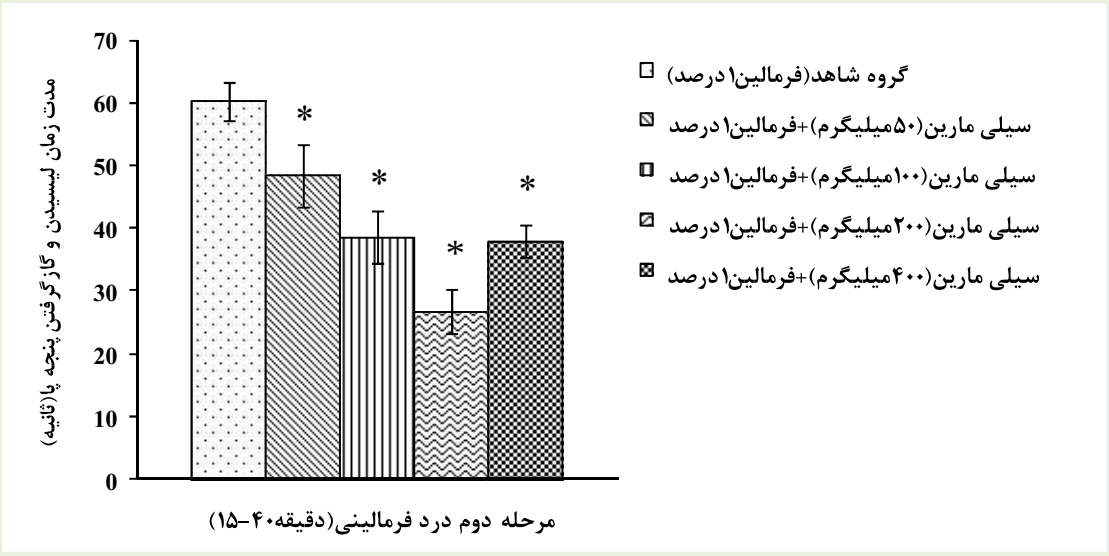
Archive of SID

www.SID.ir



نمودار۱-اثرات تزریق داخل صفاقی سیلی مارین بر پاسخ مرحله اول و دوم درد(مدت زمان لیسیدن و گازگرفتن پنجه پا) ناشی از تزریق کف پایی فرمالین ۱ درصد در موش های صحرایی

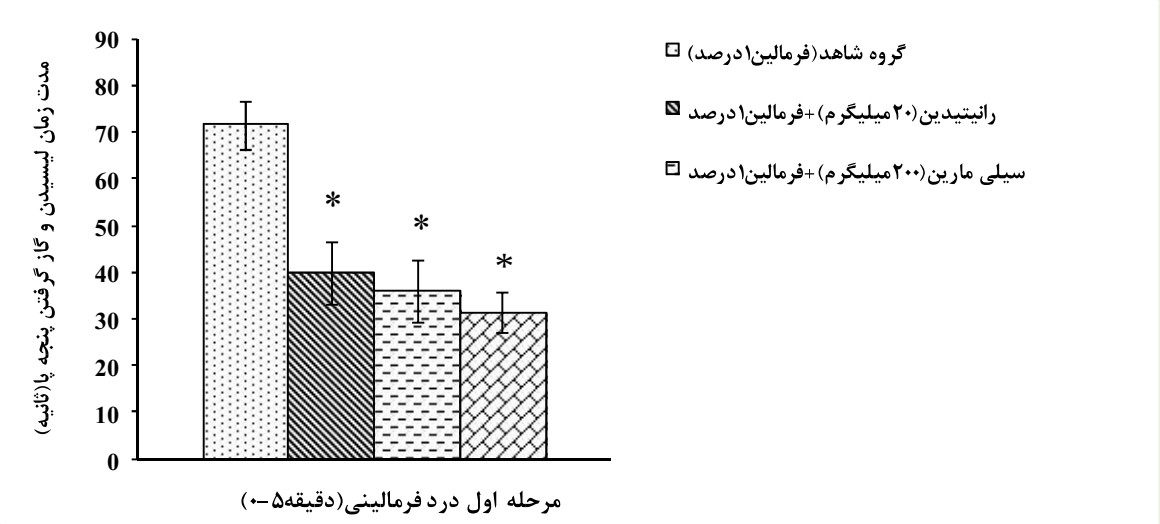
*)نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵)نسبت به گروه شاهد.



نمودار۲- اثرات تزریق داخل صفاقی سیلی مارین بر پاسخ مرحله دوم درد (مدت زمان لیسیدن و گازگرفتن پنجه پا) ناشی از تزریق کف پایی فرمالین ۱ درصد در موش های صحرایی

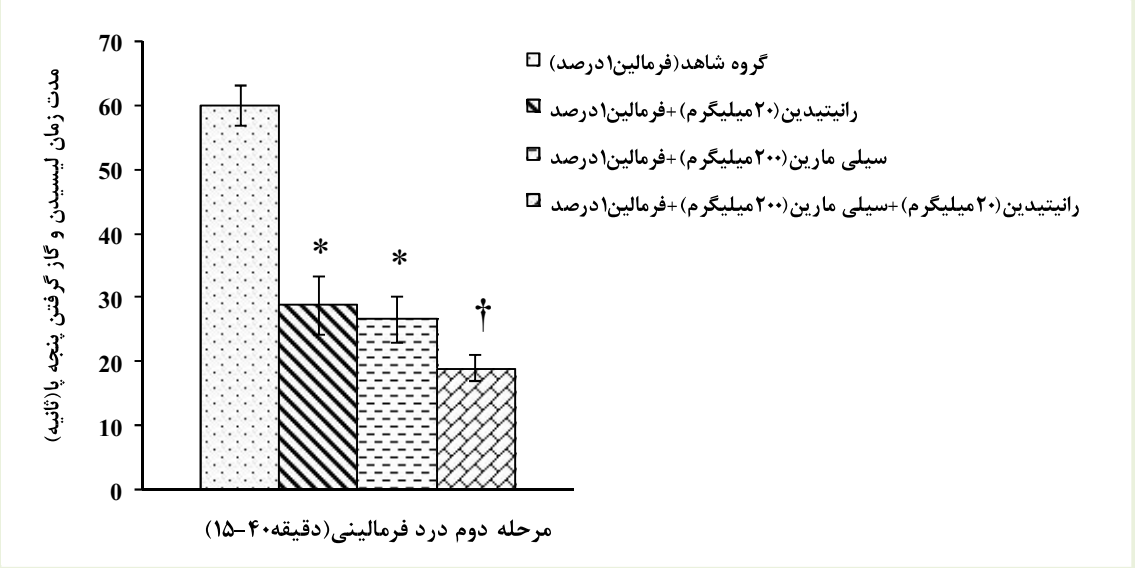
*) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) نسبت به گروه شاهد.

www.SID.ir



نمودار۳- اثرات تزریق داخل صفاقی سیلی مارین و رانیتیدین بر پاسخ مرحله اولدرد(مدت زمان لیسیدن و گازگرفتن پنجه پا)ناشی از تزریق کف پایی فرمالین۱ درصد در موش‌های صحرایی.

*)نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵)نسبت به گروه شاهد.



نمودار٤-اثرات تزریق داخل صفاقی سیلی مارین و رانیتیدین بر پاسخ مرحله دوم درد (مدت زمان لیسیدن و گازگرفتن پنجه پا) ناشی از تزریق کف پایی فرمالین ۱درصد در موش‌های صحرایی.

*) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵)نسبت به گروه شاهد.

†) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵)نسبت به گروه سیلی‌مارین به‌تنهایی.

بحث و نتیجه گیری

در پژوهش حاضر اثرات جداگانه و توأم سیلی‌مارین و رانیتیدین(آنتاگونیست گیرندهH_2 هیستامینی) بر درد التهابی با استفاده از آزمون فرمالین در موش های صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.در آزمون فرمالین تزریق زیرجلدی فرمالین رقیق شده در پنجه پای حیوان رفتار دو مرحله‌ای درد ایجاد می‌کند(۳۱-۲۹، ۱۹، ۱۶). مرحله اول به واسطه اثر مستقیم روی گیرنده‌های درد

www.SID.ir

صورت می‌پذیرد که مربوط به فعالیت گیرنده‌های درد فیبرC می‌باشدو به مدت ۱۰ دقیقه به طول می انجامد(درد نوروژنیک).مرحله دوم در نتیجه اثر مستقیم واسطه‌های التهابی صورت می‌پذیرد و از دقیقه ۱۵ تا ۲۰ بعد از تزریق فرمالین آغاز می‌گردد و وابسته به پاسخ‌های التهابی می‌باشد و واسطه‌های التهابی از قبیل پروستاگلاندین‌ها،برادی‌کینین،هیستامین،α– TNF و اینترلوکین‌ها را آزاد می‌کند.رفتارهای مرتبط با درد فرمالینی عمدتا شامل رفتار لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده می‌باشد.آزمون فرمالین در حیواناتی از قبیل موش‌های آزمایشگاهی(بزرگ و کوچک)،گربه،خرگوش،خوکچه هندی،مرغ خانگی انجام پذیرفته است. با وجود این در حیواناتی مثل خرگوش و گوسفند پاسخ درد ناشی از تزریق فرمالین به صورت یک مرحله‌ای گزارش شده است(۴۱، ۱۹). به هر حال درد دو مرحله‌ای ایجاد شده در مطالعه حاضر با مطالعات مذکور در حیوانات آزمایشگاهی هم‌خوانی دارد.نتایج پژوهش حاضر مشخص نمود که تزریق داخل صفاقی رانیتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2هیستامین) به مقدار ۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش معنی دار ($P< ۰/۰۵$) پاسخ درد فرمالینی در هر دو مرحله اول و دوم گردید. آنتی‌هیستامین‌ها به‌عنوان داروی کاهنده درد،قبل و بعد از عمل جراحی بهطور وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند.مشاهده شده که برخی از آنتی‌هیستامین‌ها از قبیل هیدروکسی‌زین، دیفن-هیدرامین،پریل آمین،پرومتازین خصوصیات تسکین درد را هم در حیوانات آزمایشگاهی و هم در انسان دارا می-باشند(۱۷). مطالعات مختلفی که بر روی بلوک‌کننده‌های H_2 درحیوانات آزمایشگاهی انجام گردیده نشان داده است که سایمتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2هیستامینی)، سبب بهبود درد و افزایش آستانه تحمل درد در حیوانات می‌گردد. یافته‌های دیگر نشان داد که سایمتیدین هیچ اثر ضد دردی روی دردها ی احشایی در موش‌های سوری نداشته و هیچ اثر تقویت کننده‌ای روی مرفین و نالوکسانن دارد(۲۲). نتایج پژوهش‌های پیشین نشان داده است که تزریق پریل‌آمین (آنتاگونیست گیرنده H_1هیستامینی) و رانیتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2هیستامینی)، پاسخ درد وابسته به دوز در آزمون فرمالین نشان داده‌اند(۲۸). نتایج پژوهش ها نشان داده است که تجویز رانیتیدین به همراه مرفین سبب بلوک فعالیت ضد دردی مرفین شده است در حالی که سایمتیدین بر خلاف دیگر آنتاگونیست های H_2 اثر ضد دردی مرفین را تقویت کرده و از طرفی سبب افزایش سطح مرفین داخل مغزی می‌شود که این اعمال شباهتی به اعمال انسدادی گیرنده آن ندارد(۴۲، ۲۲). نتایج یک پژوهش مشخص نموده است که سایمتیدین باعث کاهش درد با اثر تقریبا طولانی به‌ویژه در جراحی‌های کوچک تا متوسط می‌شود و نیز اثر سایمتیدین با مرفین به‌عنوان یک ضد درد شناخته شده قابل مقایسه است و مشاهده شده است که در بی‌دردی با مرفین برابری می-کند(۵). مطالعات انجام پذیرفته نشان داده است که تزریق آنتاگونیست‌های گیرنده H_1(کلرفنیرآمین) و H_2 هیستامینی(سایمتیدین) به ترتیب پیشرفت درد حرارتی و مکانیکی را مهار کرده است، اگرچه کلر فنیل آمین اثر قوی‌تری داشته است(۴۶). پژوهش‌ها نشان داده که تزریق مرکزی هیستامین، میپرامین(آنتاگونیست گیرنده H_1هیستامین) و فاموتیدین(آنتاگونیست گیرنده H_2هیستامینی) به‌طور معنی داری باعث کاهش درد مرحله دوم فرمالینی شده است(۳۱-۲۹). مطالعات انجام گرفته بر روی درد فرمالینی در موش صحرایی با استفاده از هیستامین، میپرامین(آنتاگونیست گیرنده H_1) و فاموتیدین(آنتاگونیست گیرنده H_2) که به‌صورت تزریق داخل بطن مغزی(Intracerebriventricular injection)(icv) صورت پذیرفته است هیچ گونه اثرات

Archive of SID

www.SID.ir

معنی‌داری در مرحله اول درد نشان نداد، اما باعث کاهش معنی‌دار در زمان سپری شده برای لیسیدن و گازگرفتن پنجه پای تزریق شده در مرحله دوم گردید. این پژوهش ها مشخص نمود که هیستامین به‌عنوان یکی از واسطه‌های التهابی موضعی در هر دو مرحله درد فرمالینی مشارکت می‌کند. از طرف دیگر نواحی از مغز از قبیل لایه‌های اکسترنال شاخ خلفی طناب نخاعی،پری‌ونتریکولار ماده خاکستری، هسته‌های سجافی(Raphe nucleus) و هسته عصب سه‌قلو مزن‌سفالون(Mesencephalic trigeminal nucleus) در کنترل درد دخالت می‌کنند(۳۱،۳۵-۲۹). در پژوهش‌های دیگری بیان شده است که آنتاگونیست های گیرندهH_2هیستامین به‌ویژه سایمتیدین و فاموتیدین از قدرت نسبتا بالاتر در جاروب رادیکال هیدروکسیل (OH)برخوردار می‌باشند(۳). هم چنین پژوهش‌های دیگری نشان داده‌اند که آنتاگونیست‌های گیرنده‌هایH_2 هیستامین مانند سایمتیدین، بوریمامید، رانیتیدین، فاموتیدین و تیوتیدین علاوه براین‌که به‌خوبی می-توانندترشح اسیدناشی ازتحریک با هیستامین را درمعده مهار سازند، قادرند به‌عنوان جاروب کننده‌های بسیارقدرتمند رادیکال هیدروکسیل نیزعمـــل کنند(۱۴). در مطالعه حاضر از داروی گیاهی سیلی‌مارین به‌منظور بررسی اثرات کاهندگی درد استفاده گردید. سیلی‌مارین عصاره فعال دانه‌ها و میوه‌های گیاه خارمریم است و شامل فلاونوئیدهایی از قبیل سیلی‌بین، ایزوسیلی-بین، سیلی دیانین و سیلی‌کریستین می‌باشد(۴۳). این ماده اثرات ضدالتهابی، ضدسرطانی، حفاظت سلول و آنتی-اکسیدانی دارد. مطابق مطالعات مختلف سیلی‌مارین هیچ-گونه اثرات سمی زمانی‌که در دوزهای فارماکولوژیکی استفاده شده است، نشان نداده است(۲۶). داده‌های حاصل از بررسی بر روی این گیاه نشان داده است که گیاه مذکور منبع اساسی از ترکیباتی است که از لحاظ پتانسیل درمانی قابل توجه می‌باشد(۳۷). بررسی فعالیت ضد دردی عصاره گیاه خارمریم در مدل‌های حیوانی تجربی درد مشخص نمود که در آزمون اسید استیک در موش‌ها، سیلی مارین به‌طور معنی‌داری تعداد انقباضات شکمی را کاهش داد، هم چنین در آزمون غوطه‌وری دم در موش‌های صحرایی استفاده از سیلی‌مارین به‌طور معنی‌داری باعث افزایش مدت زمان سپری شده برای تلنگر دم گردیده است. در آزمون صفحه داغ در موش نیز سیلی‌مارین باعث افزایش معنی‌دار در واکنش به بالا کشیدن دم گردیده است(۲۴). نتایج نشان داده که در مرحله اول درد فرمالینی، تزریق دیکلوفناک و دوزهای متفاوت از سیلی‌مارین تفاوت معنی‌داری در پاسخ رفتاری درد موش نسبت به گروه شاهد نشان نداده، اما باعث کاهش معنی‌دار در شدت درد حیوان در مرحله دوم گردیده است(۲۰). سیلی‌مارین اثرات وابسته به دوز ضد التهابی داشته و نیز مهارکننده وابسته به دوز انباشت لوکوسیت‌ها در ترشحات التهابی می باشد(۲۱). نتایج پژوهش‌ها نشان داده که فرآیند التهاب توسط مهار مهاجرت نوتروفیل‌ها به طرف محل التهاب صورت می-پذیرد که منجر به تراوشROS (Reactive Oxygen Species) و RNS (Reactive Nitrogen Species) و آنزیم‌های پروتئولتیک شده که در نتیجه آسیب در مویرگ‌های اندوتلیال حاصل شده و سبب افزایش تراوایی سد اندوتلیال و ادم می‌گردد(۲۵). پاسخ به التهاب با فعالیت ماکروفاژهای موجود در محل آسیب آغاز می‌شود و ترشح مداوم واسطه‌های مرتبط با التهاب از قبیل ایکوزانوئیدها، سیتوکین‌ها، کموکین‌ها و پروتئازها صورت می‌پذیرد، که فعال شدن و به‌کار افتادن لوکوسیت‌ها را تحریک می‌کند. برطرف شدن التهاب (پاسخ ضد التهابی) یک فرآیند فعال است که توسط واسطه‌های درون‌زاد کنترل می‌شود که به‌صورت متوقف کردن بیان ژن‌های مرتبط با التهاب و سلول‌های درگیر در محل صورت می‌پذیرد و در نهایت منجر به مرگ سلول-

Archive of SID

www.SID.ir

های ملتهب و فاگوسیتوزی آن‌ها می‌گردد(۲۷).از آنجایی‌که سیلی‌مارین، حاوی ۸۰٪ سیلی‌بین است، مشخص شده است که می‌تواند در بهبود فرآیندهای التهابی و کاهش سطح سرمی سیتوکین‌های التهابی مؤثر باشد. مطالعات مختلفی تأیید کرده‌اند که سیلی‌بین بیان مولکول‌های پیش‌التهابی را مهار می‌کند(۱۸، ۹). سیلی-مارین فرآیند التهاب را از طریق مهاجرت نوتروفیل‌ها و سلول‌های کوپفر، مهار می‌کند. این عصاره همچنین تشکیلواسطه‌های التهابی از قبیل پروستاگلاندین‌ها و به-ویژه لوکوترین‌ها را از طریق مهار مسیر ۵-لیپوکسی‌ژناز بلوکه می‌کند و باعث مهار آزاد سازی و ترشح هیستامین از بازوفیل‌ها می‌شود(۱۰). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اثر ضد دردیسیلی‌مارین در مرحله دوم درد فرمالینی (درد التهابی) ناشی از اثرات این دارو بهواسطه دخالت در ترشح واسطه‌های التهابی از قبیل پروستاگلاندین‌ها و به-ویژه لوکوترین‌ها می‌باشد. سیلی‌مارین یک ترکیب فلاونوئیدی است، این قبیل ترکیبات با مهار آنزیم سیکلوکسی‌ژناز، تولید پروستاگلاندین Eرا از اسید آراشیدونیک در پاسخ به محرک‌های التهابی مهار می-کنند و با توجه به این‌که پروستاگلاندین‌ها در ایجاد التهاب و تشدید درد اثر دارند و از اسیدآراشیدونیک منشاء می‌گیرند، احتمالا فلاونوئیدهای موجود در این گیاه در ایجاد اثر ضد التهابی و ضد دردی نقش دارند. از طرف دیگر ترکیبات فلاونوئیدی دارای خصوصیات ضد آلرژیکی هستند. به همین دلیل می‌توانند اثرات مهاری در آزادسازی هیستامین از بازوفیل‌ها و ماست‌سل‌ها داشته باشند از آن‌جایی‌که آسیب،سبب فعال شدن انتهای عصب حسی به‌طور مستقیم و یا از طریق آزاد شدن هیستامین از مجاورت ماست‌سل‌ها می‌شود و هیستامین نیز باعث آزاد سازی ماده P و CGRP(Calcitonin gene-related peptide)می‌شود(۳۸). مهار ترشح هیستامین منجر به جلوگیری از ترشح موادی از قبیل ماده P و CGRP می‌گردد و از این طریق نیز موجب سرکوب درد و کاهش تداوم آن می‌گردد. از طرف دیگر تداخل عمل سیلی‌مارین با آنتاگونیست گیرنده H_2 هیستامینی نشان داد که استفاده توأم از این داروها باعث کاهش معنی‌دار شدت و مدت زمان درد ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین گردید که احتمالاً این اثرات ضددردی سیلی‌مارین ناشی از تقویت نمودن قدرت کاهش‌دهندگی درد توسط آنتاگونیست‌های هیستامینی می‌باشد .بدین ترتیب می‌توان بیان داشت که احتمالاً اثرات کاهش‌دهندگی درد سیلی-مارین با واسطه‌گری سیستم هیستامینرژیک به انجام می-رسد. با این وجود دستیابی به نتایج دقیق‌تر نیازمند استفاده از سایر آنتاگونیست های هیستامینی و نیز سایر نوروترنس میترهای دخیل در فرایند دردمی‌باشد.

منابع

۱-بلوچ نژاد مجرد، ت.، روغنی، م.، خواست خدایی، ز. ۱۳۸۸. بررسی اثر تجویز دراز مدت سیلی‌مارین بر هیپرآلژزی حرارتی و شیمیایی در مدل تجربی نوروپاتی دیابتی در موش صحرایی نر. مجله غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران. دوره ۱۱. شماره ۵. ص ۵۸۹-۵۸۳.

۲-بلوچ نژاد مجرد، ت.، روغنی، م.، مفاخری، م. ۱۳۹۰. اثر حفاظتی عصاره آبی ماریتیغال در مدل بیماری پارکینسون القاء شده توسط ۶-هیدروکسی دوپامین در موش صحرایی نر: ارزیابی رفتاری، بیوشیمیایی و بافت شناسی. مجله کومش، جلد ۱۲، شماره ۴. ص ۴۶۶-۴۵۹.

۳-شهیدی،م.، مزدارانی، ح.، سمیعی، ف. ۱۳۷۹. بررسی اثرتعدیل کنندگی فاموتیدین بر آثار کلاس توژنیک پرتوهای گامادر سلول های اریتروسیتی مغزاستخوان موش با روش آزمون میکرونوکلئی. مجله علمی- پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران سال دهم، شماره ۲۶. ص ۲۶-۱۹.

Archive of SID

www.SID.ir

16. Fu, K.Y., Light, A.R., Maixner, W. (2001). Long-lasting inflammation and long-term hyperalgesia after subcutaneous formalin injection into the rat hind paw. J Pain, 2(1); 2-11.
17. Galeotti, N., Ghelardini, C., Bartolini, A. (2002). Antihistamine antinociception is mediated by G_i-protein activation. Neuroscience, 109(4); 811-818.
18. Giorgi, V.S., Peracoli, M.T., Peracoli, J.C., Witkin, S.S., Bannwart- Castro, C.F. (2012). Silibinin modulates the NF- κb pathway and pro-inflammatory cytokine production by mononuclear cells from pre- eclamptic women. J ReproducImmunol, 95; 67-72.
19. Gong, N., Huang, Q., Chen, Y., Xu, M., Ma, S.H., Wang, Y. (2014). Pain assessment using the rat and mouse formalin tests.bio protocol, 4(21); 1-7.
20. Hassani, F.V., Rezaee, R., Sazegara, H., Hashemzaei, M., Shirani, K., Karimi, G. (2015). Effects of silymarin on neuropathic pain and formalininduced nociception in mice. Iran J Basic Med Sci, 18(7); 715-720.
21. Herman, H., Pilat, L., Mihali, C., Popescu, C., Turcus, V., Ardelean, A., et al. (2011). Pharmacology of *Silybum marianum* and its active constituents.therapeutic activity– Part 2. J Med Aradean, 14(2); 35-40.
22. Hough, L.B., Nalwalk, J.W., Leurs, R., Menge, W.M., Timmerman, H. (2000). Antinociceptive activity of derivatives of improgran and burimamide. Pharmacol Biochem and Behav, 65(1); 61-66.
23. Iranshahi, M., Askari, M., Sahebkar, A., Adjipavlou-Litina, D. (2009). Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and lipoxygenase inhibitory activities of the prenylatedcoumarinumbelliprenin.Daru, 17; 99-103.
24. Jadhav, G.B., Upasani, C.D. (2009). Analgesic effect of silymarin in experimental induced pain in animal models. J Pharmacy Res, 2(8); 1276-1278.
25. Juma, K.M., Hussain, S.A., Numan, I.T., Siqar, A.H. (2009). Dose- dependent anti-inflammatory effect of silymarin in experimental animal model of acute inflammation. Iraqi J PharmaceutSci, 18.
26. Karimi, G., Vahabzadeh, M., Lari, P., Rashedinia, M., Moshiri, M. (2011). Silymarin, a promising pharmacological agent for treatment of diseases. Iran J Basic Med Sci, 14(4); 308- 317.

٤–عباس‌نژاد، م.، کرامت، ب.، سالاری، س.، حسین‌زاده، م. ۱۳۹۱. اثر عصاره آبی و الکلی میخک قرنفلی بر درد ناشی از تزریق فرمالین در موش‌های صحرایی نر. فصلنامه گیاهان دارویی. سال یازدهم. دوره ۲. شماره ۴۲. ص ۲۳۲–۲۲۵.
۵–فروزش‌فرد، م.، میلادی‌گرجی، ح. ۱۳۸۴. تعیین اثر ضد دردی سایمتیدین در کنترل درد بعد از عمل جراحی و مقایسه اثر آن با مورفین. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان، جلد۷، شماره۱و ۲. ص ۶–۱.
٦–کاتزونگ، برترام‌جی. ۱۳۸۷. فارماکولوژی پایه و بالینی. ترجمه سعید حاجی‌رحیم‌خان، عشرت قرائی فتح‌آباد،چاپ اول، تهران: انتشارات تیمورزاده– نشر طبیب.
۷–گایتون،آرتور؛ هال، ج. ۱۳۸۴. فیزیولوژی پزشکی،ترجمه فرخ شادان، چاپ اول، تهران: انتشارات نشر.
۸–مردوخی، ر. ۱۳۸۶. درد و تسکین درد، چاپ اول، تهران: انتشارات نسل نواندیش.

9.Aziz, T.A., Marouf, B.H., Ahmed, Z.H.A., Hussain, S.A. (2014). Anti-Inflammatory Activity of Silibinin in Animal Models of Chronic Inflammation. Am J PharmacolSci, 2(1); 7-11.
10. Bhattacharya, S. (2011). Phytotherapeutic properties of milk thistle seeds: An overview.J AdvPharmaEdu& Res, 1; 69-79.
11. Borah, A., Paul, R., Choudhury, S.A., Bhuyan, B., Talukdar, A.D. (2013).Neuroprotective potential of silymarin against CNS Disorders.CNS Neurosci&Therapeu, 19; 847-853.
12. Brandon- Warner, E., Eheim, A.L., Foureau1, D.M., Walling, T.L., Schrum, L.W., McKillop,I.H. (2012). Silibinin (Milk Thistle) potentiates ethanol- dependent hepatocellular carcinoma progression in male mice. Cancer Lett, 326(1); 88-95.
13. Brown, R.E., Stevens, D.R., Hass, H.L. (2001). The physiology of brain histamine. Neurobiology, 63; 637-672.
14. Ching, T.L., Jong, J. (1994). Structural characteristics of histamine H2 receptor antagonists that scavenge hypochlorous acid.Eur J pharmaco Mole Pharmacol Section. 268; 89-93.
15. Farzin, D., Nosrati, F. (2007). Modification of formalin-induced nociception by different histamine receptor agonists and antagonists.EurNeuropsychopharmacol, 17; 122-128.

Archive of SID

www.SID.ir

27. Lawrence, T., Willoughby, D.A., Gilroy, D.W. (2002). Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation. Nature Rev Immunol, 2; 787-795.

28. Mobarakeh, J.I., Torkaman- Boutorabi, A., Rahimi, A.A., Ghasri ,S., Nezhad, R.M., Hamzely, A. (2011). Interaction of histamine and calcitonin gene-related peptide in the formalin induced pain perception in rats. Biomed Res, 32(3); 195-201.

29. Mojtahedin, A., Tamaddonfard, E., Zanboori, A. (2008a). Antinociception induced by central administration of histamine in the formalin test in rats. Indian J Physiol Pharmacol, 52(3); 249-254.

30. Mojtahedin, A., Tamaddonfard, E., Zanboori, A.(2008b). Effects of mepyramine and famotidine on the physostigmine-induced antinociception in the formalin test in rats. Pakistan J BiolSci, 11; 2573-2578.

31. Mojtahedin, A. (2016). Effects of cholinergic system in antinociception induced by H_1 and H_2 receptor antagonists on somatic pain in rats. Int J Med Res & Health Sci, 5(9s); 378-383.

32. Monsef, H.R., Ghobadi, A., Iranshahi, M., Abdollahi, M. (2004). Antinociceptive effects of *Peganum harmala* L. alkaloid extract on mouse formalin test. J Pharmacy &PharmaceuSci, 7; 65-69.

33. Naderi, S., GhaderiPakdel, F., AshrafiOsalou,M., Cankurt, U. (2014). Acute systemic infusion of bupropion decrease formalin induced pain behavior in rat. Korean J Pain, 27(2); 118-124.

34. Oritz, M.I., Castaneda- Hernandez, G. (2008). Examination of the interaction between peripheral lumiracoxib and opioids on the 1% formalin test in rats. EuropJ Pain, 12(2); 233- 241.

35. Parada, C.A., Tambeli, C.H., Cunha, F.Q., Ferreira, S.H. (2001). The major role of peripheral release of histamine and 5-hydroxytryptamine in eormaline- induced nociception. Neurosci, 102(4); 937-944.

36. Raffa, R.B. (2001). Antihistamines as analgesics. J ClinPharmacol &Therapeu, 26(2); 81-85.

37. Rita, C.S., Leandra, E.G., Franklin, F.F., Jnanabrata, B., Reinaldo, N.A. (2010). Antinociceptive and toxicological effects of diocleagrandi flora seed pod in mice. J Biomedand Biotechn, 10; 1-6.

38. Rosa, A.C., Fantozzi, R. (2013). The role of histamine in neurogenic inflammation. British J Pharmacol, 170(1); 38-45.

39. Sahib, A.S. (2011). Antinociceptive effect of silymarin in experimental animals. Al – Kindy Col Med J, 7(2); 91-94.

40. Saller, R., Meier, R., Brignoli, R. (2001). The use of silymarin in the treatment of liver diseases. Drugs, 61(14); 2035-2063.

41. Tamaddonfard, E., Roshanimeydan, M., Dejhbakhsh, A. (2003). Behavioural responses associated with formalin injection into the ear of sheep and rabbits. Indian J Anim Sci,73; 1245-1246.

42. Thilagarajah, R., Witherow, R.O., Walker, M.M. (2001). Oral cimetidine gives effective symptom relief in painful bladder disease: a prospective, randomized, double-blind placebocontrolled trial. British J Urology International, 87(3); 207-212.

43. Wellington, K., Jarvis, B. (2001). Silymarin:a review of its clinical properties in the management of hepatic disorders. Bio Drugs, 15; 465-489.

44. Zanboori, A., Tamaddonfard, E., Mojtahedin, A. (2008). Effects of chlorpheniramine and ranitidine on the visceral nociception induced by acetic acid in rats. Pak J BiolSci, 11(20); 2428-2432.

45. Zargari, A. (1997). Medicinal Plants. 7th ed. Tehran:Tehran University Pub, 488-495.

46. Zuo,Y., Perkins, NM., Tracey, DJ., Geczy, CL. (2003). Inflammation and hyperalgesia induced by nerve injury in the rat. Pain,105; 467-479.

Archive of SID

www.SID.ir

Effects of Silymarin in Experimental Inflammatory Pain Induced by Formalin and Relation with Histaminergic System

M.Gholizade Nikpey[1], **A. Mojtahedin[2]**, R. Seyedsharifi [3]

1.M.Sc. Graduated in Animal Physiology, University of MohagheghArdabili, Ardabil. Iran.

2.Department of Physiology,Moghan Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of MohagheghArdabili, Ardabil. Iran. **a_mojtahedin@uma.ac.ir**

3.Animal Science Department, Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of MohagheghArdabili, Ardabil. Iran.

Received:2016. 3. 12 **Accepted: 2017. 28. 1**

Abstract

Inroduction & Objective: The most common pain complaint of patients is one of the oldest forms of human problems.According to the therapeutic effects of medicinal plants,the effects of silymarin, an active ingredient of the Milk thistle, in an experimental model of inflammatory pain induced by formalin and examined its relationship with the histaminergic system.

Material and Methods: In this study, 42 male Wistar rats were used.Animals were divided into 7 groups in each group 6 rats as follows: Group 1(Control): Normal Saline (i.p)+Formalin 1% (intraplantar), Group 2,3,4 and 5 Silymarin (50,100,200 and 400mg/kg, ip) respectively + Formalin 1%, Group 6: Ranitidine (20mg/kg, i.p) + Formalin 1%, Group 7: Ranitidine (20mg/kg, i.p) + Silymarin (200mg/kg, i.p) + Formalin 1%.

Results: The results showed that intraplantar injection of formalin 1% significantly (P<0.05) produced a bi-phasic pain response.Silymarin injection significantly(P<0.05) decreased formalin pain responses in both phases.On the other hand, pretreatment with ranitidine (20mg/kg) before silymarin (200mg/kg) induced a significant reduction (P<0.05)in both the first and second phases ofpain responses.

Conclusion: The results revealed that silymarin produced antinociception effect in formalin induced pain and this effect probably will be down by interfering with the H2 histamine receptors.

Keywords: Inflammatory pain, Ranitidine, Silymarin, Histaminergic system.

Archive

www.SID.ir