

## تحقیقی

## اثر عصاره هیدروالکلی صمغ گیاه سکینه (*Ferula persica*) بر آرتريت روماتوئيد القاشده توسط ادجوانت کامل فروند در موش صحرايي

ناهيد رباني<sup>۱</sup>، دکتري مريم طهراني پور\*<sup>۲</sup>، دکتري ناصر مهدوي شهري<sup>۳</sup>

۱- کارشناس ارشد رشته زیست شناسی گرایش فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

۲- دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران. ۳- استاد، گروه زیست شناسی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

### چکیده

**زمینه و هدف:** آرتريت روماتوئيد يک بيماري التهابي خودايميوني است که می‌تواند منجر به تخریب مفصل و ناتوانی شود. با توجه به ترکیبات بیولوژیکی فعال موجود در گیاه سکینه به نظر می‌رسد که این گیاه دارای قابلیت ضدالتهابی باشد. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره هیدروالکلی صمغ گیاه سکینه (*Ferula persica*) بر آرتريت روماتوئيد القاشده توسط ادجوانت کامل فروند در موش صحرايي انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی ۳۶ سر موش صحرايي نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم و با سن ۸ هفته به‌طور تصادفی در ۶ گروه ۶ تایی نرمال، کنترل منفی، کنترل مثبت و گروه‌های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی صمغ گیاه سکینه با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تقسیم شدند. ابتدا صمغ سکینه به روش خیساندن عصاره‌گیری شد. آرتريت روماتوئيد با تزریق داخل مفصل زانو به میزان ۰/۲ میلی‌لیتر ادجوانت کامل فروند (Freund's Complete Adjuvant) در روز اول در حیوانات ایجاد گردید و از روز پانزدهم عصاره هیدروالکلی، روزانه به صورت داخل صفاقي تزریق شد. در روز سی‌ام از قلب آنها برای اندازه‌گیری عامل روماتوئيد (RF) خونگیری به عمل آمد و از مفصل زانوی آنها برای بررسی‌های هیستوپاتولوژی لام تهیه گردید.

**یافته‌ها:** کاهش آماری معنی دار RF در سه گروه تیمار شده نسبت به گروه کنترل منفی مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). در گروه تیمار با دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل مثبت و دوزهای ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تخریب غضروف و همچنین در گروه کنترل منفی هایپرپلازی سینوویال و بافت پانوس و تخریب غضروف مشاهده گردید.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد عصاره هیدروالکلی صمغ گیاه سکینه به صورت وابسته به دوز می‌تواند باعث کاهش التهاب و تخریب غضروفي ناشی از آرتريت روماتوئيد القاء شده در موش‌های صحرايي گردد.

**کلید واژه‌ها:** آرتريت روماتوئيد، صمغ گیاه سکینه، التهاب، مفصل زانو

\* نویسنده مسؤول: دکتري مريم طهراني پور، پست الکترونيکی maryam\_tehranipour@mshdiau.ac.ir

نشانی: مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، گروه زیست شناسی، تلفن ۰۵۱-۳۸۴۳۵۰۵۰، نمابر ۳۸۴۳۵۰۵۰

وصول مقاله: ۱۳۹۶/۴/۲۸، اصلاح نهایی: ۱۳۹۷/۳/۲۱، پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۳/۲۱

### مقدمه

در تعادل هستند. در حالی که در بیماری آرتريت روماتوئيد تعادل بین این القاکننده‌ها و مهارکننده‌ها از بین می‌رود (۴). به نظر می‌رسد زودرس‌ترین واقعه، پاسخ التهابی غیراختصاصی است که محرک آغاز آن ناشناخته است و با تجمع ماکروفاژها و سایر سلول‌های تک‌هسته‌ای در لایه سینوویوم مشخص می‌گردد. فعالیت این سلول‌ها با افزایش ظهور سیتوکین‌های مشتق شده از ماکروفاژها از جمله اینترلوکین ۱ (IL-1) و اینترلوکین ۶ (IL-6) و عامل نکروز دهنده توموری آلفا (TNF- $\alpha$ ) نشان داده می‌شود. این سیتوکین‌های پیش‌التهابی در پاتوفیزیولوژی تعدادی از بیماری‌ها از جمله آرتريت

آرتريت روماتوئيد يک اختلال اتوایميون با اتیولوژی چندعاملی است که در آن عوامل ژنتیک و غیرژنتیک (همچون عفونت‌ها، هورمون‌ها و محیط) در استعداد ابتلا به آن مهم شناخته شده‌اند (۱و۲). عمده‌ترین شاخص این بیماری التهاب مزمن سینوویال مفاصل شناخته شده است. التهاب مفاصل در آرتريت روماتوئيد باعث تظاهراتی چون قرمزی، تورم، درد و محدودیت حرکت می‌شود (۳). سیتوکین‌ها نقش مهمی در پیشبرد و تداوم بیماری به عهده دارند. در مفاصل سالم سیتوکین‌های پیش‌التهابی و ضدالتهابی

ترکیب مهم پرسیکا سولفید B (Persicasulfide B) و آمبلی پرنین از این گیاه جدا شد که نقش اساسی در مهار متالوپروتئازها اعمال می کنند. متالوپروتئازها آنزیم کلیدی در تهاجم رشد تومور و متاستاز هستند. در نتیجه پرسیکا سولفید B و آمبلی پرنین ها اثر ضد التهابی و ضد تخریب سلولی خود را از طریق مهار متالوپروتئازها انجام می دهند (۱۳). با توجه به این که تحقیقی روی اثر عصاره صمغ گیاه سکینه بر آرتريت روماتوئید انجام نشده است؛ این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره هیدروالکلی صمغ گیاه سکینه بر آرتريت روماتوئید القاشده توسط ادجوانت کامل فروند در موش صحرایی انجام شد.

### روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم و با سن ۸ هفته خریداری شده از مرکز علوم حیوانات آزمایشگاهی دانشکده علوم پزشکی بقیه اله (عج) تهران در گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد در سال ۱۳۹۵ انجام شد.

موش های صحرایی در اتاق حیوانات گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، تحت چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در قفس های پلکسی گلاس (ابعاد ۲۰×۳۰×۴۰) با دسترسی آزادانه به آب و غذا و درجه حرارت و رطوبت مناسب نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش موش ها با خوراک تجاری تهیه شده توسط شرکت جوانه خراسان تغذیه شدند. در این مطالعه پروتکل اصول اخلاقی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

برای تهیه عصاره هیدروالکلی صمغ گیاه سکینه از صمغ خشک شده که به تایید بخش فیزیولوژی گیاهی دانشگاه (کد گیاه ۹۷۲۸) رسیده بود؛ به روش خیساندن عصاره گیری انجام شد. ابتدا صمغ آسیاب شد و ۵۰ گرم از پودر صمغ در مخلوط آب - اتانل به نسبت ۱ به ۳ به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد و مرتب هم زده شد. پس از این مدت، عصاره را توسط کاغذ صافی صاف کرده و به اندازه نصف حجم کل به آن آب اضافه نمودیم. سپس در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد عمل حذف حلال در دستگاه انکوباتور انجام گرفت. عصاره خشک شده، پس از پودر شدن تا هنگام استفاده در یخچال نگهداری شد (۱۴).

به منظور ایجاد بیماری آرتريت روماتوئید، در روز اول آزمایش، به داخل فضای مفصل زانوی راست موش ها میزان ۰/۲ میلی لیتر ادجوانت کامل فروند (Freund's Complete Adjuvant: FCA) تزریق شد (۱۵). در روز اول قطر مفصل پای راست عقبی اندازه گیری شد. نشانه های التهاب مانند تورم مفاصل و میزان حرکت و قرمزی مفصل از روز اول بعد از تزریق ادجوانت در حیوان به صورت خفیف مشاهده گردید.

روماتوئید نقش دارند و از این میان احتمالاً نقش TNF- $\alpha$  مهم تر است (۵). لئوسیت های T و B و سیتوکین های پیش التهابی نقش کلیدی در این بیماری دارند. سیتوکین های TNF- $\alpha$  و IL-6 به طور مستقیم در این فرایند دخیل هستند و سیتوکین های IL-1 و IL-17 نقش کمتری در روند بیماری دارند (۶). علت اصلی فرسایش استخوان تشکیل پانوس است. آنژیوژنز یک فرایند کلیدی در شکل گیری و نگهداری از پانوس است. زیرا حمله به غضروف و استخوان نیاز به افزایش جریان خون دارد. در بیماران مبتلا به RA، بسیاری از عوامل رگ زایی در سینوویوم بیان می شود؛ اما VEGF نقش اصلی در توسعه عروق خونی جدید بازی می کند (۷).

معیارهای کالج روماتولوژی آمریکا امتیاز صفر الی ۱۰ را مطرح می کند و امتیاز کمتر یا مساوی ۶ تشخیص RA را قطعی می کند. این معیارها عبارت از تعداد مفاصل درگیر، تست سرولوژی شامل تیتراژ عامل روماتوئید (Rheumatoid Factor: RF) و آنتی بادی ضد CCP، واکنشگرهای مرحله حاد و مدت زمان وجود علائم است (۸). Ramadan و همکاران اثر ضد التهابی چای سبز و سیاه را در آرتريت تجربی در موش های صحرایی بررسی نمودند (۹). در مطالعه زمانی و همکاران اثر ضد التهابی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه حرا (*Avicennia marina*) در موش های صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که برگ گیاه حرا دارای ترکیباتی است که دارای خواص ضد التهابی قابل ملاحظه ای است که موجب بهبود آرتريت در موش صحرایی شده است (۱۰). در حال حاضر از گیاهان دارویی به طور گسترده ای در صنعت غذا و دارو در دنیا استفاده می شود. سن درگیری با بیماری های تحلیل برنده غضروفی - مفصلی از جمله آرتروز، آرتريت روماتوئید و استئوآرتريت کاهش یافته است و این در حالی است که آسیب های وارده به غضروف چندان قابل بازسازی نیست. در نتیجه یافتن داروهای گیاهی مناسب با عوارض جانبی کمتر برای التیام بخشی غضروف و کاهش روند التهاب مفاصل می تواند یک راهکار مناسب برای کاهش هزینه های اقتصادی و بهداشتی مربوط به این بیماری ها باشد. درمان قطعی برای آرتريت روماتوئید هنوز به درستی تعیین نشده است و درمان ها بیشتر برای کاهش التهاب انجام می شود (۳).

سکینه (*Ferula persica*) که در عربی سکینج (*Sakbinag*) نامیده می شود؛ یک گیاه علفی پایا به ارتفاع ۱-۲ متر است (۱۱). برگ های بزرگ و اکثراً ظریف جداشونده ای دارد. گلبرگ های آن زرد، سبز متمایل به سفید یا زرد دراز یا بیضی با راس کاملاً خمیده است (۱۲). در طب سنتی از صمغ و رزین این گیاه به عنوان خلط آور، ضد اسپاسم، ضد نفخ، ملین، رفع سوء هاضمه همراه با نفخ و بیوست، بیماری های بسا منشاء عصبی، صرع و دردهای مختلف به ویژه درد مفاصل استفاده می شود (۱۱). در پژوهش دیگر دو

مقایسه گروه‌های تیمار دوم و سوم با کنترل مثبت اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. به طوری که عصاره مانند دارو عمل نمود (جدول یک).

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار سنجش‌های سرولوژی عامل روماتوئید (RF) روز ۳۰ در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	RF (IU/ml)
نرمال	۳/۵±۰/۵۴
کنترل منفی	۷/۱±۰/۴۸ **
کنترل مثبت	۳/۶±۰/۵۱ *
تیمار اول	۴/۳±۰/۵۱ * #
تیمار دوم	۳/۷۵±۰/۴۱ *
تیمار سوم	۳/۷۵±۰/۴۱ *

\*  $P < 0.001$  نسبت به گروه کنترل مثبت؛ \*  $P < 0.001$  نسبت به گروه کنترل منفی؛ #  $P < 0.05$  نسبت به گروه کنترل مثبت؛ \*  $P < 0.001$  نسبت به گروه نرمال

**نتایج هیستولوژی مفصل نرمال:** در مقاطع میکروسکوپی تهیه شده از مفاصل زانوی نرمال در لایه سینویال هیچگونه هیپرپلازی دیده نشد و سطح غضروفی مفصل کاملاً سالم بود (شکل A-1). وضعیت متاکرومازی و به عبارتی تراکم ماده زمینه‌ای بافت غضروف به وضوح در شکل B-1 قابل مشاهده است.

**نتایج هیستولوژی مفصل گروه کنترل منفی:** هایپرپلازی سینویال در شکل B-2 و ارتشاح خفیف سلول‌های التهابی و تشکیل بافت پانوس که باعث تخریب شدید بافت غضروفی شد؛ در شکل A-2 مشاهده می‌شود. در شکل C-2 گروه کنترل منفی با رنگ آمیزی آبی تولوئیدن دیده می‌شود. به طوری که متاکرومازی بافت غضروف دیده نمی‌شود و تشکیل بافت پانوس باعث تخریب عمیق غضروف سطح مفصلی شده و در جهت شکافتن آن و دست یابی به استخوان زیرین در حال پیشرفت است.

**نتایج هیستولوژی گروه کنترل مثبت:** هایپر تروفی کندروسیت‌ها و غضروف بازسازی شده در شکل ۳ دیده می‌شود.

**نتایج هیستولوژی گروه تیمار اول:** در شکل ۴ تخریب بافت غضروف به خوبی مشهود است. خاصیت متاکرومازی در این گروه نسبت به گروه نرمال کمتر بود و غضروف متافیز رشد دیده شد.

**نتایج هیستولوژی گروه تیمار دوم:** همان طور که در شکل ۵ دیده می‌شود؛ در یک طرف متاکرومازی جواب داده و یک طرف جواب نداده که به علت اثر عصاره است و به تدریج دوباره غضروف ساخته شده است و مواد گلیکوز آمین‌ها و کندروتین سولفات‌ها ساخته شده است.

**نتایج هیستولوژی گروه تیمار سوم:** در شکل ۶ تصاویر غضروف کاملاً بازسازی شده، تراکم ماده زمینه‌ای غضروف و ایجاد حالت متاکرومازی به وضوح مشخص است.

برای ارزیابی اثر عصاره هیدروالکلی بر آرتریت روماتوئید القاء شده در حیوانات به مدت ۱۵ روز از روز پانزدهم همه روزه در ساعت ۹ صبح در گروه‌ها به صورت داخل صفاقی و به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر به هر موش صحرایی تزریق شد.

حیوانات در ۶ گروه ۶ تایی به شرح زیر تقسیم‌بندی شدند. گروه اول (نرمال): آرتریت روماتوئید در آنها ایجاد نشد و طی روزهای ۳۰-۱۵ فقط حلال (سرم فیزیولوژی + یک قطره توئین ۸۰) دریافت کردند.

گروه دوم (کنترل منفی): القاء آرتریت روماتوئید انجام شد و طی روزهای آزمایش فقط حلال دریافت کردند.

گروه سوم (کنترل مثبت): القاء آرتریت روماتوئید انجام شد و داروی سدیم سالیسیلات به عنوان داروی استاندارد ضد التهاب با غلظت ۳۰۰ mg/kg طی دوره آزمایش (روزهای ۳۰-۱۵) به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه چهارم (تیمار اول): القاء آرتریت روماتوئید انجام شد و عصاره با دوز ۲۵ mg/kg/bw به صورت داخل صفاقی طی دوره آزمایش دریافت کردند.

گروه پنجم (تیمار دوم): القاء آرتریت روماتوئید انجام شد و عصاره با دوز ۵۰ mg/kg/bw به صورت داخل صفاقی طی دوره آزمایش دریافت کردند.

گروه ششم (تیمار سوم): القاء آرتریت روماتوئید انجام شد و عصاره با دوز ۷۵ mg/kg/bw به صورت داخل صفاقی طی دوره آزمایش دریافت کردند.

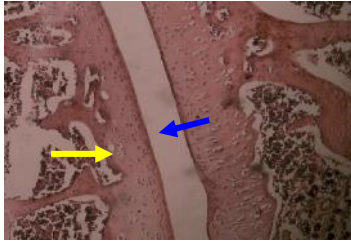
مدت زمان مصرف دارو و میزان دوز براساس مطالعه احمدی و همکاران (۳) انجام شد. در روز ۳۰ مستقیم از قلب حیوان خونگیری به عمل آمد (۳). در نمونه‌های خون، میزان عامل روماتوئید اندازه‌گیری شد و از مفصل زانوی راست نیز مقاطع بافتی برای ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی تهیه و به روش هماتوکسیلین و اتوزین (H&E) و آبی تولوئیدین رنگ آمیزی شدند.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab-16 و آزمون‌های آماری One Way Anova و Tukey در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

#### یافته‌ها

غلظت عامل روماتوئید در سرم خون حیواناتی که دوزهای عصاره هیدروالکلی صمغ سکینه و داروی سدیم سالیسیلات را دریافت نمودند؛ در مقایسه با گروه کنترل منفی کاهش آماری معنی‌داری نشان داد ( $P < 0.001$ ). این میزان در گروه کنترل منفی نسبت به گروه نرمال افزایش آماری معنی‌داری یافت ( $P < 0.001$ ) که نشانه ایجاد التهاب توسط ادجوانت فروند است.

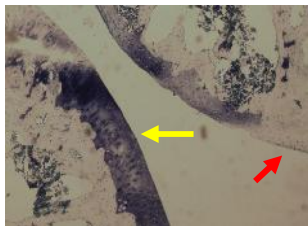
مقایسه گروه تیمار اول با گروه کنترل مثبت گویای افزایش آماری معنی‌دار عامل روماتوئید بود ( $P < 0.05$ ). در حالی که در



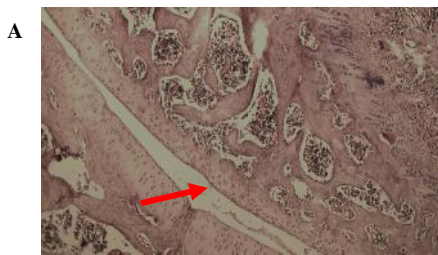
شکل ۳: برش طولی از بافت مفصل زانوی راست گروه کنترل مثبت هایپر تروفی کندروسیت‌ها (پیکان زرد)، غضروف بازسازی شده (پیکان آبی): رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین، درشت نمایی ۱۰۰×



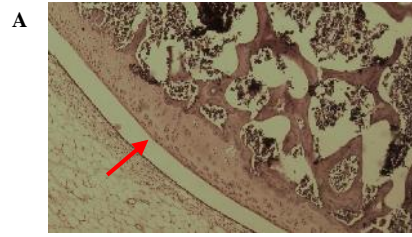
شکل ۴: برش طولی از بافت مفصل زانوی راست گروه تیمار اول تخریب غضروف (پیکان قرمز)، غضروف متافیز رشد (پیکان زرد)، رنگ آمیزی تولوئیدین بلو، درشت نمایی ۱۰۰×



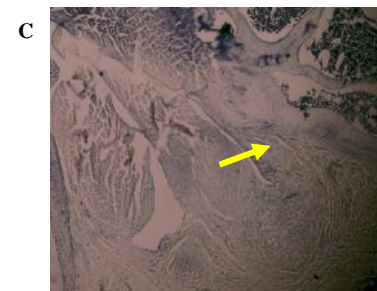
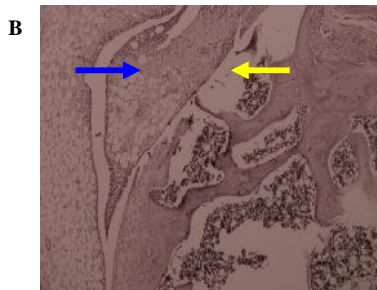
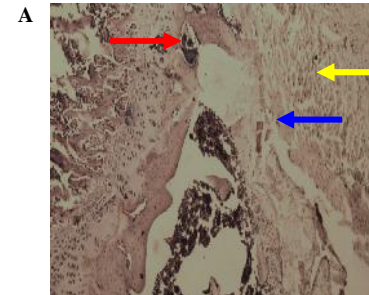
شکل ۵: برش طولی از بافت مفصل زانوی راست گروه تیمار دوم خاصیت متاکرومازی بافت غضروف (پیکان زرد)، عدم خاصیت متاکرومازی بافت غضروف (پیکان قرمز)، رنگ آمیزی تولوئیدین بلو، درشت نمایی ۱۰۰×



شکل ۶: برش طولی از بافت مفصل زانوی راست گروه تیمار سوم (A) غضروف بازسازی شده (پیکان قرمز)، رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین، درشت نمایی ۱۰۰× (B) خاصیت متاکرومازی بافت غضروف (پیکان قرمز)، رنگ آمیزی تولوئیدین بلو، درشت نمایی ۱۰۰×



شکل ۱: برش طولی از بافت مفصل زانوی راست گروه نرمال (A) سطح غضروف مفصلی کاملاً سالم، رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین، درشت نمایی ۱۰۰×؛ (B) خاصیت متاکرومازی بافت غضروف، رنگ آمیزی تولوئیدین بلو، درشت نمایی ۱۰۰×



شکل ۲: برش طولی از بافت مفصل زانوی راست گروه کنترل منفی (A) ارتشاح خفیف سلول‌های التهابی (پیکان آبی)، تشکیل بافت پانوس (پیکان زرد)، تخریب شدید بافت غضروفی (پیکان قرمز)؛ (B) هایپرپلازی سینوویال (پیکان آبی)، تخریب غضروف (پیکان زرد)؛ رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین، درشت نمایی ۱۰۰× (C) تشکیل بافت پانوس (پیکان زرد)؛ رنگ آمیزی تولوئیدین بلو درشت نمایی ۱۰۰×

## بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، سطح عامل روماتويد در گروه‌های کنترل منفی نسبت به گروه نرمال افزایش آماری معنی داری یافت که نشان‌دهنده بروز بیماری است. همچنین سطح عامل روماتويد در گروه‌های تیمار شده نسبت به گروه کنترل منفی کاهش آماری معنی داری داشت که نشان‌دهنده کاهش روند التهاب توسط مواد مؤثر این گیاه به خصوص سزکوئی ترپن کومارین‌ها مانند آمبلی‌پرنین‌ها است که دارای اثرات ضدالتهابی است (۱۶).

یکی از معیارهای پاراکلینیک، عامل روماتويد است که در بیماران دارای علائم بالینی محرز معمولاً در شش ماه اول بیماری مثبت می‌شود. مگر آن دسته از بیمارانی که سرونکاتیو منفی هستند. عوامل روماتويدی اتوآنتی‌بادی‌های واکنش‌دهنده با بخش FC ایمونوگلوبین G هستند (۱۷). عامل روماتويد قادر است با IgG کمپلکس ایمنی ایجاد نماید. این کمپلکس در بخش‌های مختلف بدن از جمله غشاء مفاصل رسوب می‌نماید و با فعال نمودن سیستم کمپلمان باعث ارتشاح سلول‌های دفاعی به محل می‌گردد. نتیجه آن که واکنش التهابی در محل ایجاد می‌شود و به دنبال آن ضایعات بافتی ایجاد می‌گردد (۱۸). مهم‌ترین و آشکارترین علائم هیستوپاتولوژی در بیماری آرتريت روماتويد شامل هایپرپلازی لایه‌های سینویال، نفوذ سلول‌های التهابی عمدتاً از نوع لنفوسیت‌ها و پلاسماسل‌ها، افزایش تراکم موجود در بافت سینویال مثل فیبروسیت‌ها، فیبروبلاست‌ها و سلول‌های اندوتلیالی است که منجر به تشکیل پانوس شده و سبب تخریب غضروف و استخوان می‌گردد (۱۹-۲۲).

به نظر می‌رسد نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات عنوان شده در مورد تخریب غضروف و استخوان در مراحل شدید آرتريت روماتويد (گروه کنترل منفی) مطابقت دارد. در صورتی که در گروه تیمار دوم که دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره را دریافت نمود؛ فقط علائم اولیه تخریب غضروف و استخوان نمایان شد و در گروه کنترل مثبت و گروه تیمار سوم با دریافت دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره بازسازی کامل غضروف همراه با حالت متاکرومازی واضح دیده شد. این امر نشان‌دهنده وجود ترکیبات مؤثره موجود در صمغ گیاه سکینه در پیشگیری از روند تخریبی آرتريت روماتويد است و احتمالاً تحت تاثیر آمبلی‌پرنین بوده که اثر ضدالتهابی و ضدتخریب سلولی آن از طریق مهار آنزیم لیپواکسیژناز و متالوپروتئازها به اثبات رسیده است. کومارین آمبلی‌پرنین و برخی از فلاونوئیدها از جمله لوتئولین 7-O-گلوکوزید که در فرولا پرسیکا حضور دارند؛ دارای نقش آنتی‌اکسیدان و ضدالتهابی هستند. کومارین‌های سیس کوهی‌ترین فعال بیولوژیکی شامل آمبلی‌پرنین و فارنزیرول‌های A و B

است (۱۶).

در مطالعه ایرانشاهی و همکاران خاصیت ضدالتهابی و مهار لیپواکسیژناز آمبلی‌پرنین ارزیابی شد. نتایج نشان داد که آمبلی‌پرنین یک فعالیت بازدارندگی قابل توجهی در برابر لیپواکسیژناز دارد (۲۳). تاثیر گیاهان گوناگونی بر روند کاهش التهاب مورد آزمایش قرار گرفته است که از آن جمله می‌توان به گیاه حرا (۱۰) و زردچوبه هندی (۳) اشاره نمود.

در گروه تیمار اول با دریافت ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره، علائم تخریب غضروف دیده شد. می‌توان این گونه بیان نمود که احتمالاً مواد مؤثره موجود در گیاه اثرات ضدتخریبی وابسته به دوز دارند.

آبی تولوئیدین یک مولکول کاتیونی (+ C 15 H 16 N 3 S) با قابلیت ترکیب شدن با انواع گلیکوز آمینو گلیکان‌های حاوی بار منفی است. گروه‌های سولفات گلیکوز آمینو گلیکان‌ها مولکول‌های رنگ مورد نظر را جذب می‌کنند. اگر در مجاورت این مولکول در ماتریکس خارج سلولی، گلیکوز آمینو گلیکان‌ها با بار منفی بیشتر باشد؛ جایگاه‌های بیشتری روی این مولکول اشغال خواهند شد و در نتیجه شدت رنگ مورد مشاهده در بافت بیشتر خواهد بود و به این ترتیب غضروف رنگ ارغوانی می‌گیرد که این پدیده، خاصیت متاکرومازی نامیده می‌شود (۲۴). در نتایج مطالعه حاضر خاصیت متاکروماتیک یا همان میزان رنگ‌پذیری ماتریکس در گروه تیمار دوم یک طرف جواب داد و در یک طرف جواب نداد که به علت اثر عصاره بوده است و احتمالاً به تدریج دوباره غضروف و مواد گلیکوز آمین‌ها و کندروتین سولفات‌ها ساخته شده است. در گروه تیمار سوم خاصیت متاکروماتیک به خوبی نمایان شد که تأییدکننده اثر مهاری این عصاره بر تخریب ناشی از آرتريت القاء شده است.

## نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره هیدروالکلی صمغ گیاه سکینه دارای مواد مؤثری است که به صورت وابسته به دوز دارای اثرات ضدالتهابی است. به طوری که در این مطالعه هر دوز نسبت به دوز قبلی دارای اثرات بهتری بود و دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از این عصاره اثر مهاری بر تخریب غضروف و فرایندهای التهابی بیماری نشان داد.

## تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه (شماره ۱۳۸۷۷) خانم ناهید ربانی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی گرایش فیزیولوژی جانوری از دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد بود. بدین وسیله از مساعدت‌های فراوان اعضای گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد که ما را در اجرای این مطالعه یاری نمودند؛ صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد.

## References

- Cutolo M, Otsa K, Uprus M, Paolino S, Seriola B. Vitamin D in rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev*. 2007 Nov; 7(1): 59-64. doi:10.1016/j.autrev.2007.07.001
- Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. 2004 Dec; 80(6 Suppl): 1678S-88S. doi:10.1093/ajcn/80.6.1678S
- Ahmadi M, Rasekh H, Kamali Nejad M, Zare A. Anti-inflammatory effects of total extract of *Curcuma amada* Roxb. in a rheumatoid arthritis rat model. *J Med Plants*. 2008; 7(1): 21-28. [Article in Persian]
- Aghaei M, Sedighi S, Behnam pour N, Hezar Khani S, Hashemizadeh P, Shirashiani M, et al. [The study of bone mineral density in postmenopausal women with rheumatoid arthritis]. *J Shahrekord Univ Med Sci*. 2013; 15(2): 53-60. [Article in Persian]
- Molenaar E, Voskuyl A, van der Horst-Bruinsma IE, Schreuder GM, Zanelli E, Dijkmans B. Influence of HLA polymorphism on persistent remission in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2002 Apr; 61(4): 351-53. doi:10.1136/ard.61.4.351
- Smolen JS, Steiner G. Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. *Nat Rev Drug Discov*. 2003 Jun; 2(6): 473-88. doi:10.1038/nrd1109
- Paleolog EM. Angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*. 2002; 4 Suppl 3: S81-90. doi:10.1186/ar575
- Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO 3rd, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis*. 2010 Sep; 69(9): 1580-88. doi:10.1136/ard.2010.138461
- Ramadan G, El-Beih NM, Talaat RM, Abd El-Ghffar EA. Anti-inflammatory activity of green versus black tea aqueous extract in a rat model of human rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis*. 2017 Feb; 20(2): 203-13. doi:10.1111/1756-185X.12666
- Zamani Gandomani M, Foruzandeh Molaali A, Zamani Gandomani Z, Madani H, Moshtaghian SJ. [Evaluation of anti-inflammatory effect of hydroalcoholic extract of *Mangrove* (*Avicennia Marina*) leaves in male rats]. *Med J Tabriz Univ Med Sci*. 2012. 34(4): 80-85. [Article in Persian]
- Zargari A. [Medicinal plants]. 4<sup>th</sup> ed. Tehran: Tehran University Publications. 1988; pp: 592-602. [Persian]
- Affif FU, Abu-Irmaileh B. Herbal medicine in Jordan with special emphasis on less commonly used medicinal herbs. *J Ethnopharmacol*. 2000 Sep; 72(1-2): 101-10.
- Shahverdi AR, Saadat F, Khorramzadeh MR, Iranshahi M, Khoshayand MR. Two matrix metalloproteinases inhibitors from *Ferula persica* var. *persica*. *Phytomedicine*. 2006 Nov; 13(9-10): 712-17. doi:10.1016/j.phymed.2006.01.003
- Parvardeh S, Niapoor M, Nassiri Asl M, Hosseinzadeh H. [Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Pistacia vera* L. gum extract in mice and rat]. *J Med Plants*. 2002; 4(4): 58-67. [Article in Persian]
- Pouraboli I, Hajizadeh S, Najafipour H, Khoshbaten A, Rasaei MJ. [Does PGE2 mediate indomethacin and theophylline effects on joint diameter and vascular response to saphenous nerve stimulation in chronically inflamed rat knee joint?] *Physiology and Pharmacology*. 2008; 12: 68-75. [Article in Persian]
- Sattar Z, Iranshahi M. Phytochemistry and pharmacology of *Ferula persica* Boiss.: A review. *Iran J Basic Med Sci*. 2017 Jan; 20(1): 1-8. doi:10.22038/ijbms.2017.8085
- van Schaardenburg D, Lagaay AM, Otten HG, Breedveld FC. The relation between class-specific serum rheumatoid factors and age in the general population. *Br J Rheumatol*. 1993 Jul; 32(7): 546-49.
- Williams RC Jr. Rheumatoid factors: Historical, prospective, origin and possible role in disease. *J Rheumatol*. 1992; 32: 42-45.
- Ghadiri T, Najafipour H, Shakib MR. [The effect of intra-articular injection of ywo anti TNF drugs on histopathology and effect of local Infusion of these drugs on blood flow of chronically inflamed joints in rabbit]. *J Kerman Univ Med Sci*. 2010; 16(1): 1-14. [Article in Persian]
- Ashrafihelan J, Roohollah F, Rafiei Tehrani S. [Pathological study of arthritis induced by type 2 bovine collagen and Freund's complete adjuvant in rat]. *Journal of Veterinary Research*. 2011; 66(1): 65-71. [Article in Persian]
- Li QH, Xie WX, Li XP, Huang KT, Du ZH, Cong WJ, et al. Adenosine A2A receptors mediate anti-inflammatory effects of electroacupuncture on synovitis in mice with collagen-induced arthritis. *J Evid Based Complementary Altern Med*. 2015; Article ID 809560.
- Ma JD, Zhou JJ, Zheng DH, Chen LF, Mo YQ, Wei XN, et al. Serum matrix metalloproteinase-3 as a noninvasive biomarker of histological synovitis for diagnosis of rheumatoid arthritis. *Mediators Inflamm*. 2014; 2014: 179284. doi:10.1155/2014/179284
- Iranshahi M, Askari M, Sahebkar A, Adjipavlou- Litina D. Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and lipoxygenase inhibitory activities of the prenylated coumarin umbelliprenin. *DURU*. 2009; 17(2): 99-103.
- Rafiei H, Khayatzadeh J. [Cartilage glycosaminoglycans in wound healing of the pinna in rabbits by *Medicago Sativa* extract]. *J Zanjan Univ Med Sci*. 2012; 20(5): 1-11. [Article in Persian]

## Original Paper

# Effect of hydroalcoholic extract of *Ferula persica resin* on induced rheumatoid arthritis by Freund's complete adjuvant in rat

Nahid Rabani (M.Sc)<sup>1</sup>, Maryam Tehranipour (Ph.D)<sup>\*2</sup>, Naser Mahdavi Shahri (Ph.D)<sup>3</sup>

<sup>1</sup>M.Sc in Animal Physiology, Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.

<sup>2</sup>Associate Professor, Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran. <sup>3</sup>Professor, Department of Biology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

## Abstract

**Background and Objective:** Rheumatoid arthritis is an autoimmune-inflammatory disease with possible joint destruction and disability. Persica plant, seems contain anti-inflammatory capabilities. This study was done to determine the effect of hydroalcoholic extract of *Ferula persica resin* on induced rheumatoid arthritis by Freund's complete adjuvant in rat.

**Methods:** In this experimental study, 36 male Wistar rats (200-250 g) and 8 weeks old were randomly allocated in 6 groups including normal group, positive control, negative control, and groups treated with the hydroalcoholic extract of persica resin with 25, 50 and 75 mg/kg/bw doses. The resin of persica was extracted by Maceration method. On the first day, inflammation was induced with injection of 0.2 ml of Freund's complete adjuvant into the right knee joint of rats and from the fifteenth day hydroalcoholic extract was injected intraperitoneally and daily for 15 days. On the 30<sup>th</sup> day, blood samples were taken from hearts for rheumatoid factor measurement. Histological slides were prepared from knee joint.

**Results:** The level of RF in the three treatment groups was significantly reduced compared to the negative control group ( $p < 0.05$ ). Destruction of cartilage were observed in treated group with dose of 25 mg/kg/bw in comparison with positive control group, treated group with 50 and 75 mg/kg/bw doses. Also in the negative control group, synovial hyperplasia, pannus and the destruction of cartilage were observed.

**Conclusion:** It seems that hydroalcoholic extract of *Ferula persica resin* can causes dose dependent reduction of inflammation and destruction of cartilage result from induced rheumatoid arthritis in the rats.

**Keywords:** Rheumatoid arthritis, *Ferula persica resin*, Inflammation, Knee joint

\* Corresponding Author: Tehranipour M (Ph.D), E-mail: maryam\_tehranipour@mshdiau.ac.ir

Received 19 Jul 2017

Revised 11 Jun 2018

Accepted 11 Jun 2018

Cite this article as: Rabani N, Tehranipour M, Mahdavi Shahri N. [Effect of hydroalcoholic extract of *Ferula persica resin* on induced rheumatoid arthritis by Freund's complete adjuvant in rat]. J Gorgan Univ Med Sci. 2018 Autumn; 20 (3): 24-30. [Article in Persian]

Orcid id: Nahid Rabani: 0000-0002-5980-7998, Maryam Tehranipour: 0000-0001-5302-5808, Naser Mahdavi Shahri: 0000-0002-4792-7570