Archive of SID

پاتوبیولوژی مقایسه‌ای، علمی ـ پژوهشی، سال هفدهم، زمستان، شماره ۴، ۱۳۹۹، ۳۳۸۲-۳۳۷۳

تاثیر عصاره اتانولی جلبک دریایی قرمز و مسیرهای عصبی دخیل در درد ناشی از فرمالین در موش سوری

مهسا ایری [۱]، امیراقبال خواجه رحیمی [۲*]، شاهین حسن پور [۳]

چکیده

با توجه به عوارض ناشی از مصرف داروهای شیمیایی در کنترل درد، استفاده از داروهای گیاهی رو به افزایش است.جلبک قرمزدارای اثرات آنتی اکسیدان، ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد توموری و ضد میکروبی است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات ضددردی عصاره اتانولی جلبک دریایی قرمز و مسیرهای عصبی دخیل در موش سوری بود. ۱۲۵موش سوری نربالغ در ٦ مرحله آزمایشی قرار گرفتند. در آزمایش اول، تزریق داخل صفاقی سرم فیزیولوژی، عصاره جلبک قرمز (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و مورفین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) انجام شد. در آزمایش دوم، موش‌ها تزریق داخل صفاقی سرم فیزیولوژی، عصاره جلبک قرمز (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، نالوکسان (آنتاگونیست غیرانتخابی اوپیوئیدی، ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و نالوکسان + عصاره جلبک قرمز را دریافت کردند. آزمایشات ٤ الی ٦ مشابه آزمایش دوم بود، اما تزریق فلومازنیل (آنتاگونیست غیرانتخابی گیرنده‌های GABA، ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، سیپروهپتادین (آنتاگونیست غیرانتخابی گیرنده‌های سروتونین، ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، کلرفنیرآمین (آنتاگونیست گیرنده‌های H_1 هیستامین، ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و سایمتیدین (آنتاگونیست گیرنده‌های H_2 هیستامین، ۱۲/۵میلی‌گرم بر کیلوگرم) بجای نالوکسان انجام شد. پس از ۳۰ دقیقه، تزریق زیر جلدی فرمالدئید در کف پای راست انجام و زمان لیسیدن، جویدن و گاز گرفتن پای تزریق شده اندازه-گیری شد. باتوجه به نتایج مورفین موجب کاهش زمان درد (P<۰/۰۵). عصاره جلبک قرمز بطور وابسته به دوز موجب کاهش زمان درد شد (P<۰/۰۵).تزریق نالوکسان + عصاره جلبک قرمز بطور موجب کاهش اثرات ضد دردی عصاره جلبک قرمز شد (P<۰/۰۵).فلومازنیل + عصاره جلبک قرمز موجب کاهش اثرات ضد دردی عصاره جلبک قرمز شد (P<۰/۰۵).تزریق سیپروهپتادین+ عصاره جلبک قرمز بطور معنی داری موجب تقویت اثرات عصاره جلبک قرمز شد (P<۰/۰۵). تزریق کلرفنیرآمین + عصاره جلبک قرمز بطور معنی داری موجب کاهش اثرات عصاره جلبک قرمز شد (P<۰/۰۵). نتایج نشان دهنده این بود که اثرات ضددردی جلبک قرمز بوسطه مسیرهای اوپیوئیدرژیک، سروتونینرژیک، گاباارژیک و هیستامینرژیک میانجی‌گری می‌شود.

واژگان کلیدی: جلبک دریایی قرمز، درد، سروتونینرژیک، گاباارژیک، هیستامینرژیک، موش سوری.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۹/۱٦ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۱۷

۱ - دانش آموخته دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲ -گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (dr.amireghbal.rahimi@gmail.com)

۳- استادیار بخش فیزیولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

مقدمه

درد به عنوان مجموعه ای پیچیده از تجارب ناخوشایند حسی، عاطفی و شناختی حاصله از آسیب بافتی و تظاهرات واکنش‌های اتونومیک، سایکولوژیک و رفتاری تعریف شده است (۱). درد، مودالیته حسی است که در بسیاری موارد، تنها نشانه شناسایی بیماری بوده و غالباً دارای عملکرد محافظتی می‌باشد. درد یک مکانیسم حفاظتی است که در اکثر بافت هایی که دچار آسیب بشود دیده می‌شود. درد یک ویژگی ناراحت کننده و رایج در بسیاری از اختلالات مانند انواع تومورها، جراحی‌ها، آسیب‌های فیزیکی و تحریکات شیمیایی می‌باشد (۲). درد ناشی از التهاب نیز از جمله عوامل شایع درد است که فرایندهای التهابی وابستگی شدیدی با درد دارند چنانچه مواد شیمیایی آزاد شده در طی فرایند التهاب گیرنده‌های درد را بیشتر تحریک می‌کنند و منجربه درد التهابی شوند (۳). امروزه برای کنترل درد بیشتر از داروهای ضدالتهاب غیر استرویيدی و یا داروهای اوپیوییدی استفاده می‌شود، اما این داروها دارای عوارض جانبی نسبتا زیادی بوده و با وابستگی همراه هستند مصرف کوتاه و دراز مدت اوپیوئیدها سبب عوارض جانبی مانند کاهش فعالیت دستگاه گوارش و یبوست، تهوع، استفراغ، خارش، احتباس ادرار و ایجاد وابستگی است (٤). این امر سبب شده محققین به دنبال داروهای جدیدتری با عوارض جانبی کمتر، ارزان و در دسترس باشند (۵).

امروزه علاقمندی زیادی در جایگزینی گیاهان دارویی برای کاهش اثرات سو داروهای موجود انجام شده است. گیاهان دارویی منبع مهمی از مواد شیمیایی با اثرات درمانی بسیار قوی می‌باشند (٦). استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان درد و

www.SID.ir

Archive of SID

التهاب در طب سنتی ایران نوعی رسم و عادت می‌باشد ؛ اما در بیشتر موارد منشا و اساس فعالیت این گیاهان ناشناخته مانده است. جلبک‌های دریایی (سبز، قهوه‌ای و قرمز) به طور گسترده‌ای در پزشکی، صنایع غذایی، شیمیایی و آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۷). تحقیقات نشان داده است که عصاره جلبک قرمز دارای خواص بالقوه آنتی اکسیدان، ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد توموری و ضد میکروبی است(۸). همچنین جلبک قرمز حاوی آلکالوئیدها، فلانوئیدها، ساپونین، استرولها، تری پنوئیدها، قندها، گلیکوزیدها، کوئین، تانن و رنگدانه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل و کاروتنوئیدها می‌باشند. در مقایسه با گیاهان خشکی‌زی و منابع حیوانی جلبک قرمز غنی از امگا ۳ و اسیدهای چرب ضروری، مواد معدنی، اسیدهای آمینه و ویتامین‌های A, B و C است موجب مهار رشد برخی از میکروارگانیسم‌های بیماریزا است(۹). مطالعات نشان داده است که عصاره جلبک قرمز *(Laurencia caspica)* اثرات ضد توموری در سرطان پستان دارد بطوری‌که غلظت ۱۷۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر موجب مهار رشد ۵۰ درصد از سلول‌ها می‌شود(۱۰) . Asmawati و همکاران بیان کردند که عصاره متانولی جلبک قهوه‌ای اثرات ضدالتهابی در موش دارد (۱۱). بعلاوه مشخص شده است که عصاره متانولی جلبک قرمز برزیلی *(Amansia multifida)* در سطوح ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثرات ضد درد و ضد التهابی در موش دارد (۱۱). با توجه به مطالعات پیشین، تحقیقات کمی در خصوص اثرات ضددردی جلبک قرمز *(Gracilariopsis persica)* انجام شده است. لذا هدف اصلی مطالعه حاضر بررسی اثرات ضددردی عصاره اتانولی جلبک دریایی قرمز بود. همچنین هدف ثانویه بررسی تقابل عمل آن با مسیرهای عصبی اوپیوئیدرژیک، سروتونینرژیک، گاباارژیک و هیستامینرژیک در تست درد ناشی از فرمالین در موش سوری بود.

مواد و روش‌کار

عصاره‌گیری

عصاره گیری به روش میکسینگ انجام شد. جلبک قرمز *(Gracilariopsis persica)*از بانک گیاهان دارویی کشور خریداری شد.مقدار ۱۰۰ گرم از جلبک خشک آسیاب شد و در ۲۰۰ سی‌سی اتانول ریخته شد و در دمای ٤٥ درجه سانتی-گراد نگهداری شد. پس از خنک شدن محلول بدست آمده صاف شد. سپس با استفاده از دستگاه GC-MS (Agilent،آمریکا) ترکیبات فعال آن مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. باتوجه به نتایج بدست آمده بیشترین ترکیب موجود در عصاره به ترتیب (ان هگزادکانوئیک اسید) (۵۱/۸۷ درصد)، اسکوالین (۲٦/۷۸ درصد) و کولست –پنتا– ان–تریول(۱٤/۳۲ درصد) بود (نمودار ۱).

حیوانات مورد مطالعه

این تحقیق بر روی ۱۲۵ موش سوری نر بالغ با محدوده وزنی ۳۰–۲۵ گرم انجام گرفت. موش‌ها از بخش تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی پژوهشگاه رویان تهیه و در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. تمام روش‌های تجربی مطابق با راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی برای بررسی درد تجربی در حیوانات انجام شد. عصاره جلبک قرمز توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهیه شد و میزان دوز دارو براساس مطالعات پیشین در نظر گرفته شد(۸). برای بررسی اثرات ضددردی عصاره جلبک قرمز، ٦ آزمایش در نظر گرفته شد؛ بطوری که موش‌ها در ٦ آزمایش با ٤ گروه و ۵ موش در هر گروه (۲۰ موش در هر آزمایش)، به استثنای آزمایش اول که ۵ تیمار بود. مرحله آزمایش اول، گروه اول عنوان کنترل در نظر گرفته شد و تزریق داخل صفاقی سرم فیزیولوژیک انجام گرفت. در گروه‌های ٤–۲ تزریق داخل صفاقی سطوح ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) عصاره جلبک قرمز انجام شد. گروه پنجم، تزریق داخل صفاقی مورفین

www.SID.ir

Archive of SID

(۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) انجام شد(۱۲). پس از ۳۰ دقیقه، تزریق زیر جلدی فرمالدئید در کف پای راست انجام و بلافاصله تست‌های ضد دردی انجام شد. قابل ذکر است تزریق زیر جلدی فرمالدئید در تمامی گروه‌ها انجام شد.آزمایش دوم، گروه اول کنترل، گروه دوم عصاره جلبک قرمز (تزریق داخل صفاقی ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه سوم نالوکسان (آنتاگونیست غیرانتخابی اوپیوئیدی، ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه چهارم نالوکسان (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) + عصاره جلبک قرمز (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تزریق شد. در گروه-هایی که در آنها تقابل عمل مسیرهای ضد دردی بررسی شد، ابتدا تزریق آنتاگونیست انجام شد، ۱۵ دقیقه بعد دوز موثر عصاره (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تزریق شد و پس از ۱۵ دقیقه، تزریق زیر جلدی فرمالدئید در تمامی گروه‌ها انجام و انجام و بلافاصله تست‌های ضد دردی انجام شد(۱۳). در آزمایش سوم، گروه اول کنترل، گروه دوم عصاره جلبک قرمز (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه سوم فلومازنیل (آنتاگونیست غیرانتخابی گیرنده‌های GABA، ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه چهارم تزریق فلومازنیل (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) + عصاره جلبک قرمز (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تزریق شد و پس از ۱۵ دقیقه، تزریق زیر جلدی فرمالدئید در تمامی گروه‌ها انجام و بلافاصله تست‌های ضد دردی انجام شد. در آزمایش چهارم، گروه اول کنترل، گروه دوم عصاره جلبک قرمز (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه سوم سیپروهپتادین (آنتاگونیست غیرانتخابی گیرنده‌های سروتونین، ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه چهارم سیپروهپتادین (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) + عصاره جلبک قرمز (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تزریق زیر جلدی فرمالدئید در تمامی گروه‌ها انجام و بلافاصله تست‌های ضد دردی انجام شد. در آزمایش پنجم، گروه اول کنترل، گروه دوم عصاره جلبک قرمز (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه سوم کلرفنیرآمین (آنتاگونیست گیرنده‌های H_1 هیستامین، ۲۰ میلی-گرم بر کیلوگرم) و گروه چهارم تزریق کلرفنیرآمین (۲۰ میلی-گرم بر کیلوگرم) + عصاره جلبک قرمز (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تزریق زیر جلدی فرمالدئید در تمامی گروه‌ها انجام و بلافاصله تست‌های ضد دردی انجام شد. در آزمایش ششم، گروه اول کنترل، گروه دوم عصاره جلبک قرمز (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه سوم سایمتیدین (آنتاگونیست گیرنده‌های H_2 هیستامین، ۱۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه چهارم تزریق سایمتیدین (۱۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) + عصاره جلبک قرمز (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تزریق زیر جلدی فرمالدئید در تمامی گروه‌ها انجام و بلافاصله تست‌های ضد دردی انجام شد (۱٤).

تست فرمالین

تست فرمالین بنظور ارزیابی تست درد استفاده شد. در روز آزمایش هر موش ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش درون محفظه آزمون فرمالین که از یک جعبه شفاف از جنس پلکسی گلاس با ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتیمتر تشکیل شده است قرار گرفت تا به محیط عادت کند. بمنظور مشاهده بهتر حیوان در زیر آن آینه‌ای با زاویه ٤۵ درجه نسبت به سطح افقی قرار دارد تا وضعیت کف پای حیوان کاملاً مشخص باشد و مشاهدات را آسان‌تر کند. ۳۰ دقیقه پس از تزریق درون صفاقی داروها، ۵۰ میکرولیتر فرمالدئید ۱ درصد بصورت زیر جلدی به کف پای راست موش تزریق و بلافاصله به جایگاه مشاهده برگردانده شده و مدت زمان پاسخ به درد در طی ۲ مرحله، بلافاصله بعد از تزریق فرمالین که به مدت ۵ دقیقه طول می‌کشد (۰–۵ دقیقه) و به عنوان فاز حاد در نظرگرفته می‌شود که بواسطه تحریک مستقیم انتهای آزاد عصب موجب درد می‌شود و مرحله دوم که پس از ۱۵ دقیقه شروع شده و تا دقیقه ۳۰ طول می‌کشد (۱۵–۳۰ دقیقه) و به عنوان فاز مزمن در نظر گرفته می‌شود که ناشی از آسیب ایجاد شده حاصله از فرمالین به سلول و آزد شدن محتویات سلول و تحریک انتهای آزاد عصب است. در هر مرحله مدت زمان صرف شده برای لیسیدن،

www.SID.ir

Archive of SID

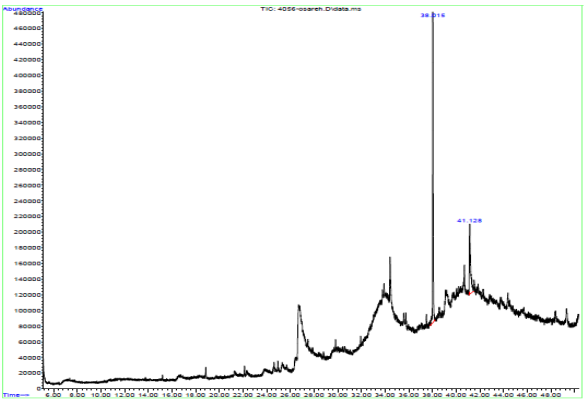
جویدن و گاز گرفتن پای تزریقی (Licking Time) برحسب ثانیه اندازه‌گیری شد(۱۵).

تجزیه و تحلیل آماری

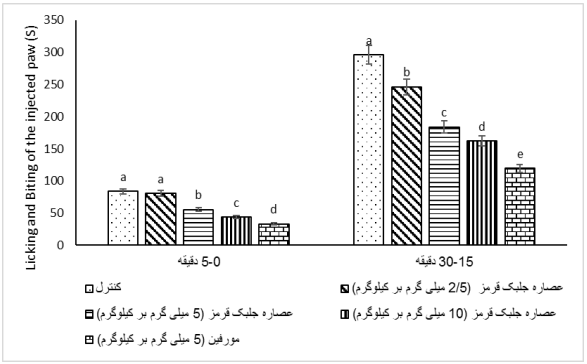
تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS توسط آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (one way ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای ارزیابی اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها از آزمون چند دامنه‌ای Tukey استفاده شد و نتایج به صورت Mean ± SE گزارش شد . P≤ ۰/۰۵ بعنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

با توجه به نتایج آزمون اول، تزریق مورفین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بطور معنی داری موجب کاهش زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل شد (P<۰/۰۵). سطوح ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره جلبک قرمز بطور معنی داری موجب کاهش زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل شد (P<۰/۰۵) (نمودار ۲). از این مرحله تحقیق به بعد به دلیل اثربخشی بیشتر غلظت ۱۰میلی گرم بر کیلوگرم عصاره نسبت به غلظت های کمتر، فقط از غلظت ۱۰ استفاده شد.

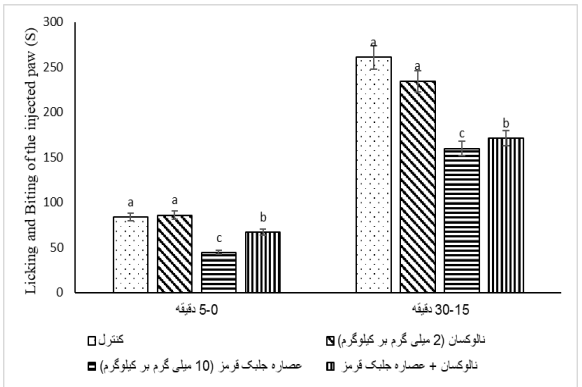


نمودار ۱- کروماتوگرافی گازی ترکیبات عصاره جلبک *(Gracilariopsis persica)*



نمودار ۲- اثر تزریق سطوح مختلف عصاره جلبک قرمز *(Red Algae)* در درد ناشی از تست فرمالین در موش سوری. حروف نامشابه (a-d) نشان دهنده اختلاف منی دار بین گروه های آزمایشی است. P<۰/۰۵ سطح معنی داری در نظر گرفته شده است. (n= ۵ موش در هر گروه).

با توجه به نتایج آزمون دوم، تزریق نالوکسان (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) اثری بر زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل نداشت (P>۰/۰۵). عصاره جلبک قرمز (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بطور معنی داری موجب کاهش زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل شد (P<۰/۰۵). تزریق همزمان نالوکسان و عصاره جلبک قرمز بطور معنی داری موجب کاهش اثرات ضد دردی عصاره جلبک قرمز در مقایسه با گروه عصاره جلبک قرمز شد (P<۰/۰۵) (نمودار ۳).

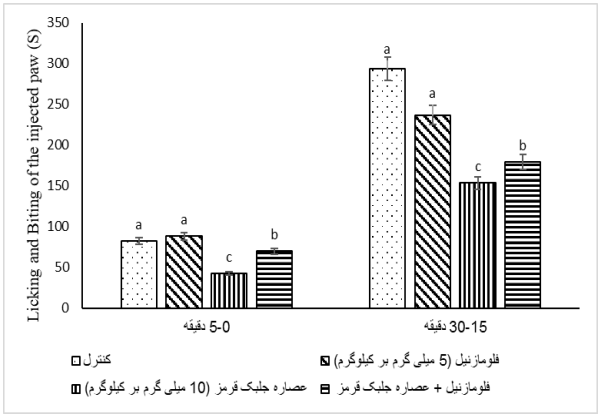


نمودار ۳- اثر تزریق عصاره جلبک قرمز*(Red Algae)*، نالوکسان و تزریق هم زمان آنها در درد ناشی از تست فرمالین در موش سوری. حروف نامشابه (a-c) نشان دهنده اختلاف منی دار بین گروه های آزمایشی است. P<۰/۰۵ سطح معنی داری در نظر گرفته شده است. نالوکسان: آنتاگونیست غیرانتخابی اوپیوئیدی. (n= ۵ موش در هر گروه).

www.SID.ir

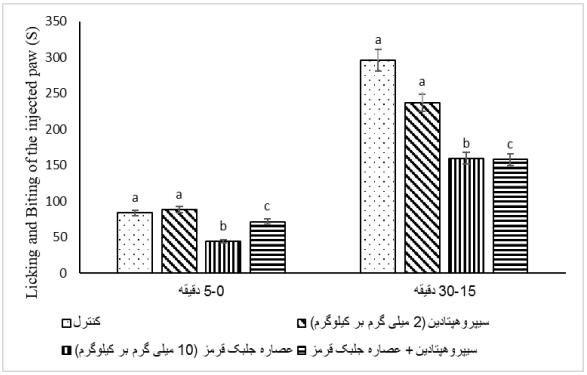
Archive of SID

همانطور که در نمودار ٤ دیده می‌شود، تزریق فلومازنیل (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) اثری بر زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل نداشت (P>۰/۰۵). عصاره جلبک قرمز (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بطور معنی داری موجب کاهش زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل شد (P<۰/۰۵). تزریق همزمان فلومازنیل به علاوه عصاره جلبک قرمز بطور معنی داری موجب کاهش اثرات ضد دردی عصاره جلبک قرمز شد (P<۰/۰۵).



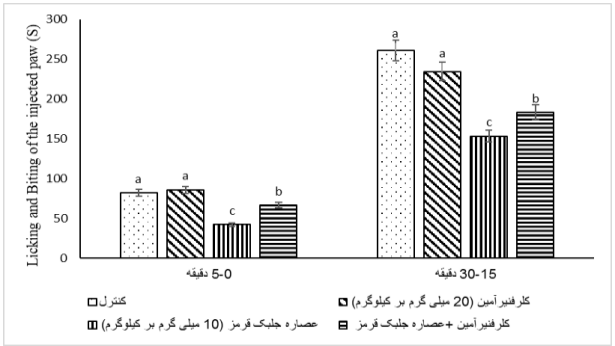
نمودار ٤- اثر تزریق عصاره جلبک قرمز*(Red Algae)*، فلومازنیل و تزریق هم زمان آنها در درد ناشی از تست فرمالین در موش سوری. حروف نامشابه (a-c) نشان دهنده اختلاف منی دار بین گروه های آزمایشی است. P<۰/۰۵ سطح معنی داری در نظر گرفته شده است. فلومازنیل: آنتاگونیست غیرانتخابی گیرنده‌های GABA. (۵ =n موش در هر گروه)

باتوجه به نمودار ۵، تزریق سیپروهپتادین (۲ میلی گرم بر کیلوگرم) اثری بر زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل نداشت (P>۰/۰۵). عصاره جلبک قرمز (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بطور معنی داری موجب کاهش زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل شد (P<۰/۰۵). تزریق همزمان سیپروهپتادین و عصاره جلبک قرمز بطور معنی داری موجب تقویت اثرات ضد دردی عصاره جلبک قرمز در مقایسه با گروه عصاره جلبک قرمز شد (P<۰/۰۵).



نمودار ۵- اثر تزریق عصاره جلبک قرمز*(Red Algae)*، سپروهپتادین و تزریق هم زمان آنها در درد ناشی از تست فرمالین در موش سوری. حروف نامشابه (a-c) نشان دهنده اختلاف منی دار بین گروه های آزمایشی است. P<۰/۰۵ سطح معنی داری در نظر گرفته شده است. سپروهپتادین: آنتاگونیست غیرانتخابی گیرنده‌های سروتونین. (۵ =n موش در هر گروه).

در نمودار ٦، تزریق کلرفنیرآمین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) اثری بر زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل نداشت (P>۰/۰۵). عصاره جلبک قرمز (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بطور معنی داری موجب کاهش زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل شد (P<۰/۰۵). تزریق توام کلرفنیرآمین به علاوه عصاره جلبک قرمز بطور معنی داری موجب کاهش اثرات ضد دردی عصاره جلبک قرمز در مقایسه با گروه عصاره جلبک قرمز شد (P<۰/۰۵).

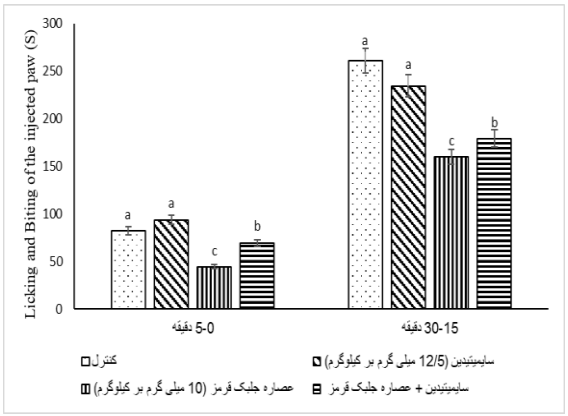


نمودار ٦- اثر تزریق عصاره جلبک قرمز*(Red Algae)*، کلرفنیرآمین و تزریق هم زمان آنها در درد ناشی از تست فرمالین در موش سوری. حروف نامشابه (a-c) نشان دهنده اختلاف منی دار بین گروه های آزمایشی است. P<۰/۰۵ سطح معنی داری در نظر گرفته شده است. کلرفنیرآمین: آنتاگونیست گیرنده‌های H_1 هیستامینی. (۵ =n موش در هر گروه).

www.SID.ir

Archive of SID

باتوجه به نمودار ۷، تزریق سایمیتیدین (۱۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) اثری بر زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل نداشت (P>۰/۰۵). عصاره جلبک قرمز (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بطور معنی داری موجب کاهش زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل شد (P<۰/۰۵). تزریق توام سایمیتیدین به علاوه عصاره جلبک قرمز بطور معنی داری موجب کاهش اثرات ضد دردی عصاره جلبک قرمز در مقایسه با گروه عصاره جلبک قرمز شد (P<۰/۰۵).



نمودار ۷- اثر تزریق عصاره جلبک قرمز*(Red Algae)*، سایمتیدین و تزریق هم زمان آنها در درد ناشی از تست فرمالین در موش سوری. حروف نامشابه (a-c) نشان دهنده اختلاف منی دار بین گروه های آزمایشی است. P<۰/۰۵ سطح معنی داری در نظر گرفته شده است. سایمیتیدین: آنتاگونیست گیرنده‌هایH_2 هیستامینی. (n =۵ موش در هر گروه).

بحث

امروزه میزان تولید و مصرف سرانه بستنی در بسیاری از درد، احساس ناخوشایندی است که در پاسخ به محرک قوی به عنوان یک مکانیسم دفاعی ایجاد می شود. داروهای بسیاری برای تسکین درد معرفی شده‌اند ولی اغلب آنها دارای عوارض جانبی نامطلوبی هستند که سبب محدود شدن مصرف آنها می‌گردند. اما اعتقاد بر این است که ترکیبات طبیعی گیاهی اگر جایگزین داروهای سنتتیک شوند، عوارض جانبی کمتری اعمال می‌نمایند.(۳). جلبک دریایی بعنوان یک پتانسیل فعال زیستی غنی شناخته می‌شود. جلبک‌های دریایی جلبک قهوه‌ای حاوی پلی ساکاریدهای سولفات (فوکوئیدان ها)هستند و برای کنترل التهاب استفاده می‌شود. هونگ و همکاران بیان کردند که جلبک دریایی *(Phaeophyta)*و کلو روفیتا اثرات ضد التهاب در ادم پای حیوانات و اثرات مزمن ضد التهابی دارد (۱۶). باتوجه به یافته‌های حاضر، عصاره جلبک قرمز بطور وابسته به دوز موجب کاهش درد در مقایسه با گروه مورفین شد. تزریق نالوکسان + عصاره جلبک قرمز بطور معنی‌داری موجب کاهش اثرات ضد دردی عصاره جلبک قرمز در مقایسه با عصاره جلبک قرمز به تنهایی شد. Asmawati و همکاران بیان کردند که عصاره متانولی جلبک قهوه‌ای *(Panida)* اثرات ضدالتهابی در موش دارد (۱۱). محققین بیان کردند که عصاره متانولی جلبک قرمز برزیلی *(Amansia multifida)* در سطوح ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثرات ضد درد و ضد التهابی در موش دارد (۱۱). در تحقیق دیگری مشخص شده است که پلی ساکاریدهای مستخرج از عصاره گیاه *Gracilaria caudate* موجب اثرات ضد درد و التهابی در موش می‌شود (۱۷). در تحقیق مشابهی اثرات ضد دردی عصاره جلبک قرمز *Amansia multifida* را مورد بررسی و ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان دهنده این بود که موجب مهار ۷۸ درصدی درد در تست رایت، ٦۲ درصد در تست فرمالین و ۳٦ درصد در تست tail flick شد (۱۸). پیشنهاد شده است که اثرات ضددردی عصاره جلبک قرمز ناشی از اثرات آنتی اکسیدانی آن است. دوز ٤/۸۷ میکروگرم عصاره جلبک قرمز موجب مهار ادم گوش در موش می‌شود. اینطور می‌توان نتیجه گرفت که اثرات ضددردی عصاره جلبک قرمز در این مطالعه همسو با مطالعات قبلی بود. همچنین تزریق داخل صفاقی عصاره جلبک قرمز اثرات ضد دردی قوی

www.SID.ir

Archive of SID

(۸۰/۲ درصد) در تست رایت نشان داد (۱۹) که نتایج ما نیز همسو با گزارش‌های پیشین بود. بایستی خاطر نشان کرد که بدلیل مسیرهای عصبی مختلف دخیل در تست‌های دردی، گاها متغییر و حتی متضاد دیده می‌شود. در مطالعه حاضر از تست فرمالین که یکی از قابل اعتمادترین تست‌ها برای تعیین اثرات ضددردی می‌باشد استفاده شد (۱۵).

باتوجه به یافته‌ها تزریق کلرفنیرآمین + عصاره جلبک قرمز بطور معنی‌داری موجب کاهش اثرات ضد دردی عصاره جلبک قرمز شد. در درد ناشی از فرمالین دو نوع ارزیابی مختلف، فاز حاد و مزمن برای درد وجود دارد. فاز حاد بلافاصله بعد از فرمالین شروع می شود که موجب تحریک سیستم عصبی مرکزی و محیطی می‌شود که به آن فاز نوروژنیک نیز اطلاق می‌شود. در این مرحله میانجی‌های عصبی مثل ماده P و گیرنده‌های مزدوج شونده با پروتئین G و برادی کینین از پایانه عصبی آزاد می شود. سپس یک مرحله بی‌دردی دیده می‌شود که ناشی از بلوک شدن موقتی گیرنده‌های درد بواسطه فرمالین است. مرحله دوم که پس از ۱۵ دقیقه شروع شده و تا دقیقه ۳۰ طول می‌کشد (۳۰-۱۵ دقیقه). این مرحله فاز التهابی نیز گفته می‌شود که بواسطه آسیب موضعی ایجاد شده توسط فرمالین، میانجی‌هایی مثل برادی‌کینین، پروستاگلاندین‌ها، ماده P ، نیتریک اکسید، سروتونین و هیستامین آزاد و موجب بروز حس درد می‌شود (۱۵). جلبک قرمز اثرات ضد التهاب بدون اثرات سمی حتی در سطوح زیاد دارد که سبب شده در پزشکی برای کنترل التهاب استفاده بشود. در مطالعه اثرات ضدسرطانی عصاره جلبک قرمز *(Laurencia caspica)* بر رده سلولی T47D سرطان پستان مشخص شده است که عصاره جلبک، رشد سلول‌های T47D را به صورت وابسته به دوز کاهش و در غلظت ۱۷۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر رشد ۵۰ درصد از سلول‌ها را مهار می‌کند(۱۰) . تحریک موضعی موجب رهایش ترکیباتی مثل برادی کینین، ماده P و پروستاگلاندین-ها، به ویژه PGI_2 و همچنین برخی سیتوکین هایی مانند-IL 1β، TNF-α و IL-8 می‌شود. در تحقیقی مشخص شد که عصاره متانولی جلبک قرمز *(Dichotomaria obtusata)* به طور قابل توجهی موجب مهار درد در تست رایت (writhing) می‌شود. با این وجود تزیق داخل صفاقی آن موثرتر از گاواژ آن است. این نتیجه ممکن است به دلیل محدودیت زیستی فراهمی ترکیبات فعال عصاره با جذب ضعیف یا اثر عبور اول در کبد باشد(۲۰). در تحقیق مشابه مشخص شد که تزریق سطوح متوسط تا بالای عصاره زنجبیل موجب کاهش درد ناشی از محرک حرارتی در رفلکس های نخاعی و مسیر ضددردی مرکزی می‌شود (۳). عمدتا این اثرات از طریق فلاونوییدها و آلکالوییدهای موجود در عصاره عمل می‌کنند. باتوجه به نمودار ۱، بیشترین ترکیب موجود در عصاره به ترتیب ان هگزادکانوئیک اسید، اسکوالین و کولست – پنتا- ان-تریول بود. به نظر می‌رسد اثرات ضددردی این عصاره نیز از طریق این ترکیبات با کنترل آزاد شدن میانجی‌های درد انجام می-پذیرد. هرچند مطالعه پیشین در خصوص شناسایی مکانیسم-های ضددردی عصاره جلبک قرمز وجود ندارد، لذا یافته-های حاضر بعنوان اولین گزارش در مسیرهای عصبی دخیل در اثرات ضددردی آن است. محققین بیان کردند که اثرات عصاره گیاه *Inula racemosa Hook* در تسکین درد، واسطه گیرنده‌های اوپیوییدی و نیتریک اکساید می‌شود (۲۱). تاکنون مطالعه‌ای در خصوص شناسایی مسیرهای عصبی دخیل در اثرات ضددردی عصاره جلبک قرمز انجام نشده است. در تحقیقی بر تداخل اثر سیستم هیستامینرژیک و عصاره آبی زرشک بر درد ناشی از فرمالین در موشهای صحرایی نر مشخص شد که عصاره آبی زرشک احتمالاً با تقویت قدرت کاهش دهندگی درد توسط گیرنده‌های H_1 هیستامینی اثرات ضددردی خود را اعمال می‌کند (۲۲). در مطالعه‌ای دیگر، تزریق زیر جلدی دکس کلرفنیرآمین و

www.SID.ir

Archive of SID

رانیتیدین باعث کاهش رفتارهای دردی القا شده توسط فرمالین در موش سوری می‌شود(۲۳). اخیر مشخص کرده‌اند که هیستامین مغزی نیز در درک درد نقش دارد، چون تزریق داخل بطن مغزی هیستامین موجب کاهش درد در آزمونهای مکانیکی و حرارتی درد در موشهای سوری و رت شده است. تزریق داخل بطن مغزی هیستامین یک اثر مهاری در کنترل درد ناشی از تزریق کفپایی کاراجینان ایجاد کرده است. به علاوه تزریق داخل بطن مغزی هیستامین موجب کاهش درد ناشی از تزریق کفپایی فرمالین در موشهای سوری شده است (۲٤). تزریق داخل مغزی هیستامین به قشر حسی - پیکری اولیه اثرات ضد دردی را در مرحله اول و دوم درد فرمالینی ایجاد کرد، درحالیکه پیش تیمار با کلرفنیرآمین و رانیتیدین، اثرات ضد دردی ناشی از هیستامین را مهار کردند و این نشان می‌دهد که در قشر حسی پیکری اولیه، هیستامین از طریق گیرنده‌های H_1 و H_2 پس سیناپسی، درد ناشی از فرمالین را تعدیل میکند .در سطح فوق نخاعی، تزریق توأم تملاستین و تیوتیدین، همراه با هیستامین به قشر دور قناتی خاکستری، آنالژزی ناشی از هیستامین را در تست صفحه داغ در موش‌ها می‌شود (۲۵). به نظر می‌رسد ضددردی جلبک قرمز از طریق مسیرهای عصبی مشابهی با این گزارش میانجی‌گری می‌شود.

همانطور که در نتایج دیده می‌شود، فلومازنیل + عصاره جلبک قرمز بطور معنی‌داری موجب کاهش اثرات ضد دردی عصاره جلبک قرمز شد. تزریق سیپروهپتادین + عصاره جلبک قرمز بطور معنی‌داری موجب تقویت اثرات ضد دردی عصاره جلبک قرمز شد. میانجی‌های شیمیایی مختلف مانند سروتونین، کینین‌ها، گابا و اسیدهای آمینه تحریکی در پاتوژنز التهاب و پاسخ های پردازش درد نقش دارند. بیان شده است که فلاونوییدها و آلکالوییدها ممکن است در تعاملات با سیستم‌های گاباارژیک، سروتونین‌ارژیک و نیتریک اکساید نقش داشته باشند (۲٦). علیرغم مطالعات انجام شده مکانیسم دقیق این اثرات مشخص نشده است و مسیرهایی برای این شواهد پیشنهاد شده است. بعنوان مثال مشخص شده است که بیشتر فلاونوییدها و آلکالوییدها عملکرد کانال های سدیم را مهار می‌کنند و همزمان گیرنده های $GABA_A$ را نیز فعال می‌کنند که به نوبه خود موجب کاهش درد می‌شود (۲۷). همچنین مشخص شده است که گیرنده‌های $GABA_A$ در اثرات ضد اضطراب ط جلبک دریایی قرمز در موش صحرایی نقش دارند (۲). در تحقیقی بر اثر ضد دردی عصاره جلبک دریایی قرمز *Gracilaria* در آسیب مفصل تمپوماندیوبلار ناشی از فرمالین در موش صحرایی مشخص شد که اثرات ضددردی آن از طریق مسیر سروتونین‌ارژیک میانجی‌گری می‌شود. باتوجه به یافته‌ها چنین نتیجه‌گیری می‌شود که جلبک قرمز اثرات ضددردی داشته و احتمالا از طریق مسیرهای اوپیوئیدرژیک، سروتونینرژیک، گاباارژیک و هیستامینرژیک در موش سوری میانجی‌گری می‌شود. هر چند مسیرهای عصبی دخیل در سویه‌های دیگر حیوانی و حتی با تست‌های درد مختلف متفاوت است، لذا پیشنهاد می‌شود اثرات ضددردی جلبک قرمز در سایر حیوانات و با استفاده از تست‌های تکمیلی جهت بهتر مشخص شدن کاربرد بالینی آن به عنوان ترکیب ضدر دردی انجام بشود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از مدیریت و کارشناسان دانشکده دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی نهایت تشکر و قدردانی به عمل می‌آید. این تحقیق بر گرفته از پایان نامه دوره دکتری عمومی دامپزشکی نویسنده اول می‌باشد.

فهرست منابع

1. Chiu IM, Ribeiro F, Woolf CJ. Pain and infection: pathogen detection by nociceptors. Pain. 2016;157(6):1192.
2.

www.SID.ir

Archive of SID

Monteiro VS, Teles FB, Coura CO, Souza RB, de Carvalho Lima CN, da Silva Costa DV, et al. Involvement of the GABAergic system in the anxiolytic effect of sulfated polysaccharides from the red seaweed Gracilaria cornea. Journal of Applied Phycology. 2016;28(3):1997-2004.

3. Fallahzadeh A, Mohammadi S. An investigation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract of Inula helenium on male rats. Journal of Babol University of Medical Sciences. 2016;18(12):57-63.
4. Zarei M, Mohammadi S, Abolhassani N, ASGARI NM. The antinociceptive effects of hydroalcoholic extract of bryonia dioica in male rats. 2015.
5. Izadpanah E, Nikandam F, Moloudi MR, Hassanzadeh K. Evaluation of the analgesic effect of hydroalcoholic extract of Cinnamomum in rats. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2016;21(4):41-8.
6. Zarei M, Mohammadi S, Shahidi S, Fallahzadeh AR. Effects of Sonchus asper and apigenin-7-glucoside on nociceptive behaviors in mice. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research. 2017;5(4):227-37.
7. Ghaffari M, Taheri A, Zobeidinezhad M. In vitro Evaluation of Antibacterial Effect of Ethyl Acetate Extract of Red Algae (Gelidiella acerosa) on Some Gram-positive and Gram-negative Bacteria. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences. 2016;15(3):209-22.
8. Ma J, Yu H, Liu J, Chen Y, Wang Q, Xiang L. Curcumin promotes nerve regeneration and functional recovery after sciatic nerve crush injury in diabetic rats. Neuroscience letters. 2016;610:139-43.
9. Omar H, Shiekh H, Gumgumjee N, El-Kazan M, El-Gendy A. Antibacterial activity of extracts of marine algae from the Red Sea of Jeddah, Saudi Arabia. African Journal of Biotechnology. 2012;11(71):13576-85.
10. Shafaghi M, Salehzadeh A, Moshfegh A. Anticancer effects of Laurencia caspica extract on breast cancer T47D cell line. Aquatics Physiology and Biotechnology. 2016;4(1):69-83.
11. Asmawati A, Hasyim R, Lianingsih A, Ariani D. The difference of anti-inflammatory effect of brown algae extract panida sp. and sargassum sp that is derived from Punaga beach, South Sulawesi. J Dentomaxillofac Sci. 2016;1:116-9.
12. Labuz D, Celik MÖ, Zimmer A, Machelska H. Distinct roles of exogenous opioid agonists and endogenous opioid peptides in the peripheral control of neuropathy-triggered heat pain. Scientific reports. 2016;6:32799.
13. Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. Pain. 1987;30(1):103-14.
14. Abdallah H, Asaad G, Arbid M, Abdel-Sattar E. Anti-inflammatory, Antinociceptive, Antipyretic and Gastroprotective Effects of Calligonum comosum in Rats and Mice. International Journal of Toxicological and Pharmacological Research. 2014;6(2):26-33.
15. Shahin H, Hadis R, Razavi SM. Anti-nociceptive and antioxidant activity of Betaine on Formalin-and Writhing tests induced pain in mice. Behavioural Brain Research. 2020:112699.
16. Hong DD, Hien HM, Anh HTL. Studies on the analgesic and anti-inflammatory activities of Sargassum swartzii (Turner) C. Agardh (Phaeophyta) and Ulva reticulata Forsskal (Chlorophyta) in experiment animal models. African Journal of Biotechnology. 2011;10(12):2308-13.
17. Chaves LdS, Nicolau LAD, Silva RO, Barros FCN, Freitas ALP, Aragão KS, et al. Antiinflammatory and antinociceptive effects in mice of a sulfated polysaccharide fraction extracted from the marine red algae Gracilaria caudata. Immunopharmacology and immunotoxicology. 2013;35(1):93-100.
18. Aragão GF, Nonato DTT, da Ponte EL, Sales JR, Alencar DB, Sampaio SS, et al. Protective effects of ethanolic extract from

www.SID.ir

Archive of SID

the red algae Amansia multifida on experimental inflammation, nociception and seizure experimental models. Acta Scientiarum Biological Sciences. 2016;38(4):465-71.
19. García Delgado N, Frías Vázquez AI, Cabrera Sánchez H, Soto del Valle RM, Sierra Gómez Y, Suárez Alfonso AM. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of methanolic extract from red seaweed Dichotomaria obtusata. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2013;49(1):65-74.
20. Vázquez AIF, Sánchez CMD, Delgado NG, Alfonso AMS, Ortega YS, Sánchez HC. Anti-inflammatory and analgesic activities of red seaweed Dichotomaria obtusata. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2011;47(1):111-8.
21. Zhang S-D, Qin J-J, Jin H-Z, Yin Y-H, Li H-L, Yang X-W, et al. Sesquiterpenoids from Inula racemosa Hook. f. inhibit nitric oxide production. Planta medica. 2012;78(02):166-71.
22. Mojtahedin A, Gholizadeh NikPey M, Hajighahramani S. Interaction of the effect of histaminergic system and aqueous extract of Barberry on formalin-induced pain in male rats. Journal od Animal Enviroment.9(4):85-94.
23. Mojtahedin A. 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. 2016;5:378-83.
24. Salimi S, Tamaddonfard E. Microinjection of histamine and its H3 receptor agonist and antagonist into the agranular insular cortex influence sensory and affective components of neuropathic pain in rats. European journal of pharmacology. 2019;857:172450.
25. Erfanparast A, Tamaddonfard E, Henareh-Chareh F, editors. Central H2 histaminergic and alpha-2 adrenergic receptors involvement in crocetin-induced antinociception in orofacial formalin pain in rats. Veterinary Research Forum; 2020: Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
26. Al-Hariri MT, Abualait TS. Effects of Green Brazilian Propolis Alcohol Extract on Nociceptive Pain Models in Rats. Plants. 2020;9(9):1102.
27. Wang Z-J, Heinbockel T. Essential oils and their constituents targeting the gabaergic system and sodium channels as treatment of neurological diseases. Molecules. 2018;23(5):1061.

www.SID.ir