Archive of SID

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره دهم، شماره سوم، خرداد ۹۵
صفحه ۱۰ الی ۱۸

مقاله پژوهشی
(Original Article)

درگیری گیرنده‌های وانیلوئیدی در خاصیت ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی گلهای حرارت‌دیده پایه ماده گیاه شاهدانه در موش صحرایی

مسعود فریدونی[1*]، بهرام فرهادی‌مقدم[1]، کیهان فرهادی‌مقدم[2]

[1]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

[2]دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: کانابینوئیدهای گیاهی دکربوکسیله با فعال‌سازی گیرنده‌های سیستم اندوکانابینوئیدی در سطح سیستم عصبی مرکزی و بافت‌های محیطی، این سیستم را فعال می‌کنند. در این تحقیق اثر برهمکنش کانابینوئیدهای گیاهی دکربوکسیله با کپسایسین در سطح مرکزی و نالوکسان در سطح سیستمیک بر حجم ادم التهابی پا ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین بررسی شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (۲۵۰-۲۰۰گرم) استفاده گردید. برای بررسی اثر برهمکنش با سیستم اوپیوئیدی، عصاره هیدروالکلی گیاه (دوز ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم)، نالوکسان (دوز ۲ میلی‌گرم برکیلوگرم) و همزمان عصاره و نالوکسان به‌صورت درون صفاقی تجویز شدند، برای بررسی اثر برهمکنش با سیستم وانیلوئیدی، عصاره (دوز ۰/۰۱ میلی‌گرم بر۱۰ میکرولیتر)، کپسایسین (دوز ۰/۰۰۲ میلی‌گرم بر۱۰ میکرولیتر) و همزمان عصاره و کپسایسین به‌صورت نخاعی تجویز شدند. حجم پا قبل از تجویز و یک‌ساعت پس از تزریق کف پایی فرمالین، به روش پلتیسومتری برای سنجش میزان ادم التهابی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: تجویز درون صفاقی عصاره به تنهایی و همراه با نالوکسان، حجم ادم التهابی پا را کاهش داد ($p<0/001$). ازطرفی، کپسایسین منجر به افزایش حجم ادم التهابی شد ($p<0/01$)، اما تجویز نخاعی عصاره به تنهایی و همراه با کپسایسین، حجم ادم التهابی پا را کاهش داد ($p<0/01$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد کانابینوئیدهای دکربوکسیله موجود در عصاره هیدروالکلی با فعال کردن گیرنده‌های CB1 و CB2 و غیرحساس نمودن گیرنده TRPV1، افزایش ادم التهابی ناشی از کپسایسین را کاهش می‌دهند. در مقابل، تجویز نالوکسان اثر کاهشی عصاره را بر ادم التهابی پا آنتاگونیزه نکرده، و این احتمال وجود دارد که تأثیر عصاره، از مسیر گیرنده‌های اپیوئیدی اعمال نشده باشد.

کلید واژه‌ها: شاهدانه؛ گیرنده‌های کانابینوئیدی؛ نالوکسان؛ کپسایسین.

*نویسنده مسئول مکاتبات:
مسعود فریدونی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
fereidoni@um.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۲۷

تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۱۸

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Fereidoni M, Farhadi Moghaddam B, Farhadi Moghaddam K. Involvement of vanilloid receptors in the Anti-inflammatory effect of hydroalcoholic extract of heated female *Cannabis sativa* flowers in rat. Qom Univ Med Sci J 2016;10(3):10-18.[Full Text in Persian]

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:19 IRDT on Monday June 13th 2016

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:19 IRDT on Monday June 13th 2016

کانابینوئیدهای گیاهی، گروهی از کانابینوئیدها هستند که به میزان زیادی در گلهای پایه ماده گیاه شاهدانه تولید می‌شوند و اصلی‌ترین آنها THCA (Tetrahydrocannabinolic Acid) و CBDA (Cannabidiolic Acid) می‌باشد (۱). این ترکیبات غیرقطبی در گیاه به فرم کربوکسیلیک اسید تولید می‌شوند (۲). کانابینوئیدها اثرات خود را با فعال کردن سیستم اندوکانابینوئیدی از طریق اتصال به گیرنده‌های کانابینوئیدی CB1 و CB2، همچنین اتصال به گیرنده‌های غیرکانابینوئیدی TRPV1 (Transient Receptor Potential Vanilloid 1)، PPARs (Peroxisome Proliferator Activated Receptor) و GPR55، GPR119 (Orphan G Protein Coupled Receptor) اعمال می‌کنند (۴،۳). یافته‌های حاصل از تحقیقات پیشین، بیانگر حضور و فعالیت سیستم اندوکانابینوئیدی در سطح سیستم عصبی مرکزی (۵،۴) و اعمال اثرات فیزیولوژیکی این سیستم، هم به‌صورت مستقیم و هم در برهمکنش با سایر سیستم‌ها از قبیل سیستم‌های اپیوئیدی (۶)، وانیلوئیدی (۷)، سروتونینی (۸) و دوپامینی (۹) می‌باشد. با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر و نتایج پژوهش پیشین در مورد اثر تجویز درون صفاقی عصاره هیدروالکلی گلهای حرارت‌دیده (دوز ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) و گلهای حرارت‌ندیده پایه ماده گیاه شاهدانه بر ادم التهابی پا ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین، این فرضیه مطرح است که تجویز نخاعی عصاره هیدروالکلی گلهای پایه ماده گیاه شاهدانه ممکن است موجب کاهش حجم ادم التهابی پا، ناشی از تزریق فرمالین گردد. از طرفی، مطالعات نشان می‌دهد کپسایسین به‌عنوان آگونیست کانال‌های کاتیونی دریچه‌دار TRPV1، به‌واسطه اثراتی که در سطح شاخ پشتی نخاع اعمال می‌کند منجر به بروز پاسخ‌های التهابی می‌شود (۱۰).

این ماده با فعال کردن گیرنده‌های TRPV1 روی فیبرهای آوران Aδ و C موجب افزایش ورود کاتیون‌های سدیم و کلسیم به درون نورون و افزایش حساسیت و تحریک‌پذیری فیبرهای عصبی می‌گردد که منجر به آزادسازی میانجی‌های پپتیدی التهابی همچون ماده P و CGRP (Calcitonin Gene Related Peptide) می‌شود (۱۱).

به‌همین منظور برای یافتن مکانیسم اثر عصاره هیدروالکلی گلهای حرارت‌دیده پایه ماده گیاه شاهدانه بر ادم التهابی از طریق گیرنده‌های TRPV1 در سطح مرکزی، از کپسایسین استفاده شد. همچنین به‌منظور بررسی برهمکنش احتمالی اثر عصاره و سیستم اپیوئیدی بر ادم التهابی، از نالوکسان (Naloxone) به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های اوپیوئیدی (۶) استفاده گردید. در این مطالعه اثرات برهمکنشی تجویز درون صفاقی این عصاره (با دوز ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) به همراه نالوکسان، همچنین اثر تجویز نخاعی عصاره با غلظت معادل دوز ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به تنهایی و به همراه کپسایسین بر ادم التهابی پا، ناشی از تزریق فرمالین مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

در این پژوهش تجربی، از ۷۰ رأس موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در حیوانخانه گروه زیست‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد در شرایط استاندارد (با درجه حرارت ۲۱ درجه سانتیگراد، رطوبت ۵۰٪ و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و امکان دسترسی آزاد به آب و غذای کافی)، نگهداری شدند. موش‌ها به‌صورت تصادفی در دو دسته بزرگ به شرح زیر قرار گرفتند:

۱- دربردارنده ۵ گروه ۷تایی شامل: گروه کنترل (بدون تیمار)، گروه شم (دریافت‌کننده حلال شامل: ترکیب اتانول، توئین ۸۰ و سالین به ترتیب با نسبت‌های ۸:۱:۱)، گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی گلهای حرارت‌دیده (دوز ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم)، گروه دریافت‌کننده نالوکسان (دوز ۲ میلی‌گرم برکیلوگرم) (۱۲) و گروه دریافت‌کننده همزمان عصاره هیدروالکلی گلهای حرارت‌دیده و نالوکسان که پس از گذشت ۲۰ دقیقه، عصاره به‌آنها تجویز شد. تمامی تجویزها در این دسته به‌صورت درون صفاقی انجام گرفت.

۲- دربردارنده ۵ گروه ۷تایی شامل: گروه کنترل (جراحی و کانول‌گذاری بدون تیمار)، گروه شم (همچون دسته ۱)، گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی گلهای حرارت‌دیده (غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم بر ۱۰ میکرولیتر، که این غلظت با توجه به وزن تقریبی قطعه کمری نخاع معادل ۰/۲ گرم برای دوز ۵۰ میلی‌گرم

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:19 IRDT on Monday June 13th 2016

برکیلوگرم عصاره، معادل‌سازی شد)، گروه دریافت‌کننده محلول کپسایسین (غلظت ۰/۰۰۲ میلی‌گرم بر ۱۰ میکرولیتر) (۱۳)، گروه دریافت‌کننده همزمان عصاره هیدروالکلی گلهای حرارت‌دیده (دوز ۰/۰۱ میلی‌گرم بر۵ میکرولیتر) و کپسایسین (دوز ۰/۰۰۲ میلی‌گرم بر۵ میکرولیتر) که پس از گذشت ۵ دقیقه عصاره به آنها تجویز شد. تمامی تجویزها در این دسته به‌صورت نخاعی و به حجم ۱۰ میکرولیتر انجام شد. تمامی مراحل انجام آزمایشها تحت مقررات بین‌المللی رعایت حقوق حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت (۱۴).

به‌منظور عصاره‌گیری، از گلهای پایه ماده گیاه شاهدانه که توسط آزمایشگاه بیوسیستماتیک گیاهی تهیه و با کد هرباریومی ۴۴۶۹۰ توسط پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی تأیید و نگهداری شده بود، استفاده گردید. ابتدا گلها عاری از برگ و ساقه شده و جهت خشک شدن در مکانی تاریک و خشک به مدت ۲ هفته نگهداری شدند، سپس برای هر بار عصاره‌گیری، از ماده خشک به میزان ۵۰ گرم استفاده شد. جهت تهیه عصاره هیدروالکلی گلهای حرارت‌دیده، ماده خشک به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۸۰ درجه سانتیگراد در آون حرارت داده شد و در ادامه، با استفاده از اتانول ۷۰٪ و روش ماسراسیون (خیساندن) (۱۵)، عصاره‌گیری شد و سپس توسط کاغذ صافی صاف گردید. پس از عصاره‌گیری، حلال‌ها به‌طور کامل تبخیر شدند.

جهت تجویز نخاعی، کانول‌گذاری در فضای تحت عنکبوتیه براساس روش Yaksh و Rudy انجام گرفت. در این روش ابتدا موش‌ها با تجویز درون‌صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) و زایلازین (۲۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) بیهوش شدند. سپس موهای پشت سر حیوان تراشیده شد و سر در دستگاه استرئوتاکس ثابت گردید. آنگاه در فاصله بین گوش‌ها و به‌طرف پایین، برشی به اندازه ۲ سانتی‌متر ایجاد و عضلات به آرامی کنار زده شدند تا غشای اطلس – اکسی‌پیتال نمایان شود. پس از سوراخ کردن این غشا، یک لوله پلی‌اتیلن ۱۰ (PE10) به طول ۱۱ سانتی‌متر که در فاصله ۸ سانتی‌متری یک طرف آن به‌وسیله پارافیلم، برجستگی کوچکی ایجاد شده بود، به‌آرامی به فضای تحت عنکبوتیه وارد شد؛ به‌طوری‌که انتهای کانول، بین قطعات کمری ۴ و ۵ قرار می‌گرفت. ۳ سانتی‌متر از لوله که خارج از نخاع بود جهت تجویزها استفاده گردید. (شایان ذکر است در هیچ‌یک از حیوانات بعد از کانول‌گذاری نباید نقص حرکتی دیده شود.)

پس از جراحی و کانول‌گذاری و گذشت دوره زمانی ۷-۵ روزه، به‌منظور بهبودی و اطمینان از سالم بودن حیوان، سایر مراحل آزمایشها انجام شد. برای تجویز، از لوله رابط و سرنگ هامیلتون ۵۰ میکرولیتر استفاده گردید (۱۶). جهت سنجش میزان التهاب، حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین سنجش شد. بدین ترتیب ابتدا حجم اولیه پای حیوان به روش پلتیسمومتری دیجیتالی (Plethysmometery) اندازه‌گیری شد. در این روش پای حیوان تا ناحیه مچ، که به‌وسیله ماژیک علامت‌گذاری شده بود، به درون ستون جیوه که روی ترازوی دیجیتالی قرار داشت، فرو برده شد و عدد نشان داده‌شده ثبت گردید. پس از گذشت مدت زمان ۳۰ دقیقه از تجویزهای درون‌صفاقی و ۵ دقیقه از تجویزهای نخاعی، برای القای ادم التهابی، میزان ۰/۰۵ میلی‌لیتر محلول فرمالین ۲/۵٪ به‌صورت زیرجلدی به کف پای حیوان تزریق شد. از آنجایی‌که پس از گذشت ۶۰ دقیقه از تزریق کف پایی فرمالین، میزان ادم التهابی ایجادشده به حداکثر می‌رسد، حجم ثانویه پا پس از گذشت یک‌ساعت مجدداً به روش پلتیسمومتری اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از فرمول محاسباتی زیر، حجم ادم القاشده توسط فرمالین محاسبه گردید (۱۷).

$$\text{حجم ادم التهابی ایجادشده} = \frac{\text{حجم اولیه پا} - \text{حجم ثانویه پا}}{\text{۱۳/۶ (جرم حجمی جیوه)}}$$

نتایج به‌صورت mean±SEM ارائه گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری GraphPad Prism نسخه ۶ و آزمون یک‌طرفه (جهت تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها) و آزمون تی نیومن- کلز استودنت (T-Student-Neumann-keuls) (جهت مقایسه میانگین‌ها) با حداقل سطح معنی‌داری، $p<0/05$ تحلیل شدند.

یافته‌ها

طبق نتایج حاصل از اندازه‌گیری حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین در دسته اول حیوانات، اختلاف معنی‌داری میان گروه‌های کنترل، شم و دریافت‌کننده نالوکسان، به‌تنهایی وجود نداشت.

www.SID.ir

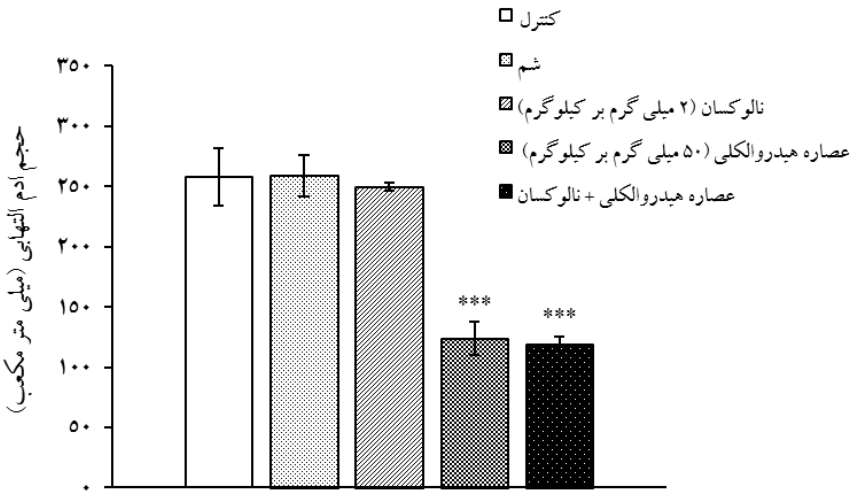
Archive of SID

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:19 IRDT on Monday June 13th 2016

از طرفی، تجویز درون صفاقی عصاره هیدروالکلی گلهای حرارت‌دیده به‌تنهایی در مقایسه با گروه کنترل منجر به کاهش حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین شد (p<۰/۰۰۱)، همچنین حجم ادم التهابی در گروه دریافت‌کننده عصاره و نالوکسان در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌داری یافت (p<۰/۰۰۱). مقایسه نتایج میان گروه دریافت‌کننده عصاره به تنهایی و گروه دریافت‌کننده عصاره و نالوکسان، اختلاف معنی‌داری را در حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین نشان نداد (جدول و نمودار شماره ۱).

جدول شماره ۱: تغییرات حجم ادم التهابی پا ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین بین گروه‌های آزمایش‌شده

گروه‌ها	کنترل	شم	نالوکسان (۲ میلی‌گرم برکیلوگرم)	عصاره هیدروالکلی گیاه (۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم)	عصاره هیدروالکلی + نالوکسان
میانگین ± انحراف از معیار	۲۵۷/۶ ± ۲۴	۲۵۸/۹ ± ۱۷/۱	۲۵۰ ± ۳/۲	۱۲۳/۹ ± ۱۳/۸	۱۱۹ ± ۶/۲



نمودار شماره ۱: مقایسه تغییرات حجم ادم التهابی پا ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین میان گروه‌های کنترل و شم، گروه دریافت‌کننده نالوکسان (۲ میلی‌گرم برکیلوگرم)، دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی گلهای حرارت‌دیده (۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) و دریافت‌کننده عصاره و نالوکسان.
تجویز درون صفاقی عصاره به تنهایی و به همراه نالوکسان منجر به کاهش حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین شده است.
داده‌ها به‌صورت mean±SEM ارائه شده‌اند. (n=۷) و (p<۰/۰۰۱*) در مقایسه با گروه کنترل).**

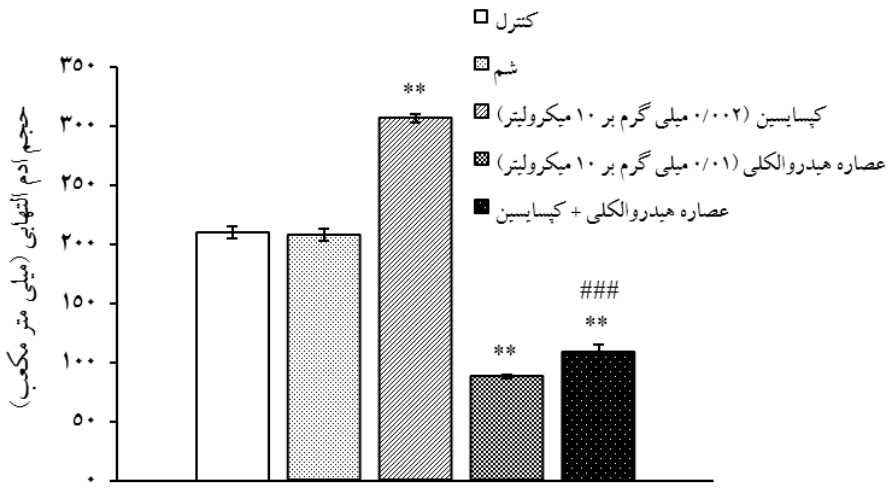
براساس نتایج حاصل از آزمون پلتیسمومتری در دسته دوم حیوانات، حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین در گروه کنترل و شم، تفاوت معنی‌داری نداشت، اما تجویز نخاعی کپسایسین به تنهایی (۰/۰۰۲ میلی‌گرم بر۱۰ میکرولیتر)، منجر به افزایش حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین در مقایسه با گروه کنترل گردید (p<۰/۰۱). از طرفی، تجویز نخاعی غلظت معادل عصاره هیدروالکلی گلهای حرارت‌دیده به‌تنهایی (۰/۰۱ میلی‌گرم بر۱۰ میکرولیتر) منجر به کاهش معنی‌داری در حجم ادم التهابی القاشده به‌وسیله تزریق کف‌پایی فرمالین در مقایسه با گروه کنترل شد (p<۰/۰۱). همچنین تجویز نخاعی عصاره (۰/۰۱ میلی‌گرم بر۵ میکرولیتر) به همراه کپسایسین (۰/۰۰۲ میلی‌گرم بر۵ میکرولیتر) سبب کاهش معنی‌داری در حجم ادم التهابی القاشده به‌وسیله تزریق کف‌پایی فرمالین در مقایسه با گروه کنترل (p<۰/۰۱) و گروه دریافت‌کننده کپسایسین به تنهایی گردید (p<۰/۰۰۱)، (جدول و نمودار شماره ۲).

جدول شماره ۲: تغییرات حجم ادم التهابی پا ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین بین گروه‌های آزمایش‌شده

گروه‌ها	کنترل	شم	کپسایسین (۰/۰۰۲ میلی‌گرم بر ۱۰ میکرولیتر)	عصاره هیدروالکلی گیاه (۰/۰۱ میلی‌گرم بر ۱۰ میکرولیتر)	عصاره هیدروالکلی+کپسایسین
میانگین ± انحراف از معیار	۲۱۰±۵	۲۰۷/۷±۴/۸	۳۰۶/۳±۳/۸	۸۸/۲±۱/۳	۱۰۸/۳±۶/۴

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار شماره ۲: مقایسه تغییرات حجم ادم التهابی پا ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین میان گروه‌های کنترل، شم، گروه دریافت‌کننده کپسایسین (۰/۰۰۲ میلی‌گرم بر ۱۰ میکرولیتر)، دریافت‌کننده غلظت معادل عصاره هیدروالکلی گلهای حرارت‌دیده (۰/۰۱ میلی‌گرم بر ۱۰ میکرولیتر) و دریافت‌کننده عصاره و کپسایسین. تجویز نخاعی کپسایسین منجر به افزایش حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین شده است، درحالی‌که تجویز نخاعی عصاره به تنهایی و به همراه کپسایسین منجر به کاهش حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین شده است. داده‌ها به‌صورت mean±SEM ارائه شده‌اند. (n=۷) و (p<۰/۰۱) در مقایسه با گروه کنترل و p<۰/۰۰۱ ### در مقایسه با گروه دریافت‌کننده کپسایسین به تنهایی).**

بحث

مطالعات پیشین حاکی از آن است که فعال شدن گیرنده‌های کانابینوئیدی CB1 و CB2 متصل به G پروتئین، در اثر اتصال کانابینوئیدها در پایانه پیش‌سیناپسی، فعالیت آنزیم آدنیلیل سیکلاز را مهار می‌کند و درپی آن، میزان AMP حلقوی (cAMP) کاهش و PKA نیز مهار می‌شود. در نتیجه، این وقایع منجر به کاهش فسفریلاسیون کانال‌های پتاسیمی نوع A و باز شدن این کانال‌ها به همراه کانال‌های پتاسیمی GIRK (کانال‌های پتاسیمی یک‌سویه که به G پروتئین جفت شده‌اند) می‌گردد، همچنین با مهار کانال‌های دریچه‌دار وابسته به ولتاژ کلسیمی L, P/Q, N، خروج پتاسیم را زیاد و ورود کلسیم را کاهش می‌دهد که از این طریق می‌تواند بر آزادسازی میانجی‌هایی همچون گلوتامات، استیل‌کولین و نورآدرنالین اثرگذار بوده و آنها را کاهش دهد (۴،۵). یافته‌های پیشین نشان داده است کانابینوئیدهای گیاهی در اثر حرارت دیدن، دکربوکسیله شده و تغییر ساختار می‌دهند، به‌عنوان مثال می‌توان به THCA و CBDA اشاره کرد که در اثر حرارت به ترتیب به THC (Tetrahydrocannabinol) و CBD (Cannabidiol) تبدیل می‌شوند. معمولاً فرم دکربوکسیله، فرم فعال کانابینوئیدهای گیاهی محسوب می‌شود (۲). عصاره هیدروالکلی گلهای حرارت‌دیده پایه ماده گیاه شاهدانه حاوی کانابینوئیدهای دکربوکسیله می‌باشد که احتمالاً از طریق همین کانابینوئیدها و مکانیسم‌های وابسته به آنها می‌تواند اثرات خود را بر فرآیند التهاب اعمال کند. در ریشه پشتی نخاع که منبع آوران‌های ورودی به نخاع است، هر دو نوع گیرنده CB1 و CB2 حضور دارند. فرمالین می‌تواند با تحریک گیرنده‌های محیطی فیبرهای عصبی C و Aδ در ریشه پشتی نخاع موجب آزادسازی میانجی‌های التهابی ماده P و CGRP همراه با گلوتامات گردد. این ترکیبات پس از آزاد شدن، نورون‌های پس‌سیناپسی خود را در شاخ پشتی نخاع تحریک می‌کنند (۱۸). همچنین یافته‌های دیگر مطالعات نشان می‌دهد در زمان بروز التهاب و با افزایش عوامل پیش‌برنده التهاب، نظیر سیتوکاین‌ها و برخی از اینترفرون‌ها، بیان گیرنده CB2 حاضر بر سطح سلول‌های ایمنی B، T، ماستوسیت‌ها، ماکروفاژها و میکروگلیای نخاع افزایش می‌یابد که با اتصال کانابینوئیدهای دکربوکسیله، این گیرنده‌ها فعال و با مهار تولید گروهی از عوامل التهابی، پاسخ‌های التهابی را مهار می‌کنند (۱۹). علاوه بر این، ترکیباتی نظیر فرمالین باعث القای بیان ژن پروتئین Fos در شاخ پشتی ناحیه کمری نخاع می‌گردند، Fos پروتئینی است که می‌تواند منجر به پیشرفت التهاب گردد و به‌عنوان یک مارکر در فرآیند التهاب نیز شناخته می‌شود. احتمالاً کانابینوئیدهای دکربوکسیله با فعال‌نمودن گیرنده CB2 موجب

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:19 IRDT on Monday June 13th 2016

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:19 IRDT on Monday June 13th 2016

مهار آزادسازی میانجی‌های التهابی، سرکوب بیان ژن پروتئین Fos، همچنین مهار تولید فاکتور رشد عصبی از ماست‌سل‌ها و تجمع نوتروفیل‌ها در محل التهاب می‌شود (۲۰). در پایانه فیبرهای عصبی C و Aδ در شاخ پشتی نخاع، گیرنده‌های CB1 و TRPV1 حضور دارند که فعال‌سازی CB1 فعالیت TPRV1 را تعدیل می‌کنند (۷). کپسایسین با فعال کردن گیرنده‌های TRPV1 موجب افزایش ورود یون‌های کلسیم و سدیم، افزایش تحریک‌پذیری و حساس نمودن فیبرهای آوران می‌شود که نتیجه آن افزایش آزادسازی گلوتامات است. گلوتامات با فعال کردن گیرنده‌های خود موجب آزادسازی پپتیدهای التهابی P و CGRP شده که با فعال‌سازی گیرنده‌های نوروکینین، به‌ویژه نوروکینین ۲ همراه است، همچنین سلول‌های اندوتلیال و ایمنی را فعال و منجر به اتساع عروق و التهاب می‌گردد (۱۰،۲۱). از طرفی، گلوتامات با فعال کردن گیرنده‌های خود بر روی اینترنورون‌های گاباارژیک در سطح نخاع منجر به افزایش آزادسازی میانجی گاما- آمینوبوتریک اسید (GABA) و فعال‌سازی گیرنده GABAa می‌شود. این افزایش فعالیت گیرنده‌های گابا باعث ایجاد فرآیندی در سطح نخاع کمری به‌نام رفلکس ریشه پشتی (Dorsal Root Reflex, DRR) شده که در آن به‌واسطه خروج یون کلر از گیرنده GABAa فعال‌شده، دپلاریزاسیون شدیدی در فیبرهای آوران صورت گرفته و درپی آن آزادسازی پپتیدهای التهابی انجام می‌شود (۱۰). کپسایسین با فعال‌سازی cAMP، پروتئین کینازها را فعال کرده که منجر به افزایش بیان آنزیم‌های COX2 و تولید پروستاگلاندین E می‌شود (۷)، همچنین فسفریلاسیون کانال‌های کلسیمی موجب افزایش ورود یون کلسیم به سلول می‌گردد. یون کلسیم نیز اگزوسیتوز میانجی‌های التهابی را افزایش می‌دهد (۱۰). بنابراین، تجویز نخاعی کپسایسین از مسیرهای یادشده می‌تواند منجر به ایجاد پاسخ‌های التهابی شدید گردد که نتایج این پژوهش نیز آن را تأیید می‌کند.

کانابینوئیدها با فعال نمودن گیرنده CB1، از راههای مختلفی می‌توانند التهاب ناشی از فعالیت گیرنده‌های TRPV1 را کاهش دهند: اولاً با مهار تولید cAMP، مسیر فعالیت کپسایسین به‌واسطه TRPV1 را مختل می‌کنند (۷)، و ثانیاً با کاهش فسفریلاسیون کانال‌ها، خروج یون پتاسیم از سلول افزایش یافته و ورود یون کلسیم از کانال‌های کلسیمی کاهش می‌یابد که منجر به کاهش تحریک‌پذیری و اگزوسیتوز میانجی‌های مؤثر در التهاب (گلوتامات، گابا، P ،CGRP) از فیبرهای آوران در سطح نخاع می‌گردد (۷). علاوه بر این اثرات، کانابینوئیدها به‌طور مستقیم با اتصال به گیرنده‌های TRPV1، این گیرنده‌ها را در سطح نخاع، غیرحساس می‌کنند (۲۲). بدین ترتیب احتمالاً کانابینوئیدهای دکربوکسیله موجود در عصاره هیدروالکلی گلهای حرارت‌دیده می‌توانند در سطح نخاع با فعال نمودن گیرنده‌های CB2، ادم التهابی پا را کاهش دهند، و با اثر مستقیم و غیرمستقیم بر گیرنده‌های TRPV1، افزایش ادم التهابی پا در اثر کپسایسین را مهار کنند.

با توجه به اینکه کانابینوئیدها و اپیوئیدها اثرات مشابهی را بر فرآیندهایی از قبیل درد اعمال می‌کنند (۲۳)، در برخی از تحقیقات نیز برهمکنش دو سیستم کانابینوئیدی و اپیوئیدی در سطح گیرنده‌های CB1 و μ اپیوئیدی گزارش شده است (۶). در این تحقیق به بررسی اثر این دو سیستم بر ادم التهابی پرداخته شد که با توجه به یافته‌های حاصل می‌توان بیان کرد اثرات کانابینوئیدهای موجود در عصاره به‌وسیله نالوکسان (آنتاگونیست اپیوئیدی)، آنتاگونیزه نشده است. پس احتمالاً کانابینوئیدهای عصاره از طریق سیستم اپیوئیدی بر کاهش حجم پای ناشی از تزریق کف پایی فرمالین اثرگذار نبوده‌اند. لازم به ذکر است که برخی از تحقیقات نیز به این عدم تأثیر اشاره داشته‌اند (۱۱).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد کانابینوئیدهای گیاهی دکربوکسیله‌شده موجود در عصاره هیدروالکلی گلهای حرارت‌دیده در سطح نخاعی و سیستمیک، با فعال کردن گیرنده‌های کانابینوئیدی CB1 و CB2 و مهار فعالیت گیرنده‌های TRPV1 موجب کاهش حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین شده است که بیانگر برهمکنش دو سیستم اندوکانابینوئیدی و وانیلوئیدی در مسیر التهاب است. در مقابل، این احتمال مطرح است که اثر کانابینوئیدها بر التهاب به‌واسطه سیستم اپیوئیدی نمی‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:19 IRDT on Monday June 13th 2016

References:

1. Robson PJ. Therapeutic potential of cannabinoid medicines. Drug Test Anal 2014;6(1-2):24-30.

2. Takeda S, Misawa K, Yamamoto I, Watanabe K. Cannabidiolic acid as a selective cyclooxygenase-2 inhibitory component in cannabis. Drug Metab Dispos 2008;36(9):1917-21.

3. Haj-Dahmane S, Shen RY. Modulation of the serotonin system by endocannabinoid signaling. Neuropharmacology 2011;61(3):414-20.

4. Svízenská I, Dubový P, Sulcová A. Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures--a short review. Pharmacol Biochem Behav 2008;90(4):501-11.

5. Sidhpura N, Parsons LH. Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity and addiction-related behavior. Neuropharmacology 2011;61(7):1070-87.

6. Schoffelmeer AN, Hogenboom F, Wardeh G, De Vries TJ. Interactions between CB1 cannabinoid and mu opioid receptors mediating inhibition of neurotransmitter release in rat nucleus accumbens core. Neuropharmacology 2006;51(4):773-81.

7. Oshita K, Inoue A, Tang HB, Nakata Y, Kawamoto M, Yuge O. CB(1) cannabinoid receptor stimulation modulates transient receptor potential vanilloid receptor 1 activities in calcium influx and substance P release in cultured rat dorsal root ganglion cells. J Pharmacol Sci 2005;97(3):377-85.

8. Egashira N, Matsuda T, Koushi E, Mishima K, Iwasaki K, Shoyama Y, et al. Involvement of 5-hydroxytryptamine1A receptors in Delta9-tetrahydrocannabinol-induced catalepsy-like immobilization in mice. Eur J Pharmacol 2006;550(1-3):117-22.

9. Roser P, Gallinat J, Weinberg G, Juckel G, Gorynia I, Stadelmann AM. Psychomotor performance in relation to acute oral administration of Delta9-tetrahydrocannabinol and standardized cannabis extract in healthy human subjects. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 2009;259(5):284-92.

10. Lin Q, Wu J, Willis WD. Dorsal root reflexes and cutaneous neurogenic inflammation after intradermal injection of capsaicin in rats. J Neurophysiol 1999;82(5):2602-11.

11. Ko MC, Woods JH. Local administration of delta9-tetrahydrocannabinol attenuates capsaicin-induced thermal nociception in rhesus monkeys: A peripheral cannabinoid action. Psychopharmacology (Berl) 1999;143(3):322-6.

12. Zamani N, Hassanian-Moghaddam H, Bayat AH, Haghparast A, Shadnia S, Rahimi M, et al. Reversal of opioid overdose syndrome in morphine-dependent rats using buprenorphine. Toxicol Lett 2014;232(3):590-4.

13. Trevisan G, Rossato MF, Hoffmeister C, Oliveira SM, Silva CR, Matheus FC, et al. Mechanisms involved in abdominal nociception induced by either TRPV1 or TRPA1 stimulation of rat peritoneum. Eur J Pharmacol 2013;714(1-3):332-44.

14. Zimmermann M. Ethical considerations in relation to pain in animal experimentation. Acta Physiol Scand Suppl 1986;554:221-33.

15. Makkizadeh Tafti M, Farhoudi R, Rabii M, Rastifar M. Evaluation allelopathic effect of Hemp (Cannabis sativa L.) on germination and growth of three kinds of weeds. Crop Physiol 2011;3(11):77-89. [Full Text in Persian]

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

17. 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.

18. Lever IJ, Malcangio M. CB(1) receptor antagonist SR141716A increases capsaicin-evoked release of Substance P from the adult mouse spinal cord. Br J Pharmacol 2002;135(1):21-4.

www.SID.ir

Archive of SID

19. Maresz K, Carrier EJ, Ponomarev ED, Hillard CJ, Dittel BN. Modulation of the cannabinoid CB2 receptor in microglial cells in response to inflammatory stimuli. J Neurochem 2005;95(2):437-45.

20. Nackley AG, Makriyannis A, Hohmann AG. Selective activation of cannabinoid CB(2) receptors suppresses spinal fos protein expression and pain behavior in a rat model of inflammation. Neuroscience 2003;119(3):747-57.

21. Beirith A, Santos AR, Calixto JB. The role of neuropeptides and capsaicin-sensitive fibres in glutamate-induced nociception and paw oedema in mice. Brain Res 2003;969(1-2):110-6.

22. Maione S, Piscitelli F, Gatta L, Vita D, De Petrocellis L, Palazzo E, et al. Non-psychoactive cannabinoids modulate the descending pathway of antinociception in anaesthetized rats through several mechanisms of action. Br J Pharmacol 2011;162(3):584-96.

23. Cichewicz DL, McCarthy EA. Antinociceptive synergy between delta (9)-tetrahydrocannabinol and opioids after oral administration. J Pharmacol Exp Ther 2003;304(3):1010-5.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:19 IRDT on Monday June 13th 2016

www.SID.ir

Archive of SID

Original Article

Involvement of Vanilloid Receptors in the Anti-inflammatory Effect of Hydroalcoholic Extract of Heated Female Cannabis sativa Flowers in Rat

Masoud Fereidoni[1], Bahram Farhadi Moghaddam[2], Keyhan Farhadi Moghaddam[3]*

[1]*Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.*

[2]*Faculty of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences; Zahedan, Iran.*

[*]***Corresponding Author:***
Masoud Fereidoni,
Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Email:
fereidoni@um.ac.ir

Received: 16 Apr, 2015

Accepted: 9 Sep, 2015

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:19 IRDT on Monday June 13th 2016

Abstract

Background and Objectives: Decarboxylated phytocannabinoids activate endocannabinoid system in the central nervous system and peripheral tissues via activation of cannabinoid receptors. In this investigation, the effect of interaction between decarboxylated phytocannabinoids and capsaicin at the central level and naloxone at the systemic level, was investigated on inflammatory rat paw edema induced by by sub-plantar injection.

Methods: In this experimental study, male Wistar rats (200-250g) were used. To study the effect of interaction with opioid system, intraperitoneal administration of hydroalcoholic extract (dose, 50mg/kg), naloxone (dose, 2mg/kg) and co-administration of the extract and naloxone were performed. To investigate the effect of interaction with vanilloid system, intrathecal administration of extract (0.01mg/10µl), capsaicin (0.002mg/10µl) and co-administration of extract and capsaicin were performed. Paw volume was measured before and one hour after sub-plantar administration of formalin using plethysmometer method in order to assess inflammatory edema.

Results: Intraperitoneal administration of extract alone or in combination with naloxone reduced the inflammatory rat paw edema volume ($p<0.001$). On the other hand, capsaicin increased rat paw edema volume ($p<0.01$), but intrathecal administration of extract alone and in combination with capsaicin decreased the inflammatory rat paw edema volume ($p<0.01$).

Conclusion: The results of this study showed that decarboxylated cannabinoids in hydroalcoholic extract decrease the capsaicin-induced inflammatory rat paw edema through activation of CB1 and CB2 receptors and desensitization of TRPV1 receptor. On the contrary, administration of naloxone has not antagonized the reduction effect of extract on inflammatory paw edema, and it is likely that the effect of the extract has not exerted through opioid receptors.

Keywords: *Cannabis sativa*; Receptors, Cannabinoid; Naloxone; Capsaicin.

www.SID.ir