مقاله پژوهشی

اثرات تسکین‌دهنده درد سیلی مارین و تداخل عمل آن با گیرنده‌های H_1 هیستامینی در موش‌های صحرایی

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

۱- گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲- بخش فیزیولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۹/۲۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۱۲/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: سیلی مارین ماده مؤثره گیاه خار مریم بوده که در طب سنتی به اثرات درمانی آن اشاره‌شده است؛ اما پژوهش‌های اندکی در مورد اثر ضد دردی و مکانیسم عمل آن انجام‌گرفته است؛ بنابراین در تحقیق حاضر اثرات تسکین‌دهنده درد سیلی مارین با استفاده از آزمون فرمالین با تأکید بر سیستم نوروترنس میتری هیستامینرژیک در موش‌های صحرایی بررسی گردید.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰- ۲۲۰ گرم در محدوده سنی ۱۴-۱۲ هفته در گروه‌های ۶ تایی در ۷ گروه شامل: گروه شاهد (سالین نرمال+ فرمالین ۱٪ کف‌پایی)، ۴ گروه تیمار با سیلی مارین (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم)، ۱ گروه تیمار با کلرفنیرآمین (۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم)، ۱ گروه پیش تیمار با کلرفنیرآمین (۲۰ میلی‌گرم) + سیلی مارین (۲۰۰ میلی‌گرم) تقسیم شدند. جهت ارزیابی درد پیکری از آزمون فرمالین استفاده گردید. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد.

نتایج: تزریق داخل صفاقی سیلی مارین به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) موجب کاهش پاسخ درد در هر دو مرحله اول و دوم درد فرمالینی گردید. پیش تیمار با کلرفنیرآمین و سپس سیلی مارین موجب تقویت پاسخ ضد دردی سیلی مارین در هر دو مرحله اول و دوم درد فرمالینی گردید ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: سیلی مارین اثرات ضد دردی داشته که احتمالاً این اثرات با به‌کارگیری سیستم هیستامینی ایجاد می‌شود.

کلمات کلیدی: گیاه خار مریم، تسکین درد، سیلی مارین، سیستم هیستامینرژیک، موش صحرایی

مقدمه

درد احساسی نامطلوب است که در اثر آسیب وارده به بافت‌های مختلف ایجاد می‌شود. درد به‌عنوان عامل هشداردهنده‌ای است که وجود و یا احتمال وجود خطر را در یک عضو نشان می‌دهد. در طی بررسی به‌عمل‌آمده توسط انجمن درد آمریکا، فقط در آمریکا پنجاه میلیون نفر در سنین مختلف از درد رنج می‌برند که برای کنترل کردن درد آن‌ها بیش از ۱۰۰ میلیون دلار هزینه می‌شود (۱، ۲). درد عمدتاً به دو صورت حاد و مزمن بروز می‌کند که درهرصورت باعث ایجاد مشکلاتی در انسان می‌شود که می‌تواند به‌عنوان یک عامل محدودکننده یا ناتوان‌کننده مانع از انجام فعالیت‌های روزمره شود. به همین علت انسان از زمانی که درد را شناخت در پی یافتن راهی برای علت آن و چگونگی برطرف کردن آن بوده است (۳). حس درد پاسخ یک قسمت و یا کل سیستم عصبی به تحریکات آسیب‌رسان است و شامل چهار روند فیزیولوژیک تبدیل، انتقال، تنظیم و درک سیگنال‌های عصبی است. درروند تبدیل، انرژی محرک آسیب‌رسان در گیرنده‌های درد به فعالیت الکتریکی تبدیل می‌شود. در انتقال، امواج عصبی به‌وسیله سیستم عصب محیطی منتقل می‌شوند. تنظیم از راه سیستم نزولی ضد درد آخرین مرحله در تجربه درد آگاهانه درونی و عاطفی درد بوده و نتیجه آن تغییر رفتار طبیعی حیوان و بروز نشانه‌های درد است (۴). درد درنتیجه آسیب واردشده به بافت و یا در اثر عفونت، باعث ظهور فرآیند التهاب می‌گردد (۵). محرک‌های ایجادکننده درد شامل انواع محرک‌های مکانیکی، حرارتی و شیمیایی هستند. محرک‌های حرارتی و مکانیکی درد حاد یا تند ایجاد می‌کنند، درحالی‌که درد مزمن یا کند به‌وسیله هر سه نوع محرک تولید می‌شود. برخی از مواد شیمیایی که درد ایجاد می‌کنند عبارت‌اند

* **نویسنده مسئول: علی مجتهدین**، بخش فیزیولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران Email: a_mojtahedin@uma.ac.ir

از: برادی کینین، سروتونین، هیستامین، یون پتاسیم، اسیدها، استیل کولین و آنزیم‌های پروتئولیتیک (۶). هیستامین یکی از مونوآمین‌ها بوده که به‌عنوان میانجی عصبی یا تنظیم‌کننده عصبی در مغز پستانداران شناخته‌شده است (۷). شواهد زیادی وجود دارد که هیستامین نقش مهمی در واکنش‌های آلرژیک و التهابی دارد (۸). اخیراً آنتی‌هیستامین‌ها به‌عنوان عوامل کاهش‌دهنده درد موردتوجه قرار گرفته‌اند. چون برخی از آنتی‌هیستامین‌های مهارکننده گیرنده H_1 هیستامین در مدل‌های درمانگاهی و پیش درمانگاهی درد، اثر کاهش‌دهنده درد از خود نشان داده‌اند (۹، ۱۰)، به‌طوری‌که در موش‌های صحرایی تزریق داخل صفاقی مپیرامین (آنتاگونیست گیرنده H_1) موجب کاهش درد ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین شده است (۱۱). همچنین تزریق داخل صفاقی کلرفنیرآمین (آنتاگونیست گیرنده H_1) و سایمتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2) اثرات کاهش‌دهنده درد را در آزمون فرمالین نشان داده است (۹، ۱۲). از طرفی امروزه عمدتاً کنترل درد از طریق مصرف داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی 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 (۱)؛ بنابراین، انجام تحقیق جهت دستیابی به ترکیبات ضد درد با عوارض کمتر، ضروری به نظر می‌رسد. مواد مؤثر موجود در گیاهان به دلیل همراه بودن با سایر ترکیبات در بسیاری موارد از یک حالت متعادل زیستی برخوردار بوده، به‌نحوی‌که در بدن انباشته نشده و درنتیجه اثرات جانبی کمتری بر جای می‌گذارند. این نکته دلیل خوبی بر تحقیقات علوم جدید روی اطلاعات حاصل از طب سنتی را فراهم می‌آورد (۱۳). لذا در سال‌های اخیر بهره‌گیری از طب سنتی و گیاهان دارویی به دلیل دارا بودن خواص متعدد درمانی به‌ویژه کم بودن عوارض جانبی آن‌ها موردتوجه محققین قرار گرفته است. در مسئله درد نیز به خواص کاهنده و یا از بین برنده درد توسط برخی گیاهان توجه شده است. ازاین‌رو طب سنتی و گیاهان دارویی منبع مناسبی جهت یافتن داروهای ضد درد بوده تا از این طریق بتوان جایگزین مناسبی برای داروهای سنتتیک با عوارض جانبی ناخواسته ارائه نمود. در میان گیاهان، گیاه دارویی خار مریم موردتوجه پژوهشگران مختلف قرار گرفته است. این گیاه با نام علمی *Silybum marianum* به‌طور خودرو در کنار جاده‌های متروک اراضی بایر در مناطق مختلف ایران یافت می‌شود. برگ‌های این گیاه بزرگ با کناره‌های دندانه‌ای و خاردار به رنگ سبز شفاف و گل‌های آن لوله‌ای و به رنگ ارغوانی است. ریشه و اندام هوایی آن طعم تلخ و اثر اشتهاآور داشته و در طب سنتی در درمان انواع بیماری‌ها استفاده می‌شود. این گیاه دارای ترکیبات متعدد ازجمله سیلی مارین است (۱۴). در پژوهش‌ها اثرات فارماکولوژیکی مختلفی برای سیلی مارین شناسایی شده است. این اثرات شامل خاصیت آنتی‌اکسیدانی، محافظت کبدی، ضد سرطانی، عامل محافظت نورونی در برابر بیماری‌های عصبی، ضدالتهابی و فعالیت ایمنی است (۱۵-۲۱). در یک پژوهش به اثرات ضد دردی سیلی مارین اشاره شده است (۲۰).

با توجه به مطالب ذکرشده در مورد اثرات درمانی این ماده، بااین‌وجود در تحقیقات محدود صورت گرفته در رابطه با سیلی مارین درزمینه درد به چگونگی اثر ضد دردی و مکانیسم عمل آن به‌ویژه مداخله سیستم‌های نوروترنسمیتری مرتبط با اثر ضد دردی آن اشاره نشده است. لذا هدف از تحقیق حاضر مطالعه اثرات تسکین‌دهنده درد سیلی مارین با استفاده از روش تجربی آزمون فرمالین با تأکید بر سیستم نوروترنسمیتری هیستامینرژیک در موش‌های صحرایی نژاد ویستار است.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در این مطالعه که به‌صورت تجربی انجام گردید از تعداد ۴۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن بین ۲۵۰-۲۲۰ گرم در محدوده سنی ۱۴-۱۲ هفته استفاده شد. حیوانات در گروه‌های ۶ 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 به‌طور آزاد در اختیار حیوانات قرار داده شد.

داروهای مورد استفاده: سالین نرمال، محلول فرمالین ۳۷٪ (مرک-آلمان)، سیلی مارین (شرکت سیگما- آلدریچ آلمان)، کلرفنیرآمین (آنتاگونیست گیرنده H_1 هیستامین). داروها از شرکت سیگما- آلدریچ آلمان تهیه گردید. از سالین نرمال به‌عنوان حلال و رقیق‌کننده داروها استفاده شد.

نحوه ارزیابی درد: برای ایجاد درد در حیوانات از آزمون فرمالین استفاده گردید. حیوانات سه روز متوالی و هرروز ۳۰ دقیقه در دستگاه آینه درد قرار داده شدند. این عمل به‌منظور سازگاری حیوانات با روش کار و کاهش عوامل استرس‌زا انجام

شد. دستگاه آینه درد از یک محفظه شیشه‌ای در ابعاد ۲۵×۳۰×۳۰ سانتی‌متر و یک چهارچوب چوبی تشکیل شده است. در داخل چهارچوب یک آینه با زاویه ۴۵ درجه قرار داده می‌شود. طرز قرار گرفتن آینه باعث مشاهده رفتارهای حیوان متعاقب تزریق کف‌پایی فرمالین و یا سایر مواد درد زا از آینه می‌شود. در روز سوم پس از سازگاری، فرمالین یک درصد به حجم ۵۰ میکرولیتر توسط سرنگ با سرسوزن شماره ۲۹ به‌طور زیر جلدی در کف پای راست حیوان تزریق شد و مدت‌زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق‌شده به‌عنوان پاسخ درد در فواصل زمانی ۵ دقیقه‌ای برای مدت یک ساعت به‌وسیله کرونومتر برحسب ثانیه محاسبه شد (۲۲، ۲۳).

گروه‌های آزمایشی

حیوانات در همه گروه‌ها قبل از انجام آزمایش به مدت سه روز و هرروز به مدت ۳۰ دقیقه با شرایط آزمایشگاه سازگار و آشنا گردیده و در روز سوم تزریقات انجام گردید. همه آزمایش‌ها در بازه زمانی ۹ صبح تا ۱۵ بعدازظهر به ترتیب گروه‌بندی زیر انجام پذیرفت.

۱- گروه ۱ (گروه کنترل): ابتدا سالین نرمال به‌صورت داخل صفاقی تزریق شده و ۳۰ دقیقه بعد تزریق کف‌پایی فرمالین ۱ درصد انجام شده و پاسخ درد به مدت یک ساعت ثبت گردید.

۲- گروه‌های ۲، ۳، ۴ و ۵: به ترتیب مقادیر مختلف سیلی مارین (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت داخل صفاقی تزریق شده و ۳۰ دقیقه بعد تزریق کف‌پایی فرمالین ۱ درصد انجام شده و پاسخ درد به مدت یک ساعت ثبت گردید.

۳- گروه ۶: ابتدا کلرفنیرآمین (آنتاگونیست گیرنده H_1 هیستامین) به مقدار ۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل صفاقی تزریق شده و ۳۰ دقیقه بعد تزریق کف‌پایی فرمالین ۱ درصد انجام شده و پاسخ درد به مدت یک ساعت ثبت گردید.

۴- گروه ۷: ابتدا کلرفنیرآمین (۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت داخل صفاقی تزریق شده و سپس ۱۵ دقیقه پس‌ازآن سیلی مارین (۲۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت داخل صفاقی تزریق گردیده و ۲۰ دقیقه بعد تزریق کف‌پایی فرمالین ۱ درصد انجام شده و پاسخ درد به مدت یک ساعت ثبت گردید.

روش تجزیه‌وتحلیل آماری: داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ۱۹ و آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی دانکن در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ ارزیابی شدند.

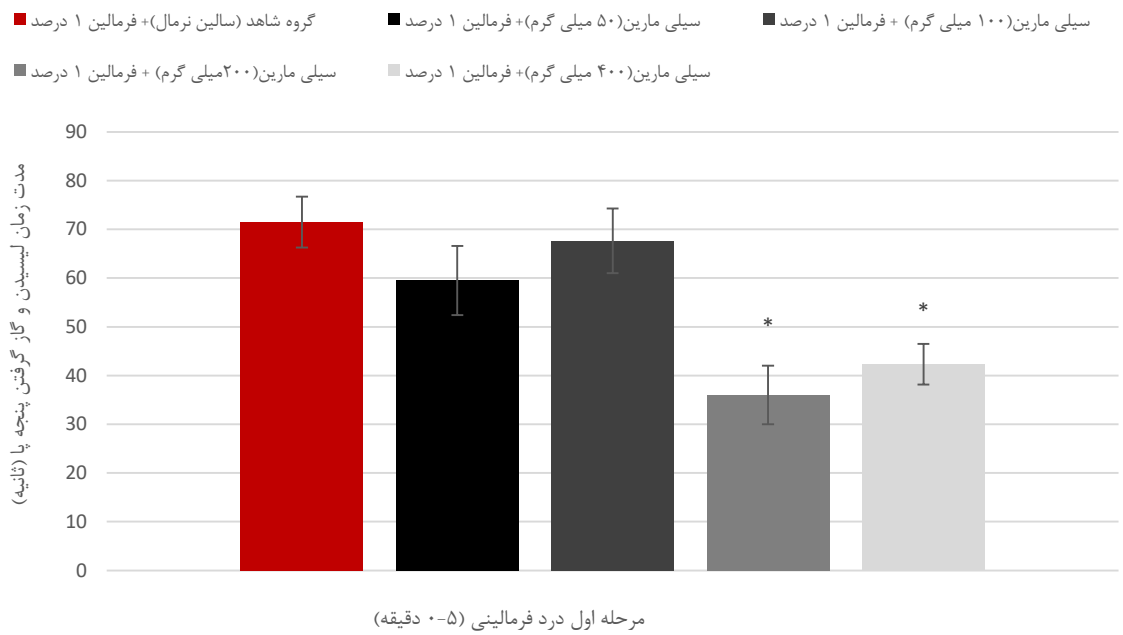
نتایج

در مطالعه حاضر، تزریق کف‌پایی فرمالین ۱ درصد موجب بروز یک پاسخ درد دومرحله‌ای (مرحله اول ۵-۰ دقیقه و مرحله دوم ۴۰-۱۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین) در حیوانات گردید (نمودار ۱ و ۲). تزریق داخل صفاقی سیلی مارین در مقادیر ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش پاسخ درد در هر دو مرحله اول و دوم درد فرمالینی گردید. به‌طوری‌که مقدار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) موجب سرکوب پاسخ‌های درد در هر دو مرحله اول و دوم شد (نمودار ۱ و ۲).

تزریق داخل صفاقی کلرفنیرآمین به مقدار ۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) پاسخ درد فرمالینی در هر دو مرحله اول و دوم گردید (نمودار ۳ و ۴). پیش تزریق کلرفنیرآمین به مقدار ۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن قبل از سیلی مارین به مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم موجب کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) پاسخ‌های درد فرمالینی در هر دو مرحله اول و دوم گردید. به‌طوری‌که در مرحله دوم درد فرمالینی و نه مرحله اول این کاهش پاسخ نسبت به گروه سیلی مارین به‌تنهایی اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) نشان داد (نمودار ۳ و ۴).

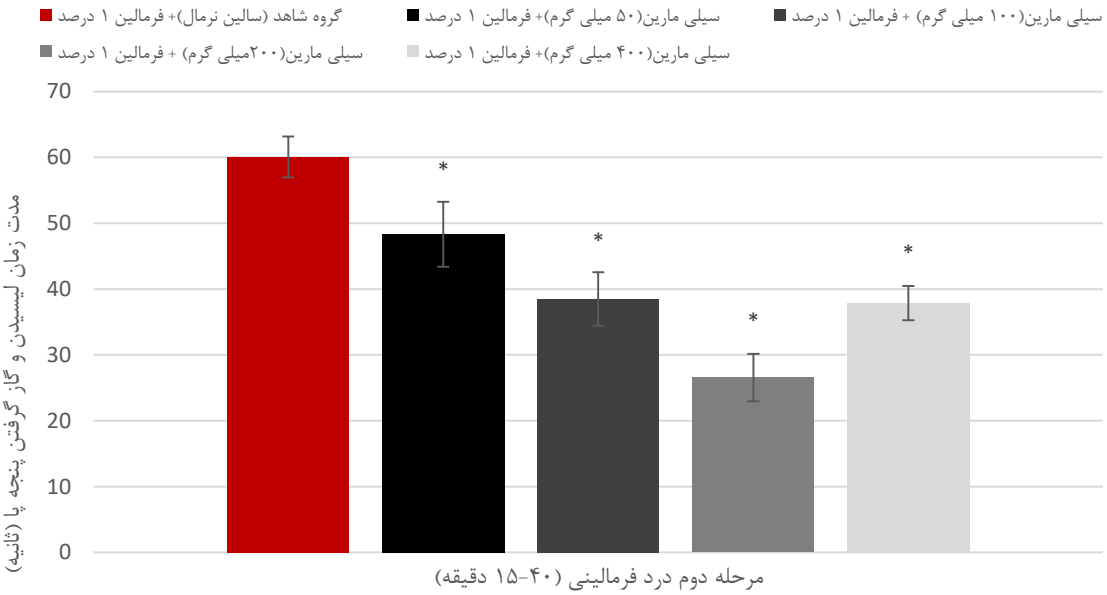
بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر تزریق کف‌پایی فرمالین ۱ درصد موجب بروز یک پاسخ درد با الگوی دومرحله‌ای (مرحله اول ۵-۰ دقیقه و مرحله دوم ۴۰-۱۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین) در حیوانات گردید. در مطالعات مربوط به ایجاد درد، از فرمالین به‌عنوان یک ماده درد زا، در غلظت‌ها و حجم‌های مختلف و در قسمت‌های مختلف بدن به‌طور وسیعی در بررسی دردهای پیکری و احشایی استفاده شده است (۲۴، ۲۵). آزمون فرمالین یک مدل حیوانی مهم در بررسی مکانیسم‌های دردهای التهابی و نوروپاتیک است (۲۶، ۲۷). در این مدل تزریق زیر جلدی فرمالین رقیق‌شده در پنجه پای حیوان رفتار دومرحله‌ای درد ایجاد می‌کند (۲۲، ۲۸ و ۲۹). رفتارهای مرتبط با آزمون فرمالین عمدتاً شامل رفتار



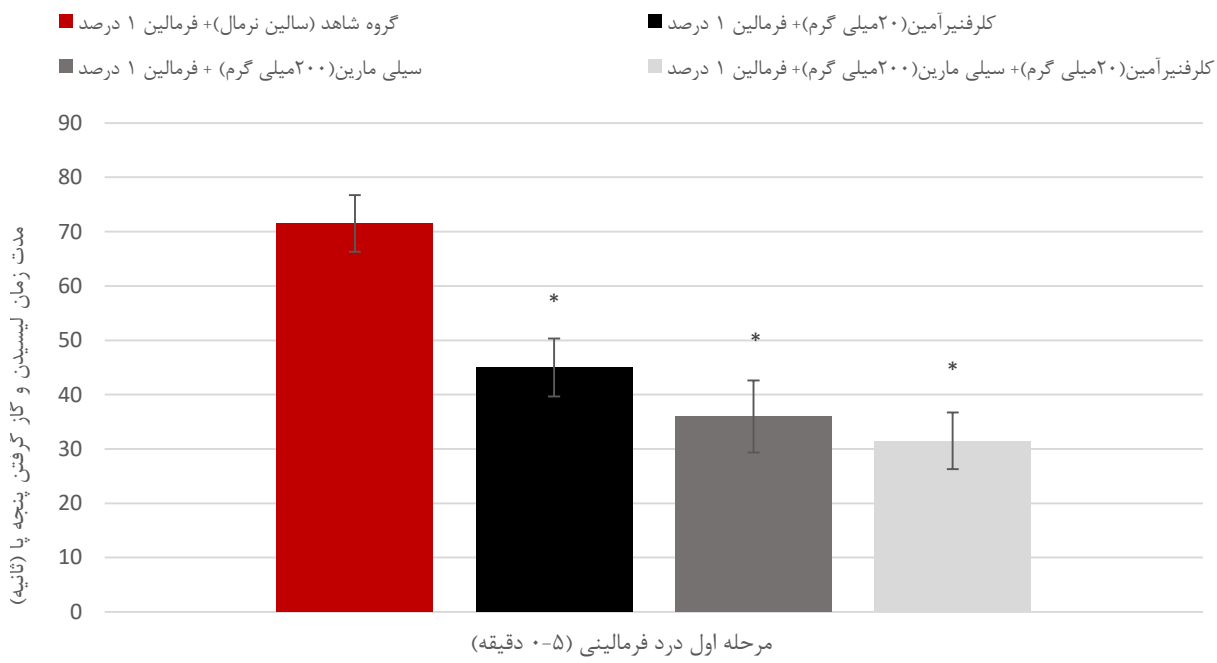
نمودار ۱. اثرات تزریق داخل صفاقی سیلی مارین بر پاسخ مرحله اول درد ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین یک درصد در موش‌های صحرایی.

*) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) نسبت به گروه شاهد. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر بوده و داده‌ها بر مبنای میانگین± انحراف معیار استاندارد بیان شده است.



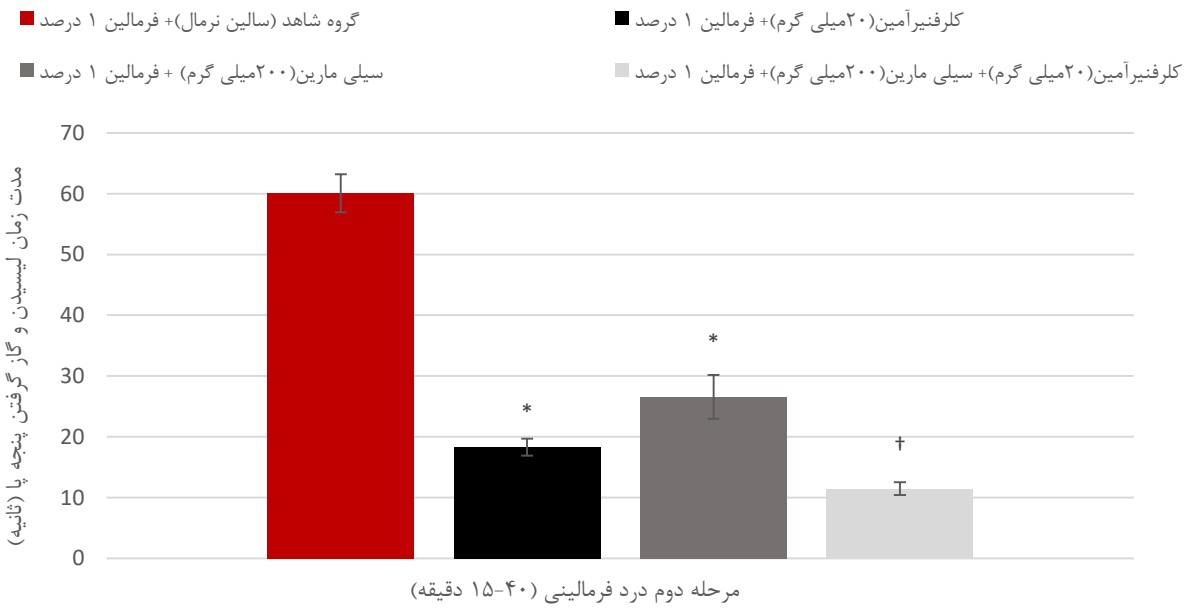
نمودار ۲. اثرات تزریق داخل صفاقی سیلی مارین بر پاسخ مرحله دوم درد ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین یک درصد در موش‌های صحرایی.

*) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) نسبت به گروه شاهد. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر بوده و داده‌ها بر مبنای میانگین± انحراف معیار استاندارد بیان شده است.



نمودار ۳. اثرات تزریق داخل صفاقی سیلی مارین و کلرفنیرآمین بر پاسخ مرحله اول درد ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین یک درصد در موش‌های صحرایی

* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) نسبت به گروه شاهد. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر بوده و داده‌ها بر مبنای میانگین± انحراف معیار استاندارد بیان شده است.



نمودار ۴. اثرات تزریق داخل صفاقی سیلی مارین و کلرفنیرآمین بر پاسخ مرحله دوم درد ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین یک درصد در موش‌های صحرایی

* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) نسبت به گروه شاهد. † نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) نسبت به گروه سیلی مارین به‌تنهایی.
تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر بوده و داده‌ها بر مبنای میانگین± انحراف معیار استاندارد بیان شده است.

لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای مورد تزریق واقع شده است. هرچند که رفتارهای دیگر از قبیل بالا و پایین پریدن حیوان، تکان دادن پنجه پا، تکان دادن دم نیز ممکن است مشاهده شود (۲۶، ۳۵). مرحله اول آزمون فرمالین (درد نوروژنیک) که به مدت ۵ دقیقه به طول می‌انجامد، به‌واسطه اثر مستقیم فرمالین بر روی گیرنده‌های درد (فیبر عصبی نوع C) و فعال شدن آن‌ها و یا از طریق آزاد شدن هیستامین از مجاورت ماست سل‌ها ایجاد می‌شود. هیستامین نیز باعث آزادسازی ماده P و CGRP شده و یک ارتباط دوطرفه بین هیستامین و نوروپپتیدها در التهاب نوروژنیک برقرار می‌شود (۳۷). داروهایی از قبیل اوپیوئیدها که در درجه اول بر روی سیستم عصبی مرکزی اثر می‌کنند، می‌توانند درد را در این مرحله بلوکه کنند (۳۰). مرحله دوم (درد التهابی) درنتیجه اثر مستقیم واسطه‌های التهابی صورت می‌پذیرد و از دقیقه ۱۵ تا ۲۰ بعد از تزریق فرمالین آغاز می‌گردد و تا دقیقه ۶۰ پس از تزریق ادامه می‌یابد. این مرحله وابسته به پاسخ‌های التهابی القاء شده توسط آبشار اسید آراشیدونیک بوده و واسطه‌های التهابی از قبیل پروستاگلاندین‌ها، برادی کینین، هیستامین، TNF –α و اینترلوکین‌ها آزاد می‌شوند. پس از مرحله التهابی درد کاهش یافته و به صفر می‌رسد. تصور بر این است که مرحله دوم به‌واسطه حساسیت مرکزی نورون‌های شاخ خلفی نخاع به‌عنوان نتیجه‌ی عکس‌العمل فیبرهای C در طی مرحله اول صورت می‌پذیرد (۲۹، ۳۲-۳۴). مرحله دوم درد فرمالینی به عملکرد محیطی داروهایی از قبیل داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی و کورتیکواستروئیدها حساس است (۵، ۳۱).

در مطالعات متعدد، آزمون فرمالین در حیواناتی نظیر موش‌های آزمایشگاهی (بزرگ و کوچک)، گربه، خرگوش، خوکچه‌هندی، مرغ خانگی با الگوی دومرحله‌ای نشان داده شده است. باوجوداین در حیواناتی مثل خرگوش و گوسفند پاسخ درد ناشی از تزریق فرمالین به‌صورت یک مرحله‌ای گزارش شده است (۲۹، ۳۶). بدین ترتیب نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه در ارتباط با پاسخ‌های درد فرمالینی به‌صورت الگوی دومرحله‌ای با یافته‌های قبلی ما (۹، ۱۲) و یافته‌های دیگران به‌طور کامل مطابقت می‌کنند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق به‌تنهایی کلرفنیرآمین در واکنش‌های درد التهابی (مرحله دوم درد فرمالینی) اثر کاهنده داشته است. مطالعات نشان داده کلرفنیرآمین باعث تضعیف درد، در مرحله دوم (مرحله التهابی) و نه مرحله اول (درد نوروژنیک) درد ناشی از فرمالین شده است (۱۲). آنتی‌هیستامین‌ها به‌عنوان داروی کاهنده درد، قبل و بعد از عمل جراحی به‌طور وسیعی مورداستفاده قرار می‌گیرند. مشاهده‌شده که برخی از آنتی‌هیستامین‌ها از قبیل هیدروکسی زین، دیفن هیدرامین، پریلامین، پرومتازین خصوصیات تسکین درد را هم در حیوانات آزمایشگاهی و هم در انسان دارا می‌باشند (۳۸). تزریق پریلامین (آنتاگونیست گیرنده H_1) و رانیتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2)، پاسخ ضد دردی وابسته به دوز در آزمون فرمالین نشان داده و درد ناشی از تزریق داخل نخاعی هیستامین توسط آنتاگونیست CGRP را سرکوب کرده است (۳۹). تزریق آنتاگونیست‌های گیرنده H_1 (کلرفنیرآمین) و H_2 هیستامین (سایمتیدین) به ترتیب پیشرفت درد حرارتی و مکانیکی را مهار کرده است، اگرچه کلرفنیرآمین اثر قوی‌تری داشته است (۴۰). پژوهش‌ها مشخص نموده است که هیستامین به‌عنوان یکی از واسطه‌های التهاب موضعی در هر دو مرحله درد فرمالینی دخیل است (۴۳). گزارش‌شده است که آنتاگونیست گیرنده H_3 نیز اثرات کاهنده درد در مدل‌های درد نوروژنیک و التهابی داشته است (۴۱، ۴۲). پژوهش‌ها نشان داده که تزریق مرکزی هیستامین، مپیرامین (آنتاگونیست گیرنده H_1 هیستامین) و فاموتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2 هیستامین) به‌طور معنی‌داری باعث کاهش درد مرحله دوم فرمالینی شده است (۲۲). با توجه به نتایج حاصل از کاربرد کلرفنیرآمین به‌تنهایی در آزمون فرمالین و اثر ضد دردی ناشی از آن در پژوهش حاضر، این نتایج با یافته‌های قبلی ذکرشده هم‌خوانی دارد.

نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر نشان داد استفاده از داروی گیاهی سیلی مارین در مقادیر مختلف اثرات ضد دردی در هر دو مرحله نوروژنیک و التهابی درد فرمالینی ایجاد کرده است. در مطالعات مختلف اثرات درمانی متعددی برای سیلی مارین بیان‌شده است. بیان‌شده است که در آزمون اسید استیک در موش‌های صحرایی، سیلی مارین به‌طور معنی‌داری تعداد انقباضات شکمی را کاهش داده است. همچنین در آزمون غوطه وری دم در موش‌های صحرایی، استفاده از سیلی مارین به‌طور معنی‌داری باعث افزایش مدت‌زمان سپری‌شده برای شروع تکان دادن دم گردیده است. در آزمون صفحه داغ نیز سیلی مارین باعث افزایش معنی‌دار در واکنش به بالا کشیدن دم گردیده است (۴۴). سیلی مارین اثرات ضدالتهابی وابسته به دوز و نیز مهارکننده وابسته به دوز در انباشت لوکوسیت‌ها در ترشحات

التهابی نشان داده است (۱۸). سیلی مارین یک ترکیب فلاونولیگنانی است. مطالعات نشان داده‌اند که فلاونوئیدها از طریق مکانیسم‌های مختلفی در جلوگیری و کاهش پاسخ‌های التهابی عمل نموده و به‌عنوان عوامل پیشگیری‌کننده در بیماری‌های قلبی و سیستم عصبی فعالیت می‌کنند (۴۵). ازآنجایی‌که سیلی مارین حاوی ۸۰٪ سیلی بین است، مشخص‌شده است که می‌تواند در بهبود فرآیندهای التهابی و کاهش سطح سرمی سیتوکین‌های التهابی مؤثر باشد. مطالعات مختلفی تأیید کرده‌اند که سیلی بین بیان مولکول‌های پیش التهابی را مهار می‌کند (۴۶، ۴۷). سیلی مارین فرآیند التهاب را از طریق مهاجرت نوتروفیل‌ها و سلول‌های کوپفر مهار می‌کند. سیلی مارین همچنین تشکیل واسطه‌های التهابی از قبیل پروستاگلاندین‌ها و به‌ویژه لوکوترین‌ها را از طریق مهار مسیر ۵-لیپوکسی ژناز بلوکه می‌کند و باعث مهار آزادسازی و ترشح هیستامین از بازوفیل‌ها می‌شود (۱۷). پژوهش‌ها نشان داده که در شرایط in-vitro سیلی بین می‌تواند آزادسازی هیستامین را از سلول‌های بازوفیل خون در انسان کاهش دهد (۴۸). مطالعات نشان داده که سیلی مارین اثرات آنتی‌اکسیدانی در سیستم عصبی مرکزی دارد که این اثربخشی مربوط به توانایی عبور از سد خونی-مغزی است (۴۹). همچنین پژوهش‌های دیگر اثرات این داروی گیاهی را بر روی بیماری عصبی مؤثر دانسته و عنوان کرده‌اند که توانایی سیلی مارین در محافظت از نورون مربوط به میانجی‌گری به‌واسطه ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد آپوپتوز آن است (۵۰). همچنین سیلی مارین می‌تواند نورون‌های دوپامینرژیک را به‌طور مؤثری در برابر لیپو پلی ساکارید ایجاد شده از نوروتوکسیسیتی در مغز محافظت کند (۵۱). داده‌های آزمایشگاهی نشان می‌دهد که سیلی مارین و به‌خصوص سیلی بین اثرات بازدارنده شیمیایی در سلول‌های سرطانی دارند. فرآیند درمان موش‌های مبتلا به سرطان نشان داد که سیلی مارین عوامل سرطان‌زایی پرتو خورشید را مهار می‌کند. طیف وسیعی از مطالعات مشخص نموده که سیلی مارین به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و نیز خصوصیات تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی به ممانعت از بروز سرطان در موش‌ها کمک کرده است (۱۶، ۵۲).

طبق پژوهش حاضر مشاهده شد که پیش تزریق کلرفنیرآمین قبل از سیلی مارین موجب کاهش معنی‌دار پاسخ‌های درد فرمالینی در هر دو مرحله اول و دوم گردید. به‌طوری‌که کاهش در پاسخ درد و درنتیجه اثر ضد دردی در مرحله دوم نسبت به گروه سیلی مارین به‌تنهایی بیشتر شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اثر ضد دردی سیلی مارین 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 است. ترکیبات فلاونوئیدی نظیر سیلی مارین با مهار آنزیم سیکلوکسی ژناز، تولید پروستاگلاندین E را از اسید آراشیدونیک در پاسخ به محرک‌های التهابی مهار می‌کنند و با توجه به این‌که پروستاگلاندین‌ها در ایجاد التهاب و تشدید درد اثر دارند، احتمالاً فلاونوئیدهای موجود در این گیاه در ایجاد اثر ضدالتهابی و ضد دردی نقش دارند. از طرف دیگر ترکیبات فلاونوئیدی دارای خواص ضد آلرژیکی نیز هستند. به همین دلیل می‌توانند اثرات مهاری در آزادسازی هیستامین از بازوفیل‌ها و ماست سل‌ها داشته باشند. مهار ترشح هیستامین منجر به جلوگیری از ترشح موادی از قبیل ماده P و CGRP (Calcitonin Gene-Related Peptide) می‌گردد و از این طریق نیز موجب سرکوب درد و کاهش تداوم آن می‌گردد. از طرف دیگر تداخل عمل سیلی مارین با کلرفنیرآمین نشان داد که استفاده توأم از این داروها باعث کاهش معنی‌دار شدت و مدت‌زمان درد ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین گردیده که احتمالاً این اثرات ضد دردی سیلی مارین ناشی از تقویت نمودن قدرت کاهش دهندگی درد توسط آنتاگونیست‌های هیستامینی است. درمجموع نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد سیلی مارین موجب کاهش پاسخ‌های درد ناشی از تزریق فرمالین گردید. از سوی دیگر پیش تزریق کلرفنیرآمین (آنتاگونیست گیرنده H_1 هیستامین) موجب تقویت اثرات ضد دردی حاصل از سیلی مارین شد. بدین ترتیب می‌توان بیان داشت که احتمالاً اثرات کاهش دهندگی درد سیلی مارین باواسطه‌گری سیستم هیستامینرژیک به انجام می‌رسد. باوجوداین دستیابی به نتایج دقیق‌تر در این راستا نیازمند استفاده از سایر آنتاگونیست‌های گیرنده‌های هیستامینی و نیز سایر آزمون‌های بررسی درد است.

تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل از پایان‌نامه شماره ثبت ۱۱۳۸-۵۱ مورخ ۹۴/۷/۲۱ و کد اخلاق ۲۳ -۸۵ خانم میترا قلی زاده نیک پی

دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی دام دانشگاه محقق اردبیلی بوده و نویسندگان بدین‌وسیله از حمایت مالی دانشگاه محقق اردبیلی تشکر می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده‌اند.

References

1. Abbasnejad M, Keramat B, Salari S, Hosaizadeh M. The Effects of Aqueous and Hydroalcoholic Extract of Eugenia Caryophyllata on Formalin Induced Pain in Male Rats. JMP. 2012; 42(2): 225-232.
2. Goldman L, Bennett JC. Cecil Text Book of Medicine. 21th ed. Vol.¬1. WB Saunders Co; 2000, P. 103.
3. Weiner RS. Pain management. 6th Ed. American Academy of pain management; 2001, P. 3-9.
4. Tamaddonfard E, Azimpouran A, Behjat B. Central Effect of Histamine on Formalin-Induced Pain in Rabbits: Role of Opioid System. J Fac Vet Med Univ Tehran. 2006; 61(1): 83-90. [In Persian]
5. Hassani VF, Rezaee R, Sazegara H, Hashemzeai M, Shirani K, Karim G. Effects of silymarin on neuropathic pain and formalin-induced nociception in mice. Iran J Basic Med Sci. 2015; 18(7): 715-720.
6. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. 12th ed. Philadelphia: Elsevier. Saunders; 2011, P. 598-609.
7. Lieberman P. The basics of histamine biology. Ann Allergy Asthma Immunol. 2011; 106(2Suppl): s2-5.
8. Shahid M, Tripathi T, Sobia F, Moin S, Siddiqui M, Ali Khan R. Histamine, histamine receptors, and their role in immunomodulation: An updated systematic review. O. I. Journal. 2009; 2(Special Issues): 9-41.
9. Tamaddonfard E, Mojtahedin A. Effect of chlorpheniramine on formalin-induced pain in mice: its relation with opioid system. J Fac Vet Med Univ Tehran. 2005; 60(4): 363-368.
10. Raffa RB. Antihistamines as analgesics. J Clin Pharmacol Ther. 2001; 26(2): 81-85.
11. Ashmavi HA, Chambergo FS, Palmeira CCA, Posso IP. The effect of pyrilamine and cimetidine on mRNA C-Fos expression and nociceptive flinching behavior in rats. Anesth Analg. 2003; 97(2): 541-546.
12. Tamaddonfard E, Mojtahedin A. The effect of intraperitoneal injection of cimetidine on pain response induced by formalin in mice. J Fac Vet Med Univ Tehran. 2004; 59(4): 373-378.
13. Fereidoni M, Etemadi L. Involvement of Opioidergic and Serotoninergic system in the anti-nociceptive effect of Tanacetum parthenium. Physiol & Pharmacol. 2008; 12(2): 115-120 (Article in Persian).
14. Ziai S, Fallah Huseini H, Rajabian T, Poorhoseini L, Naghdi Badi H, Rezazadeh S. Study of the different Solvents on Silymarin extraction from milk thistle. JMP. 2005; 1 (S1):7-12.
15. Borah A, Paul R, Choudhury S, Choudhury A, Bhuyan B, Talukdar AD, et al. Neuroprotective Potential of Silymarin against CNS Disorders:Insight into the Pathways and Molecular Mechanisms of Action. Neurosci & Therapeutics. 2013; 19(11): 847-853.
16. Brandon-Warner E, Eheim AL, Foureau DM, Walling TL, Schrum LW, McKillop IH. Silibinin (Milk Thistle) potentiates ethanol-dependent hepatocellular carcinoma progression in male mice. Cancer Lett. 2012; 326(1): 88-95.
17. Bhattacharya S. Phytotherapeutic properties of milk thistle seeds: An overview. J Adv Pharm Edu & Res. 2011; 1(1): 69-79.
18. Herman H, Pilat L, Mihali C, Popescu C, Turcus V, Ardelean A, et al. Pharmacology of Silybum marianum and its active constituents.therapeutic activity – Part 2. J Med Aradean. 2011; 2: 35-40.
19. Karimi G, Vahabzadeh M, Lari P, Rashedinia M, Moshiri M. "Silymarin", a promising pharmacological agent for treatment of diseases. Iran J Basic Med Sci. 2011; 14(4): 308-317.
20. Sahib AS. Antinociceptive effect of silymarin in experimental animal. Al - Kindy Col Med J. 2011; 7(2): 91-94.
21. Saller R, Meier R, Brignoli R. The use of silymarin in the treatment of liver diseases. Drugs. 2001; 61(14): 2035-2063.
22. Mojtahedin A, Tamaddonfard E, Zanboori A. Antinociception induced by central administration of histamine in the formalin test in rats.Indian J Physiol Pharmacol. 2008; 52(3):249-254.
23. Oritz MI, Castaneda-Hernandez G. Examination of the interaction between peripheral lumiracoxib and opioids on the 1% formalin test in rats. Eur J Pain. 2008; 12(2): 233-241.
24. Raboisson P, Dallel R. The orofacial formalin test. Neurosci Biobehav Rev. 2004; 28(2):219-226.
25. Capone F, Aloisi AM. Refinement of pain evaluation techniques.The formalin test. Ann Ist Super Sanità. 2004; 40(2): 223-229.
26. Lee I, Jeong YS. Effects of different concentrations of formalin on paw edema and pain behaviors in rats. J Korean Med Sci. 2002; 17(1): 81-85.

27. Le-Bars D, Gozarriu M, Gadden SW. Animal models of nociception. Pharmacol Rev. 2001; 53(4): 597-652.
28. Fu KY, Light AR, Maixner W. Long-lasting inflammation and long-term hyperalgesia after subcutaneous formalin injection into the rat hind paw. J Pain. 2001; 2(1): 2-11.
29. Gong N, Huang Q, Chen Y, Xu M, Ma SH, Wang Y. Pain Assessment Using the Rat and Mouse Formalin Tests. Bio-protocol. 2014; 21(4): 1-7.
30. Ferreira AA, Amaral FA, Duarte IDG, Oliveira PM, Alves RB, Silveira D. Antinociceptive effect from Ipomoea cairica extract. J Ethnopharmacol. 2006; 105(1-2):148-153.
31. Corrado B, Marco T, Colucci R, Fornai M, Antonioli L, Ghisu N, Tacca MD. Role of coxibs in the strategies for gastrointestinal protection in patients requiring chronic non-steroidal antiinflammatory therapy. Pharm Res. 2009; 59(1): 90-100.
32. Ellis A, Benson N, Machin I, Corradini L. The rat formalin test: Can it predict neuropathic pain treatments? Proceedings of Measuring Behavior. 2008; 324-325.
33. McNamara CR, Mandel-Brehm J, Bautista D, Siemens J, Deranian KL, Zhao M, et al. TRPA1 mediates formalin-induced pain. PNAS. 2007; 104(33): 13525-13530.
34. Mota VG, de Carvalho FL, de Morais LCSL, Bhattacharyya J, de Almeida RN, de Alencar JL. Antinociceptive activity of the chloroform fraction of Dioclea virgata (Rich.) Amshoff (Fabaceae) in mice. J Biomed & Biotech. 2011; 1-10.
35. Naderi S, Ghaderi Pakde F, Ashrafi Osanlou M, Cankurt U. Acute systemic infusion of Bupropion decrease formalin induced pain behavior in rat. Korean J Pain. 2014; 27(2): 118-124.
36.Tamaddonfard E, Roshanimeydan M, Dejhbakhsh A. Behavioural responses associated with formalin injection into the ear of sheep and rabbits. Ind J Anim Sci. 2003; 73(1):1245-1246.
37. Rosa AC, Fantozzi R. The role of histamine in neurogenic inflammation. Brit J Pharmacol. 2013; 170(1): 38-45.
38. Galeotti N, Ghelardini C, Bartolini A. Antihistamine antinociception is mediated by Gi-protein activation. Neurosci. 2002; 109(4): 811-818.
39. Mobarakeh JI, Torkaman-Boutorabi A, Rahimi AA, Ghasri S, Nezhad RM, Hamzely A. Interaction of histamine and calcitonin gene-related peptide in the formalin induced pain perception in rats. Biomed Res. 2011; 32(3): 195-201.
40. Zuo Y, Perkins NM, Tracey DJ, Geczy CL. Inflammation and hyperalgesia induced by nerve injury in the rat: a key role of mast cells. Pain. 2003; 105(3): 467-479.
41. Hsieh GC, Honore P, Pai M, Wensink EJ, Chandran P, Salyers AK. Antinociceptive effects of histamine H3 receptor antagonist in the preclinical models of pain in rats and the involvement of central noradrenergic systems. Brain Res. 2010; 1354: 74-84.
42. Medhurst SJ, Collins SD, Billinton A, Bingham S, Dalziel RG, Brass A. Novel histamine H3 receptor antagonists GSK189254 and GSK334429 are efficacious in surgically-induced and virally-induced rat models of neuropathic pain. Pain. 2008; 138(1): 61-69.
43. Parada CA, Tambeli CH, Cunha FQ, Ferreira SH. The major role of peripheral release of histamine and 5-hydroxytryptamine in eormaline-induced nociception. Neurosci. 2001; 102(4): 937-944.
44. Jadhav GB, Upasani CD. Analgesic effect of silymarin in experimental induced pain in animal models. J Pharmacy Res. 2009; 2(8): 1276-1278.
45. Pan MH, Lai CS, Ho CT. Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids. Food Func. 2010; 1(1): 15-31.
46. Aziz TA, Marouf BH, Ahmed ZHA, Hussain SA. Anti-Inflammatory Activity of Silibinin in Animal Models of Chronic Inflammation. Am J Pharmacolo Sci. 2014; 2(1): 7-11.
47. Giorgi VS, Peracoli MT, Peracoli JC, Witkin SS, Bannwart-Castro CF. Silibinin modulates the NF-κb pathway and pro-inflammatory cytokine production by mononuclear cells from pre-eclamptic women. J Reprod Immunol. 2012; 95(1-2): 67-72.
48. Miadonna A, Tedeschi A, Leggieri E, Lorini M, Froldi M, Zanussi C. Effects of silybin on histamine release from human basophil Leucocytes. Brit J clin Pharmacol. 1987; 24(6): 747-752.
49. Nencini C, Giorgi G, Micheli L. Protective effect of silymarin on oxidative stress in rat brain. Phytomed. 2007; 14(2-3): 129-135.
50. Raza SS, Khan MM, Ashafaq M, Ahmad A, Khuwaja G, Khan A, et al. Silymarin protects neurons from oxidative stress associated damages in focal cerebral ischemia: A behavioral, biochemical and immunohistological study in Wistar rats. J Neurological Sci. 2011; 309(1-2): 45-54.
51. Wang MJ, Lin WW, Chen HI, Chang YH, Ou HC, Kuo JS, et al. Silymarin protects dopaminergic neurons against lipopolysaccharide-induced neurotoxicity by inhibiting microglia activation. Eur J Neurosci. 2002; 16(11): 2103-2112.
52. Vaid M, Katiyar SK. Molecular mechanisms of inhibition of photocarcinogenesis by silymarin, a phytochemical from milk thistle (Silybum marianum L. Gaertn).Int J Oncol. 2010; 36(5):1053-1060.

Original Article

Pain-Relieving Effects of Silymarin and Its Interaction with Histamine H1 Receptors in Rats

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

1. University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2. Department of Physiology, Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
3. Department of animal science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Received: 11 Dec 2016 Accepted: 09 Mar 2017

Abstract

Background & Objective: Silymarin is an effective material of Milk thistle whose therapeutic effects have been mentioned in folk medicine. However, little research has been conducted on its antinociceptive effect and its mechanisms of action. Therefore, the aim of present study was to investigate the pain-relieving effects of silymarin using Formalin test with an emphasis on histaminergic system in rats.

Materials & Methods: In this experimental study, 42 male rats weighing approximately 200-250 g aged 12-14 weeks were divided into 7 groups with 6 rats in each group: control group (Saline + Formalin 1% intraplantar), 4 treatment groups with silymarin (50, 100, 200 and 400 mg/kg), 1 treatment group with chlorpheniramine (20 mg/kg), 1 pretreatment group with chlorpheniramine (20 mg/kg) + silymarin (200 mg/kg). Formalin test was used to assess somatic pain. One-way ANOVA was used to analyze the data.

Results: Intraperitoneal injection of silymarin significantly reduced pain response in both the first and second phase of formalin pain ($P<0.05$). Pretreatment with chlorpheniramine and then silymarin enhanced the analgesic response in both phases of formalin pain ($P<0.05$).

Conclusion: Silymarin has analgesic effects and these effects are probably caused by using the histaminergic system.

Keywords: Aerobic training, Soleus muscle, AIF gene, caspase-9 gene

Corresponding Author: Ali Mojtahedin, Department of Physiology, Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili
Email: a_mojtahedin@uma.ac.ir

Journal of Fasa University of Medical Sciences 7 (2017): 265-274