

Effect of hydroalcoholic extract of *Ferula szowitsiana* DC. on paw edema in rat

Saghravani SJ, Fereidoni M*, Asadollahi A

Rayan Center for Neuroscience and Behavior, Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I. R. Iran.

Received June 14, 2015; Accepted January 30, 2016

Abstract:

Background: Due to the side effects of chemical medicines, nowadays the use of drugs of natural origin is concerned. In traditional medicine plants of *Ferula* family generally regarded as the inhibitor of pain and inflammation. In this study using the sub-plantar formalin injection the anti-inflammatory effect of the hydroalcoholic extract of *Ferula szowitsiana* DC., as one of the species of this family, is investigated on rat paw edema.

Materials and Methods: The hydroalcoholic extract of *Ferula szowitsiana* DC. was prepared and solved in Saline, Ethanol and Tween 80 (in a ratio of 8:1:1, respectively). Male Wistar rats (200-250 g) were assigned to: Control, Solvent (i.p), Solvent (i.t), Extract (50, 100, 200, 400 mg/kg, i.p), Naloxone (2 mg/kg, i.p), Naloxone-Extract (2 mg/kg, i.p and 400 mg/kg, i.p, respectively) and Extract (8 µg/10 µl, i.t) groups. For inducing inflammation Formalin 2.5% (0.05 ml) and for assessing the volume of edema plethysmometric methods were used.

Results: The extract of *Ferula szowitsiana* DC. reduced inflammation in a dose dependent manner ($P < 0.001$). The effects of central (i.t.) administration of the equivalent concentration of the effective dose of extract were similar to their systemic administration. Naloxone partially reduced the anti-inflammatory effect of extract ($P < 0.05$).

Conclusion: The anti-inflammatory property of *Ferula szowitsiana* DC. extract is probably induced because of its effect on central nervous system (CNS) and part of this effect is mediated by opioid system.

Keywords: *Ferula szowitsiana* DC., Inflammation, Plethysmometer, Rat

* Corresponding Author.

Email: fereidoni@um.ac.ir

Tel: 0098 915 524 2015

Fax: 0098 513 876 2227

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2016; Vol. 20, No 2, Pages 125-132

Please cite this article as: Saghravani SJ, Fereidoni M, Asadollahi A. Effect of hydroalcoholic extract of *Ferula szowitsiana* DC. on paw edema in rat. *Feyz* 2016; 20(2): 125-32.

اثر عصاره هیدروالکلی گیاه کمای بیابانی (*Ferula szowitsiana* DC.) بر ادم التهابی پا در موش صحرائی

سید جواد ساغروانیان^۱، مسعود فریدونی^{۲*}، علی اسداللهی^۳

خلاصه:

سابقه و هدف: امروزه با توجه به عوارض داروهای شیمیایی، داروهای با منشأ طبیعی مورد توجه بسیار است. گیاهان خانواده کما عموماً در طب سنتی به عنوان مهارکننده درد و التهاب مطرح هستند. مطالعه حاضر اثر ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی گیاه کمای بیابانی (*Ferula szowitsiana* DC.) را به عنوان یکی از گونه‌های این خانواده بر ادم التهابی ناشی از تجویز کف پای فرمالین مورد بررسی قرار داده است.

مواد و روش‌ها: عصاره هیدروالکلی گیاه کمای بیابانی در نرمال سالین، اتانول و توئین ۸۰ به نسبت ۱:۱:۸ حل شد. موش‌های صحرائی نر با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم در گروه‌های کنترل، حلال (i.p)، حلال (i.t)، دوزهای مختلف عصاره (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg، i.p و نالوکسان (۲ mg/kg، i.p) و نالوکسان (۲ mg/kg، i.p) -عصاره (۴۰۰ mg/kg، i.p) قرار گرفتند. به منظور ایجاد التهاب از ۰/۰۵ سی سی فرمالین ۲/۵ درصد و برای سنجش میزان التهاب از روش پلتیسومتری استفاده شد.

نتایج: عصاره گیاه کمای بیابانی به صورت وابسته به دوز باعث کاهش التهاب گردید ($P < 0/001$). از تجویز نخاعی غلظت معادل مؤثرترین دوز در تجویز مرکزی استفاده شد که نتایج مشابه تجویز سیستمیک آن بود. اگرچه نالوکسان باعث کاهش اثر ضدالتهابی عصاره شد ($P < 0/001$)، اما به طور کامل آن را از بین نبرد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: اثر ضدالتهابی عصاره گیاه کمای بیابانی احتمالاً به واسطه تأثیر بر سیستم اعصاب مرکزی است و بخشی از این اثر به دلیل تأثیر بر سیستم اپیوئیدی می‌باشد.

واژگان کلیدی: کمای بیابانی، التهاب، پلتیسومتری، موش صحرائی

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیستم، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۵، صفحات ۱۳۲-۱۲۵

مقدمه

این مواد با تأثیر بر سلول‌های اندوتلیال، ماست سل‌ها و سلول‌های ایمنی باعث ایجاد التهاب نوروزنیک می‌شوند [۱]. در طی التهاب، آسیب بافتی ایجاد شده باعث آزادسازی برادی‌کینین و پروستا-گلاندین می‌شود. این مواد می‌توانند منجر به فعال شدن گیرنده‌های درد شوند. هم‌چنین، با تأثیر بر سلول‌های دیگر باعث فعال شدن عواملی مثل CGRP و NF- κ B در سایر سلول‌ها شده که آن‌ها به نوبه خود، آزادسازی بیشتر عوامل التهابی، مثل سیتوکین‌های پیش‌التهابی و پروستاگلاندین‌ها را به دنبال دارند. از طرفی تأثیر همین عوامل التهابی بر پایانه‌های اعصاب محیطی درد، باعث آزادسازی CGRP و ماده P شده که به ترتیب گشاد شدن رگ و افزایش نفوذپذیری پلاسما به مایع میان بافتی و ادم را به دنبال دارند [۲]. امروزه اگرچه داروهای شیمیایی متنوعی برای درمان التهاب وجود دارد، اما با توجه به اثرات جانبی آن‌ها یافتن داروهای جدید و خصوصاً با منشأ طبیعی و گیاهی ضروری به نظر می‌رسد. گیاه کمای بیابانی (*Ferula szowitsiana* DC.)، بومی ایران و آسیای مرکزی است و در طب سنتی به عنوان تسکین دهنده درد و کاهش دهنده التهاب از آن یاد شده است و به طور عمده در کاهش درد و نفخ معده مورد استفاده قرار می‌گیرد. علاوه بر این، گیاه کمای بیابانی در بین مردم محلی به عنوان یک ماده ضد کرم روده نیز

تحقیقات نشان داده است که نورون‌های شاخ پستی نخاع می‌توانند با رهایش میانجی‌های عصبی و مواد بیواکتیو اثراتی را به صورت وایبران بر محیط بگذارند که برخی از این اثرات می‌تواند منجر به ایجاد التهاب شود. التهاب را به واسطه ویژگی‌هایی نظیر قرمزی، گرم شدن (تأثیر ثانویه گشاد شدگی عروق)، ورم (تأثیر ثانویه خروج پلاسما به مایع میان بافتی) و زیاد شدن تحریک پذیری مشخص می‌کنند. خروج مواد از انتهای نورون‌های حسی اولیه این پدیده را موجب می‌شود. از جمله موادی که از انتهای اعصاب حسی اولیه در محیط آزاد می‌شود، ماده P و CGRP می‌باشد.

^۱ کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و رفتار رایان، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
^۲ دانشیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و رفتار رایان، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
^۳ استادیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و رفتار رایان، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

دوره نویسی: ۰۵۱ ۳۸۷۶۲۲۲۷

تلفن: ۰۹۱۵۵۲۴۲۰۱۵

پست الکترونیک: fereidoni@um.ac.ir

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۴/۱۱/۱۰

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۲۴

تزیق شد. در گروه‌های دریافت کننده نخاعی، ۵ دقیقه پس از تجویز ماده مورد نظر (حلال یا عصاره گیاه) تزیق فرمالین صورت گرفت. در گروه دریافت کننده نالوکسان، ۱۰ دقیقه پس از تجویز نالوکسان حیوانات مورد آزمون قرار گرفتند و در گروه نالوکسان-عصاره حیوانات ۲۰ دقیقه پس از دریافت عصاره نالوکسان را دریافت کرده و ۱۰ دقیقه بعد مورد آزمون قرار گرفتند [۱۱].

روش تهیه عصاره

گیاه کمای بیابانی (*Ferula szowitsiana* DC.) در دوره گل‌دهی (اردیبهشت ماه) از جاده سرخس (ارتفاع ۹۷۳ متر، طول جغرافیایی ۳۶°۱۴'۱۷" و عرض جغرافیایی ۵۹°۴۰'۲۵") استان خراسان رضوی جمع‌آوری گردید و توسط متخصص هرباریوم پژوهشکده گیاه شناسی دانشگاه فردوسی مشهد با کد (Voucher number) ۳۷۸۳۷ شناسایی شد. ساقه و برگ گیاه در محیط خشک و در سایه خشک گردید و سپس به وسیله دستگاه خردکن آسیاب شد. مقدار ۵۰ گرم گیاه خرد شده توسط ترازو وزن گردید و داخل بشر ریخته شد. به مقداری که سطح گیاه پوشانده شود، اتانول ۷۰ درصد به آن اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی برای حل شدن ترکیبات گیاه به آن فرصت داده شد. محلول به دست آمده پس از ۲۴ ساعت توسط کاغذ صافی صاف گردید و این عمل برای اطمینان از صاف شدن و شفاف شدن محلول چند مرتبه تکرار شد. عصاره تهیه شده در بشر ریخته شده و زیر هود در محل تاریک قرار داده شد تا به صورت یک محلول کاملاً عسلی شکل در بیاید [۱۲]. عصاره پس از غلیظ شدن رطوبت سنجی شد (۸۷ درصد ماده خشک) و برای نگهداری و به منظور عدم تغییر میزان رطوبت سر بشر توسط درپوش پوشانیده شد. از اتانول، تونن ۸۰ و نرمال سالین به نسبت ۸:۱:۱ به عنوان حلال عصاره برای تجویز به حیوانات استفاده شد [۱۳].

روش پلتیسومتری

یکی از بهترین روش‌هایی که برای اندازه گیری التهاب استفاده می‌شود، تعیین میزان حجم ادم به روش پلتیسومتری است. در نوعی از روش پلتیسومتری یک استوانه شیشه‌ای در باز به قطر ۲ و ارتفاع ۵ سانتی‌متر مورد استفاده قرار می‌گیرد. این استوانه روی یک پتری دیش به قطر ۱۰ سانتی‌متر قرار گرفته و ۴ سانتی‌متر از آن توسط مایع (جیوه) پر می‌شود. مجموعه ستون و پتری دیش روی یک ترازوی دیجیتالی با حساسیت مناسب (برای جیوه با دقت ۰/۱ گرم) قرار داده می‌شود. پای حیوان در منطقه فوزک علامت گذاری

شناخته می‌شود [۳]. این گیاه حاوی ترکیبات مختلفی از جمله آلفا-پینن، بتا-پینن، لیمونن، کاریوفیلین می‌باشد [۵،۴]. در مطالعات مختلف اثرات ضدالتهابی این مواد به طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفته است. α pinene یکی از موادی است که اثر ضد-التهابی آن از طریق مهار مسیرهای MAPK و NF-kappaB مشاهده شده است [۶]. β pinene بر سر نشستن بر روی گیرنده‌های ایپوئیدی با مورفین رقابت می‌کند و سریع‌تر از مورفین بر روی این گیرنده‌ها نشست و بدین‌گونه منجر به کاهش درد و هم-چنین التهاب می‌گردد [۷]. Limonen نیز به عنوان ترکیب دیگر حاضر در گیاه التهاب ایجاد شده توسط اسید استیک را کاهش می‌دهد [۸]. باتوجه به موارد مذکور به نظر می‌رسد که عصاره هیدروالکلی گیاه کمای بیابانی بتواند اثرات ضد التهابی از خود بروز دهد. لذا، در این تحقیق اثر ضدالتهابی این گیاه و اثر آن بر سیستم ایپوئیدی مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق تعداد ۷۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات، در حیوان‌خانه گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد، تحت چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد در قفس‌های Plexy glass با دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. حیوانات، تنها برای انجام آزمایش از قفس خارج شده و سپس دوباره به محل خود برگردانده می‌شدند. کلیه تحقیقات و عملیات آزمایشگاهی روی جانوران، با رعایت مقررات بین‌المللی اخلاق علمی و حمایت از حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت [۹]. حیوانات مورد استفاده به طور تصادفی در ۱۰ گروه هفت‌تایی قرار گرفتند. گروه بندی حیوانات به شرح ذیل بود: کنترل (حیوانات تحت هیچ‌گونه تیماری قرار نگرفتند)؛ حلال (تجویز داخل صفاقی، i.p.)؛ حلال (تجویز نخاعی، i.t.)؛ عصاره ۵۰ mg/kg (i.p.)؛ عصاره ۱۰۰ mg/kg (i.p.)؛ عصاره ۲۰۰ mg/kg (i.p.)؛ غلظت ۸ μ g/۱۰ μ l عصاره (i.t.)؛ ۲ g/kg نالوکسان (i.p.)؛ و ۴۰۰ mg/kg عصاره ۲ mg/kg نالوکسان (i.p.). به منظور بررسی میزان التهاب پا، در ابتدا حجم پای حیوانات در گروه‌های مختلف توسط آزمون پلتیسومتری مورد سنجش قرار گرفت و ۶۰ دقیقه پس از تزیق زیرجلدی فرمالین به کف پای حیوان حجم ثانویه پا سنجش شد [۱۰]. در گروه‌های دریافت کننده داخل صفاقی، ۳۰ دقیقه پس از دریافت ماده مورد نظر (حلال یا عصاره گیاه) فرمالین به کف پای حیوانات

می‌گردد. سپس، پای حیوان تا منطقه علامت گذاری شده وارد مایع می‌شود. باید توجه داشت که پا کاملاً غوطه‌ور شده باشد و با دیواره و کف ظرف برخورد نداشته باشد. اختلاف حجم مایع در ابتدای آزمایش و پس از ایجاد ادم به صورت زیر به دست می‌آید که نشان‌گر میزان التهاب ایجاد شده است: $V=W/\rho$.

V حجم پا، W وزن مایع و ρ وزن مخصوص مایع (برای جیوه برابر $13/6 \text{ gr/cm}^3$) می‌باشد. در نهایت $V_t - V_0$ میزان التهاب را مشخص می‌کند (V_0 حجم اولیه پا و V_t حجم نهایی پای است). این روش آسان، دارای هزینه پایین و بسیار در دسترس است [۱۰].

روش تجویز داخل نخاعی

حیوان با تزریق داخل صفاقی کتامین (100 mg/kg) و زایلوزین (20 mg/kg) بی‌هوش شد. سر حیوان در دستگاه استریوتاکس جهت انجام جراحی ثابت شده و یک برش کوچک به طول ۱ تا ۲ سانتی‌متر از بین گوش‌ها به طرف پایین ایجاد شده و عضلات گردنی کنار زده شد و به آرامی از روی تیغه اکسی‌پیتال جمجمه آزاد گردید. وسط غشای اطلس-اکسی‌پیتال سوراخ کوچکی ایجاد شد تا منجر به خروج مایع مغزی-نخاعی گردد که نشانه‌ای از دسترسی به فضای زیر عنکبوتیه است. یک لوله پلی‌اتیلن 10 OD (0.61 mm , $ID=0.28 \text{ mm}$) به طول ۱۱ سانتی‌متر آماده و ۸ سانتی‌متر آن به آرامی در فضای زیر عنکبوتیه به طرف قطعه کمری نخاع پیش برده شد. سه سانتی‌متر از لوله خارج از نخاع قرار گرفت که برای تزریق دارو استفاده شد. نقص حرکتی در هیچ‌یک از حیوانات بعد از کانول گذاری دیده نشد. یک هفته بعد از ریکاوری، دارو به صورت داخل نخاعی در حجم مورد نظر تزریق گردید [۱۴]. به منظور ایجاد التهاب از $0/05$ میلی‌لیتر فرمالین $2/5$ درصد به صورت تزریق زیرجلدی به کف پای حیوان استفاده شد [۱۵].

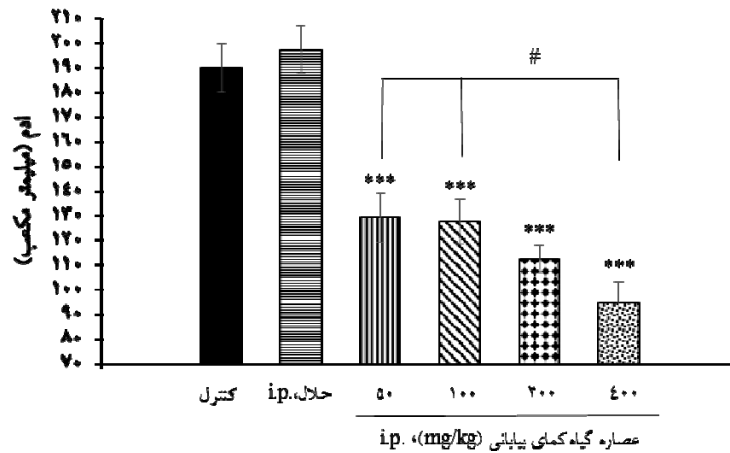
تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های به دست آمده به صورت $\text{mean} \pm \text{SEM}$ ارائه شدند و سپس توسط آزمون‌های آماری شامل تجزیه و تحلیل یک-طرفه ANOVA و پس‌آزمون Newman-keuls به منظور مقایسه میانگین‌ها با حداقل سطح معنی‌داری $P < 0/05$ ، به کمک نرم‌افزار GraphPad prism 5 مورد ارزیابی قرار گرفتند.

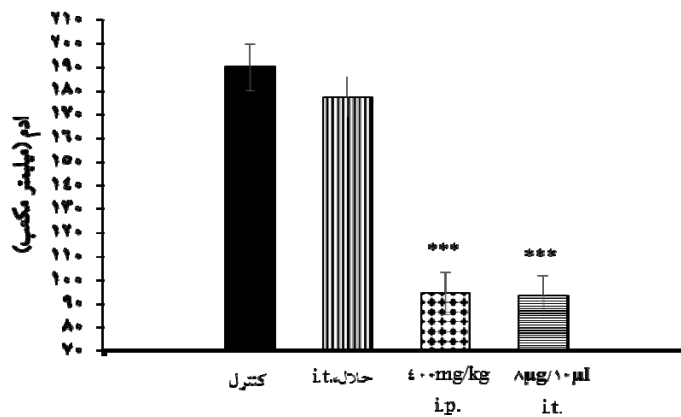
نتایج

بررسی نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و حلال (i.p.) وجود ندارد که گویای عدم تأثیر حلال عصاره بر روند التهاب ناشی از تزریق کف پای فرمالین

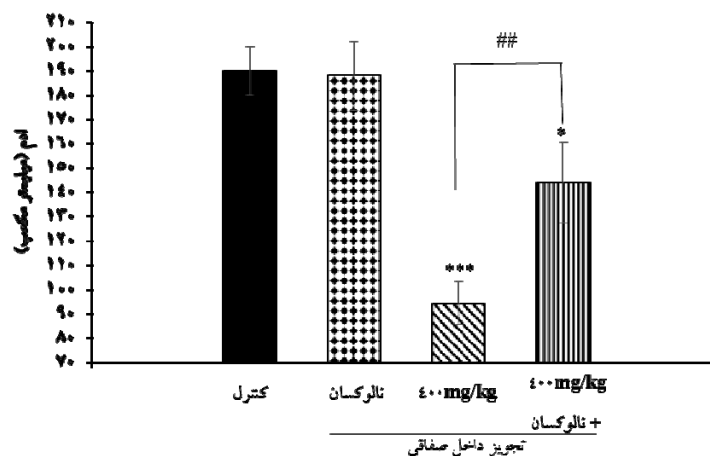
است (نمودار شماره ۱). تجویز داخل صفاقی دوزهای مختلف عصاره شامل 400 mg/kg ، 200 ، 100 ، 50 کاهش معنی‌داری، در میزان حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پای فرمالین نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد ($P < 0/001$). همچنین، دوز 400 mg/kg عصاره کاهش معنی‌داری را نسبت به دوزهای 50 mg/kg و 100 mg/kg نشان می‌دهد و لذا اثر ضدالتهابی قوی‌تری دارد ($P < 0/05$) (نمودار شماره ۱). به منظور بررسی مرکزی یا محیطی بودن اثر عصاره، بهترین دوز عصاره در تجویز داخل صفاقی (400 mg/kg)، معادل سازی شده ($8 \mu\text{g}/10 \mu\text{l}$) و در تجویز نخاعی به کار گرفته شد. مقایسه نتایج حاصل از تزریق کف پای فرمالین در گروه کنترل، حلال (i.t.)، دوز 400 mg/kg عصاره (i.p.) و غلظت $8 \mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ عصاره (i.t.) تفاوت معنی‌داری را بین گروه کنترل و دریافت کننده حلال عصاره (i.t.) نشان نداد. بنابراین، روند جراحی، کانول گذاری و تجویز نخاعی حلال عصاره بر میزان حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پای فرمالین تأثیری نداشته است. دوز 400 mg/kg عصاره (i.p.) و غلظت $8 \mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ عصاره (i.t.) کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل در میزان حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پای فرمالین نشان دادند ($P < 0/001$). گروه 400 mg/kg عصاره (i.p.) نسبت به گروه غلظت $8 \mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ عصاره (i.t.) تفاوت معنی‌داری را در میزان کاهش حجم ادم التهابی یا نشان نداد (نمودار شماره ۲). به منظور بررسی مکانیسم عمل عصاره و ارتباط آن با مسیرهای اپیوئیدی، مؤثرترین دوز عصاره (400 mg/kg) به همراه نالوکسان (آنتاگونیست گیرنده‌های اپیوئیدی) استفاده شد و نتایج به دست آمده با نتایج حاصل از ادم ایجاد شده به واسطه تزریق کف پای فرمالین در دوز 400 mg/kg عصاره مقایسه گردید. مقایسه نتایج حاصل از تزریق کف پای فرمالین در گروه کنترل، دوز 2 mg/kg نالوکسان (i.p.)، دوز 400 mg/kg عصاره به همراه دوز 2 mg/kg نالوکسان (i.p.) و دوز 400 mg/kg عصاره (i.p.) نشان داد که گروه کنترل و دریافت کننده دوز 2 mg/kg نالوکسان (i.p.)، نسبت به هم تفاوت معنی‌داری ندارند و در نتیجه تجویز نالوکسان به تنهایی بر میزان حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پای فرمالین تأثیری ندارد. کاهش حجم التهاب در گروه دریافت کننده دوز 400 mg/kg عصاره به همراه دوز 2 mg/kg نالوکسان (i.p.) و گروه دریافت کننده دوز 400 mg/kg عصاره (i.p.) در مقایسه با گروه کنترل (به ترتیب $P < 0/05$ و $P < 0/001$) معنی‌دار بود. به علاوه، اثر ضدالتهابی دوز 400 mg/kg عصاره به همراه دوز 2 mg/kg نالوکسان (i.p.) نسبت به گروه 400 mg/kg عصاره (i.p.) به طور معنی‌داری کمتر بود ($P < 0/01$)، نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۱- مقایسه میزان حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پای فرمالین بین گروه‌های کنترل، حلال (i.p.) و دوزهای مختلف عصاره (i.p.).
 نسبت به کنترل و $P < 0.05$ # نسبت به دوز ۴۰۰ mg/kg. داده‌ها به صورت $\bar{X} \pm SD$ ارائه شده است و $n=7$ می‌باشد.



نمودار شماره ۲- نتایج حاصل از تزریق کف پای فرمالین بین گروه کنترل، حلال (i.t.)، عصاره (۴۰۰ mg/kg) (i.p.) و عصاره (۴۰۰ mg/kg) (i.t.)
 در مقایسه با گروه کنترل. داده‌ها به صورت $\bar{X} \pm SD$ ارائه شده است و $n=7$ می‌باشد.



نمودار شماره ۳- مقایسه نتایج حاصل از تزریق کف پای فرمالین بین گروه‌های کنترل، نالوکسان (۲ mg/kg) (i.p.)، عصاره (۴۰۰ mg/kg) (i.p.)
 نالوکسان (۲ mg/kg) (i.p.)، عصاره (۴۰۰ mg/kg) (i.p.) و $P < 0.05$ * و $P < 0.001$ *** نسبت به گروه کنترل، $P < 0.01$ ## نسبت به گروه عصاره
 (۴۰۰ mg/kg) داده‌ها به صورت $\bar{X} \pm SD$ ارائه شده است و $n=7$ می‌باشد.

بحث

کمتر بر روی ماست سلها تولید عوامل التهابی کمتر می‌شود [۲۲]. از طرفی اپیوئیدها می‌توانند مهار فعالیت NF- κ B را به‌دنبال داشته باشند. به‌عنوان مثال تحقیقات نشان داده است که آنتاگونیست گیرنده‌های μ اپیوئیدی با فعال سازی این گیرنده‌ها منجر به بالا اندازی آبشار سیگنالی درون سلول می‌شوند که در نهایت به بالا رفتن سطح NF- κ B غیر فعال (IkB) ختم می‌گردد [۲۳]. هم‌چنین، فعالیت آگونیست‌های اپیوئیدی بر روی μ اپیوئیدها باعث Down Regulation, TLR4 و از این طریق اثر تحریکی TLR4 بر NF- κ B برداشته می‌شود [۲۴]. از آنجا که پس از تجویز نالوکسان اثر ضدالتهابی عصاره گیاه کمای بیابانی به‌طور کامل از بین نرفته است، احتمالاً سیستم‌های دیگری در اثر ضدالتهابی عصاره نیز درگیر شده است. یکی از احتمالاتی که وجود دارد این است که لیمونین یا مجموعه‌ای از ترکیبات موجود در عصاره که دارای اثرات آگونیستی بر گیرنده آدنوزین هستند با تأثیر بر گیرنده‌های A2a آدنوزینی باعث فعال شدن G پروتئین شده و سپس افزایش سطح cAMP داخل سلولی، آستروسیتی و سلول‌های میکروگلیا می‌شود و فعال شدن PKA را به‌دنبال دارد. این آئزیم به‌نوبه خود می‌تواند سبب فعال شدن CREB شود که خود این پروتئین منجر به مهار NF- κ B می‌گردد. از طرف دیگر PKA می‌تواند باعث کاهش فعالیت مسیر سیگنالی MAPK شده و از این طریق اثرات ضدالتهابی را بروز دهد [۲۵]. فعال شدن گیرنده A2a آدنوزینی باعث مهار تولید فاکتور رشد عصبی می‌شود. این ماده خود باعث آزادسازی ماده P و CGRP می‌گردد که در نتیجه مهار آن تولید این مواد نیز کاهش می‌یابد [۲۶] و احتمالاً لیمونین می‌تواند با فعال کردن گیرنده A2a آدنوزینی باعث مهار التهاب شود. از طرف دیگر، طی مطالعات صورت گرفته فعال شدن گیرنده مذکور سبب کاهش آزاد سازی سیتوکین‌های التهابی مثل TNF α , IL6, IL8 و IL12 می‌شود و افزایش در رهاسازی سیتوکین ضدالتهابی IL10 را به‌دنبال دارد [۲۷]. سیتوکین‌های التهابی به‌نوبه خود سبب تحریک ترشح CGRP و SP در نورون‌های شاخ پشتی نخاع می‌شوند. در نتیجه، مهار آنها می‌تواند منجر به کاهش میزان CGRP و SP و به‌دنبال آن کاهش التهاب گردد [۲۸، ۲۹].

نتیجه‌گیری

اثر ضدالتهابی عصاره گیاه احتمالاً به‌دلیل تأثیر بر سیستم اعصاب مرکزی می‌باشد و البته بخشی از این اثر احتمالاً با تأثیر بر سیستم اپیوئیدی است و به‌دلیل مهار نشدن تمام اثر ضدالتهابی عصاره توسط نالوکسان بخشی دیگر از این اثرات از طریق سیستم‌های دیگر اعمال می‌شود که نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

در مورد اثر ضدالتهابی عصاره گیاه باید گفت میزان التهاب به‌صورت وابسته به دوز کاهش پیدا کرده است. علاوه‌براین، تجویز مرکزی عصاره مشابه با تجویز سیستمیک آن باعث کاهش التهاب گردیده است و تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نمی‌شود. این نتایج نشان می‌دهد که اثر ضدالتهابی نیز احتمال دارد به‌واسطه تأثیر عصاره بر سیستم عصبی مرکزی باشد و شاید جلوگیری از آزادسازی عوامل التهابی از پایانه اعصاب منجر به بروز این مهم شده باشد [۲]. به‌دلیل اینکه عصاره گیاه کمای بیابانی حاوی ترکیباتی است که هریک می‌توانند التهاب را از طریق سیستم‌های مختلف از جمله سیستم اپیوئیدی، کانابینوئیدی، و آدنوزینی کاهش دهند [۱۶] به‌منظور بررسی مکانیسم اثر عصاره از نالوکسان به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های اپیوئیدی استفاده شد. هم‌چنین، احتمالاً شاید بخش مهمی از اثرات ضدالتهابی عصاره نیز با تأثیر بر سیستم اپیوئیدی صورت گیرد و این کاهش التهابی که در زمان تجویز هم‌زمان عصاره و نالوکسان دیده می‌شود به‌واسطه تأثیر هم‌زمان عصاره بر سیستم‌های ضدالتهابی دیگر و تعامل این سیستم‌ها با سیستم اپیوئیدی است [۱۷، ۱۸]. در طی التهاب آسیب بافتی ایجاد شده باعث آزادسازی برادی‌کینین و پروستاگلاندین می‌شود. این مواد می‌توانند باعث فعالیت گیرنده‌های درد شوند. هم‌چنین، با تأثیر بر سلول‌های دیگر باعث فعال شدن عواملی مثل CGRP و NF- κ B در سایر سلول‌ها شده که آن‌ها به‌نوبه خود، آزادسازی بیشتر عوامل التهابی مثل سیتوکین‌ها (اینترلوکین و TNF α) و پروستاگلاندین‌ها را به‌دنبال دارند. از طرفی تأثیر همین عوامل التهابی بر پایانه‌های اعصاب محیطی درد باعث آزادسازی CGRP و SP شده که به‌ترتیب گشاد شدن رگ و افزایش نفوذپذیری پلاسما به مایع میان بافتی و ادم را به‌دنبال دارند [۲]. هم‌چنین، برادی‌کینین می‌تواند باعث Up Regulation گیرنده Toll-like receptor 4 (TLR4) محیطی و مرکزی شود. به‌دنبال افزایش تعداد این گیرنده NF- κ B درون سلولی فعال‌تر شده و در نهایت افزایش و آزاد سازی بیش از پیش عوامل التهابی را در پی دارد [۱۹]. تأثیر مونوترپن‌های موجود در این گیاه بر سیستم اپیوئیدی و اثر ضدالتهابی آن‌ها که قبلاً به اثبات رسیده است [۲۰، ۷] و هم‌چنین تأثیر گونه‌های دیگر این جنس در فعال کردن سیستم اپیوئیدی [۲۱] این احتمال را تقویت می‌کند که عصاره گیاه منجر به فعالیت اپیوئیدها در مرکز می‌شود. اپیوئیدها از مسیرهای گوناگونی می‌توانند اثرات ضدالتهابی را ایجاد کنند. برای مثال این مواد می‌توانند با تأثیر بر پایانه‌های محیطی اعصاب آزاد کننده ماده P از آزاد شدن این ماده جلوگیری کنند که به‌دنبال این اتفاق هم میزان خروج پلاسما و ادم کاهش پیدا می‌کند و هم با تأثیر

ارشد بوده است که در دانشگاه فردوسی مشهد انجام پذیرفته است. بدین وسیله از آن سازمان قدردانی و تشکر به عمل می آید.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه برای اخذ درجه کارشناسی

References:

- [1] Richardson JD, Vasko MR. Cellular mechanisms of neurogenic inflammation. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 302(3): 839-45.
- [2] Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum SA, Hudspeth AJ. Principles of neural science. 5th ed. New York: McGraw-Hill Companies; 2013. p. 530-55.
- [3] Sharififar F, Koochpayeh A, Motaghi MM, Amirhosravi A, Puormohseni Nasab E, Khodashenas M. Study the ethnobotany of medicinal plants in Sirjan, Kerman province, Iran. *J Herbal Drugs* 2010; 1(3): 19-28.
- [4] Dehghan G, Solaimanian R, Shahverdi AR, Amin G, Abdollahi M, Shafiee A. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Ferula szovitsiana* D.C. *Flavour Frag J* 2007; 22: 224-7.
- [5] Habibi Z, Aghaie HR, Ghahremanzadeh R, Masoudi S, Rustaiyan A. Composition of the essential oils of *Ferula szowitsiana* DC., *Artemisia squamata* L. and *Rhabdosciadium petiolare* Boiss. & *Hauskn.ex* Boiss. three umbelliferae herbs growing wild in Iran. *J Essent Oil Res* 2006; 18: 503-5.
- [6] Kim DS, Lee HJ, Jeon YD, Han YH, Kee JY, Kim HJ, et al. Alpha-Pinene Exhibits Anti-Inflammatory Activity Through the Suppression of MAPKs and the NF-kappaB Pathway in Mouse Peritoneal Macrophages. *Am J Chin Med* 2015; 43(4): 731-42.
- [7] Liapi C, Anifandis G, Chinou I, Kourounakis AP, Theodosopoulos S, Galanopoulou P. Antinociceptive properties of 1,8-Cineole and beta-pinene, from the essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* leaves, in rodents. *Planta Med* 2007; 73(12): 1247-54.
- [8] Karlsten R, Gordh T, Post C. Local antinociceptive and hyperalgesic effects in the formalin test after peripheral administration of adenosine analogues in mice. *Pharmacol Toxicol* 1992; 70(6 Pt 1): 434-8.
- [9] Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1983; 16(2): 109-10.
- [10] Fereidoni M, Ahmadiani A, Semnianian S, Javan M. An accurate and simple method for measurement of paw edema. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2000; 43(1): 11-4.
- [11] Ahmadiani A, Fereidoni M, Semnianian S, Kamalinejad M, Saremi S. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Sambucus ebulus* rhizome extract in rats. *J Ethnopharmacol* 1998; 61(3): 229-35.
- [12] Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Dehpour AA. Antioxidant activity of hydroalcoholic extract of *Ferula gummosa* Boiss roots. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2011; 15(6): 658-64.
- [13] Urushidani T, Forte JG, Sachs G. Mechanisms and consequences of proton transport. Boston, Mass.; London: Kluwer Academic; 2002.
- [14] Yaksh TL, Rudy TA. Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiol Behav* 1976; 17(6): 1031-6.
- [15] Alizadeh Z, Fereidoni M, Behnam-Rassouli M, Hosseini S. Role of C-fibers in pain and morphine induced analgesia/hyperalgesia in rats. *Iran J Neurol* 2014; 13(1): 19-27.
- [16] de Cassia da Silveira e Sa R, Andrade LN, de Sousa DP. A review on anti-inflammatory activity of monoterpenes. *Molecules* 2013; 18(1): 1227-54.
- [17] Merighi S, Gessi S, Varani K, Fazzi D, Mirandola P, Borea PA. Cannabinoid CB(2) receptor attenuates morphine-induced inflammatory responses in activated microglial cells. *Br J Pharmacol* 2012; 166(8): 2371-85.
- [18] Abo-Salem OM, Hayallah AM, Bilkei-Gorzo A, Filipek B, Zimmer A, Muller CE. Antinociceptive effects of novel A2B adenosine receptor antagonists. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 308(1): 358-66.
- [19] Gutierrez-Venegas G, Arreguin-Cano JA, Hernandez-Bermudez C. Bradykinin promotes Toll like receptor-4 expression in human gingival fibroblasts. *Int Immunopharmacol* 2012; 14(4): 538-45.
- [20] Hosseinzadeh H, Behravan E, Soleimani MM. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Pistacia vera* leaf extract in mice. *Iran J Pharm Res* 2011; 10(4): 821-8.
- [21] Kiasalari Z, Khalili M, Roghani M, Heidari H, Azizi Y. Antiepileptic and Antioxidant Effect of Hydroalcoholic Extract of *Ferula Assa Foetida* Gum on Pentylentetrazole- induced Kindling in Male Mice. *Basic Clin Neurosci* 2013; 4(4): 299-306.
- [22] Damas J, Liegeois JF. The inflammatory reaction induced by formalin in the rat paw. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1999; 359(3): 220-7.
- [23] Borner C, Hollt V, Kraus J. Mechanisms of the inhibition of nuclear factor-kB by morphine in neuronal cells. *Mol Pharmacol* 2012; 81(4): 587-97.
- [24] Franchi S, Moretti S, Castelli M, Lattuada D, Scavullo C, Panerai AE, et al. Mu opioid receptor activation modulates Toll like receptor 4 in murine macrophages. *Brain Behav Immun* 2012; 26(3): 480-8.

- [25] Morello S, Sorrentino R, Pinto A. Adenosine A2a receptor agonists as regulators of inflammation: pharmacology and therapeutic opportunities. *J Receptor Ligand Channel Res* 2009; 2: 11-7.
- [26] Kidd BL, Urban LA. Mechanisms of inflammatory pain. *Br J Anaesth* 2001; 87(1): 3-11.
- [27] Fredholm BB, Cunha RA, Svenningsson P. Pharmacology of adenosine A2A receptors and therapeutic applications. *Curr Top Med Chem* 2003; 3(4): 413-26.
- [28] Freidin M, Kessler JA. Cytokine regulation of substance P expression in sympathetic neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88(8): 3200-3.
- [29] Hua XY, Chen P, Fox A, Myers RR. Involvement of cytokines in lipopolysaccharide-induced facilitation of CGRP release from capsaicin-sensitive nerves in the trachea: studies with interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha. *J Neurosci* 1996; 16(15): 4742-8.