

اثرات سیلیمارین در مدل تجربی درد التهابی ناشی از فرمالین و ارتباط آن با سیستم هیستامینرژیک

میترا قلی‌زاده نیکپی^۱، علی مجتهدین^۲، رضا سید شریفی^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

۲- بخش فیزیولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. a_mojtahedin@uma.ac.ir

۳- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۸

چکیده

زمینه و هدف: درد شایع ترین شکایت کلینیک بیبیماران بوده و یکباز قدیمی ترین مشکلات بشری است که با توجه به اثرات درمانی گیاهان دارویی، در تجربه حاضر اثرات سیلیمارین، ماده مؤثره گیاه خار مریم، در مدل تجربی درد التهابی ناشی از فرمالینو ارتباط آن با سیستم هیستامینرژیک مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: در پژوهش حاضر از ۴۲ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار استفاده شد. حیوانات در ۷ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه ۱ (شاهد): سالیین نرمال + فرمالین ۱ درصد کف پای، گروه ۲، ۳، ۴ و ۵: دریافت کنند هسیلیمارین (۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ و ۴۰ میلی گرم به کیلوگرم، داخل صفاقی) + فرمالین ۱ درصد. گروه ۶: دریافت کنند ه رانیتیدین (۲۰ میلی گرم به کیلوگرم، داخل صفاقی) + فرمالین ۱ درصد. گروه ۷: دریافت کنند ه پیش تزریق رانیتیدین (۲۰ میلی گرم به کیلوگرم، داخل صفاقی) + سیلیمارین (۲۰۰ میلی گرم به کیلوگرم، داخل صفاقی) + فرمالین ۱ درصد.

یافته ها: نتایج پژوهش حاضر نشان داد تزریق کف پای فرمالین ۱ درصد به طور معنی داری ($P < 0/05$) موجب بروز یک پاسخ درد دو مرحله ای در حیوان گردید. تزریق سیلیمارین موجب کاهش معنی دار ($P < 0/05$) پاسخ های درد فرمالینی در هر دو مرحله شد. از طرفی پیش تزریق رانیتیدین به مقدار ۲۰ میلی گرم به کیلوگرم قبل از سیلیمارین (۲۰۰ میلی گرم به کیلوگرم) موجب کاهش معنی-دار ($P < 0/05$) پاسخ های درد در هر دو مرحله اول و دوم گردید.

نتیجه گیری: نتایج مشخص نمود که سیلیمارین موجب بروز اثرات ضد دردی در درد ناشی از فرمالین شده و احتمالاً این اثرات از طریق تداخل با گیرنده های H_2 هیستامینی انجام می گیرد.

واژه های کلیدی: درد التهابی، رانیتیدین، سیلیمارین، سیستم هیستامینرژیک.

مقدمه

باشد (۸). درد و پردردی در نتیجه آسیب وارد شده به بافت و یا در اثر عفونت ایجاد می شود و باعث ظهور فرآیند التهاب می گردد (۲۰). بیشتر بیماری های بدن و نه همه ی آنها موجب درد می شوند. درد یک مکانیسم حفاظتی است. هنگامی که هر بافتی دچار آسیب می شود درد به وجود می آید و موجب می شود که شخص از خود واکنش نشان داده و محرک مولد درد را از میان بردارد (۷). درد به دو نوع عمده تقسیم شده است: درد

درد، یک احساس آزار دهنده و بسیار نامطلوب است. آدمی همیشه در پی مبارزه با درد بوده است و دانش پزشکی از همان ابتدا سعی در تسکین آن داشته است. درد یکی از تضعیف کننده ترین ناراحتی هاست، ولی می-توان گام هایی در راه جلوگیری از بروز آن، کاهش و یا حتی تسکین کامل آن برداشت. درد فرآیندی پیچیده در مغز و سلسله اعصاب دارد. شناخت ساز و کار و رفتار درد ممکن است در جلوگیری از آن و یا کاهش آن مفید

حاد (سریع) و درد مزمن (آهسته). درد سریع در ظرف یک دهم ثانیه بعد از وارد آمدن یک محرک درد زا به وجود می‌آید در حالی که درد آهسته بعد از یک ثانیه یا بیشتر شروع می‌شود و سپس شدت آن به آهستگی در طی ثانیه‌ها و حتی دقیقه‌ها افزایش می‌یابد. درد سریع (حاد) پاسخ بیولوژیکی مستقیم به بیماری، التهاب یا صدمه بافت است و غالباً به دلیل شدت آن، با بی‌قراری و اضطراب همراه است و در عین حال یک سیستم هشدار مفید برای بدن نیز به شمار می‌رود (۲۰). درد مزمن می‌تواند شکل‌گیری فرآیندهای جسمی، روانی، روحی و اجتماعی را مختل کند. از عوامل مختلفی به منظور تسکین این نوع درد می‌توان استفاده نمود (۳۳). محرک‌های ایجاد کننده درد شامل انواع محرک‌های مکانیکی، حرارتی و شیمیایی هستند. محرک‌های حرارتی و مکانیکی درد حاد یا تند ایجاد می‌کنند، در حالی که درد مزمن یا کند به وسیله هر سه نوع محرک تولید می‌شود. مواد مختلفی به عنوان واسطه‌های شیمیایی درد در انسان مطرح شده‌اند: هیستامین، پتاسیم آزاد شده از سلول‌های آسیب دیده، برادی‌کینین، ماده P و سایر پپتیدهای مرتبط، محیط اسیدی (یعنی کاهش موضعی pH در اطراف پایانه‌های عصبی)، ATP، سروتونین و استیل‌کولین. زمانی که این مواد گیرنده‌های درد را تحریک می‌کنند انسان درد سوزشی را احساس می‌کند. بنابراین محتمل است که گیرنده‌های درد در واقع گیرنده‌های شیمیایی باشند که به تجمع مواد شیمیایی آزاردهنده که توسط محرک حرارتی یا مکانیکی در بافت اطراف آزاد می‌شوند، یا مواد شیمیایی آگروژن که ممکن است به درون پوست نفوذ کرده و به پایانه‌های حسی آنها متصل می‌شوند، حساس هستند. هیستامین ماده‌ی واسطه‌ای مهم در واکنش‌های فوری آلرژیک و التهابی است. هیستامین توسط انواع مختلف سلول‌های بدن شامل ماست سل‌ها، بازوفیل‌ها، پلاکت‌ها،

سلول‌های شبه آنتروکرومافینی، سلول‌های آندوتلیال و نورون‌ها ساخته می‌شود و به‌عنوان یک پیامبر فیزیولوژیک در سراسر بدن عمل می‌کند. هیستامین محیطی فیبرهای عصبی منتقل‌کننده درد را تحریک می‌کند و موجب آزاد شدن نوروپپتیدهای مربوط به درد می‌شود و در هنگام تزریق به پوست خارش و درد ایجاد می‌کند (۳۶). در حالی که هیستامین نورونی مغز در تنظیم مرکزی بسیاری از اعمال فیزیولوژیک بدن نقش دارد. گیرنده‌هایی که به‌طور انتخابی به محرک‌هایی که می‌توانند به بافت آسیب برسانند پاسخ می‌دهند، گیرنده‌های درد خوانده می‌شوند (۱۳). اخیراً آنتی‌هیستامین‌ها به‌عنوان عوامل کاهش دهنده درد مورد توجه قرار گرفته‌اند. اگرچه ویژگی‌های تسکین دهنده‌ی درد آنتی‌هیستامین‌ها به‌خوبی تصدیق شده است، اما مکانیسم فعالیت و عملکرد داخل سلولی این ترکیبات کمتر شناخته شده است. هیستامین از مدت‌ها پیش به‌عنوان محرک قدرتمند ترشح اسید معده و به میزان کمتر به‌عنوان محرک تولید پپسین و فاکتور داخلی شناخته شده است. این اثرات هیستامین از فعال شدن گیرنده‌های H_2 سلول‌های جداری (پاریتال) معده ناشی می‌شود و با افزایش فعالیت آدنیل سیکلاز، افزایش غلظت cAMP و افزایش غلظت یون کلسیم (Ca^{++}) داخل سلولی همراه است. تزریق داخل جلدی هیستامین باعث ایجاد یک واکنش مشخص قرمزی، ادم و گرمی می‌شود (۶). هیستامین دارای گیرنده‌های متنوعی شامل H_1 ، H_2 ، H_3 و H_4 می‌باشد. گیرنده‌های H_2 مشابه گیرنده‌های H_1 ، بیان گسترده‌ای در مغز دارند. این گیرنده‌ها به‌طور گسترده‌ای در عقده‌های قاعده‌ای و قسمت‌هایی از سیستم لیمبیک نظیر تشکیلات هیپوکامپی و آمیگدال یافت شده است. از آگونیست‌های گیرنده‌ی H_2 هیستامینی دیماپریت، آمفتامین یا ایمپرومیدین و از آنتاگونیست‌های گیرنده‌ی H_2 هیستامینی بوریمامید، سایمتیدین، رانیتیدین، تیوتیدین،

درد به چگونگی اثر ضد دردی و مکانیسم عمل آن به- ویژه مداخله سیستم‌های نوروترنسمیتری مرتبط با اثر ضد دردی آن پرداخته نشده است. لذا هدف از تحقیق حاضر مطالعه اثرات سیلی‌مارین بر درد التهابی با استفاده از روش تجربی آزمون فرمالین با تاکید بر سیستم نوروترنسمیتری هیستامینرژیک در موش‌های صحرایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد استفاده: در این مطالعه که به صورت

تجربی انجام گردید از تعداد ۴۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن بین ۲۵۰-۲۲۰ گرم 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 به طور آزاد در اختیار حیوانات قرار داده شد.

داروهای مورد استفاده: سالین نرمال، محلول فرمالین

۳۷٪ (مرک- آلمان)، سیلی‌مارین (شرکت سیگما- آلدریچ آلمان)، رانیتیدین (آنتاگونیست H_2 هیستامینی) تهیه شده از شرکت سیگما- آلدریچ آلمان. از سالین نرمال به عنوان حلال و رقیق کننده داروها استفاده شد.

گروه‌های آزمایشی

۱- گروه اول (گروه شاهد): دریافت کننده سالین نرمال به صورت داخل صفاقی و سپس تزریق کف‌پایی فرمالین ۱ درصد (۳۴، ۳۱-۲۹).

۲- گروه ۲، ۳، ۴ و ۵: دریافت کننده سیلی- مارین (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخل صفاقی و سپس تزریق کف‌پایی فرمالین ۱ درصد (۱۰، ۲-۱).

۳- گروه ۶: دریافت کننده رانیتیدین (آنتاگونیست H_2 هیستامینی) به مقدار ۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن

فاموتیدین یا لوراتیدین را می‌توان نام برد. گیرنده‌های H_2 هیستامینی دارای فعالیت‌های فیزیولوژیک از قبیل ترشح معدی در بافت‌های محیطی، انتقال، شکل‌گیری و انعطاف‌پذیری سیناپسی در CNS می‌باشد (۱۳). امروزه عمدتاً کنترل درد از طریق مصرف داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی و داروهای اوبیوئیدی 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 (۴). با توجه به عوارض جانبی داروهای سنتتیک در طول درمان و شرایط دردناک بیماری و التهاب، در بسیاری از مطالعات هدف از بررسی عصاره‌های گیاهی و ترکیبات فعال آن‌ها ارزیابی فعالیت ضددردی و ضدالتهابی آن‌ها می‌باشد (۲۳، ۳۲). در میان گیاهان، گیاه دارویی خار مریم مورد توجه پژوهشگران مختلف قرار گرفته است. این گیاه با نام علمی *Silybum marianum* به طور خودرو در کنار جاده‌های متروک اراضی بایر در مناطق مختلف ایران یافت می‌شود. این گیاه دارای ترکیبات متعدد از جمله سیلی‌مارین می‌باشد (۴۵). در پژوهش‌ها اثرات فارماکولوژیکی مختلفی برای سیلی‌مارین شناسایی شده است. این اثرات شامل خاصیت آنتی‌اکسیدانی، محافظت کبدی، ضد سرطانی، عامل محافظت نورونی در برابر بیماری‌های عصبی، ضد التهابی و فعالیت ایمنی می‌باشد (۴۰، ۳۹، ۲۶، ۲۱، ۱۲-۱۰). سیلی‌مارین به عنوان یک داروی گیاهی، در حیواناتی که در آن‌ها درد القا شده مورد استفاده واقع شده و اثرات ضد درد معنی‌داری از خود نشان داده و به عنوان یک داروی ضد درد با امتیازات هزینه پایین، دسترسی راحت، کیفیت مناسب توصیه شده است (۳۹). با عنایت به مطالب ذکر شده در مورد اثرات درمانی این ماده، با این وجود در تحقیقات محدود صورت گرفته در رابطه با سیلی‌مارین در زمینه

انحراف استاندارد (Mean±SEM) و در سطح معنی داری $P < 0/05$ ارزیابی و در نظر گرفته شد.

نتایج

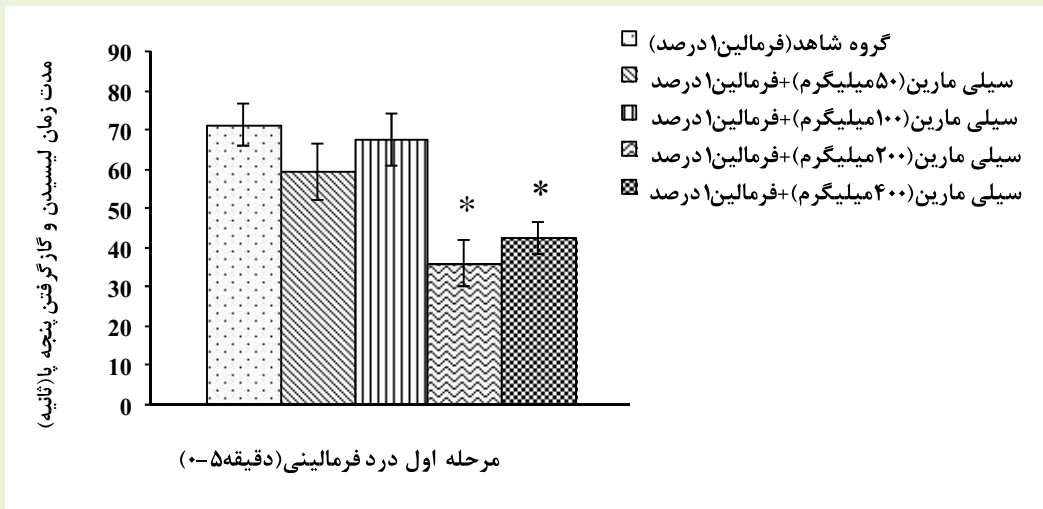
در مطالعه حاضر، تزریق کف پای فرمالین ۱ درصد موجب بروز یک پاسخ درد دو مرحله‌ای (مرحله اول ۵-۰ دقیقه و مرحله دوم ۴۰-۱۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین) در حیوانات گردید. به طوری که مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده در حیوان در مرحله اول $72/5 \pm 5/2$ و در مرحله دوم $60/06 \pm 3/12$ ثبت گردید (نمودار ۱). تزریق داخل صفاقی سیلی مارین در مقادیر ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش پاسخ درد در هر دو مرحله اول و دوم درد فرمالینی گردید. به طوری که مقدار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی-گرم به کیلوگرم وزن بدن به طور معنی داری ($P < 0/05$) موجب سرکوب پاسخ‌های درد در هر دو مرحله اول و دوم نسبت به گروه شاهد شد (نمودار ۲). نتایج مشخص نمود تزریق داخل صفاقی رانیتیدین به مقدار ۲۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش معنی دار ($P < 0/05$) پاسخ درد فرمالینی در مرحله اول نسبت به گروه شاهد گردید. از طرفی پیش تزریق رانیتیدین به مقدار ۲۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن قبل از سیلی مارین به مقدار ۲۰۰ میلی گرم موجب پاسخ‌های درد فرمالینی در هر دو مرحله اول و دوم گردید. به طوری که در مرحله دوم درد فرمالینی این کاهش نسبت به گروه سیلی-مارین به تنهایی، اختلاف معنی دار ($P < 0/05$) نشان داد (نمودار ۳ و ۴).

به صورت داخل صفاقی و سپس تزریق کف پای فرمالین ۱ درصد (۴۴، ۳۱، ۱۵).

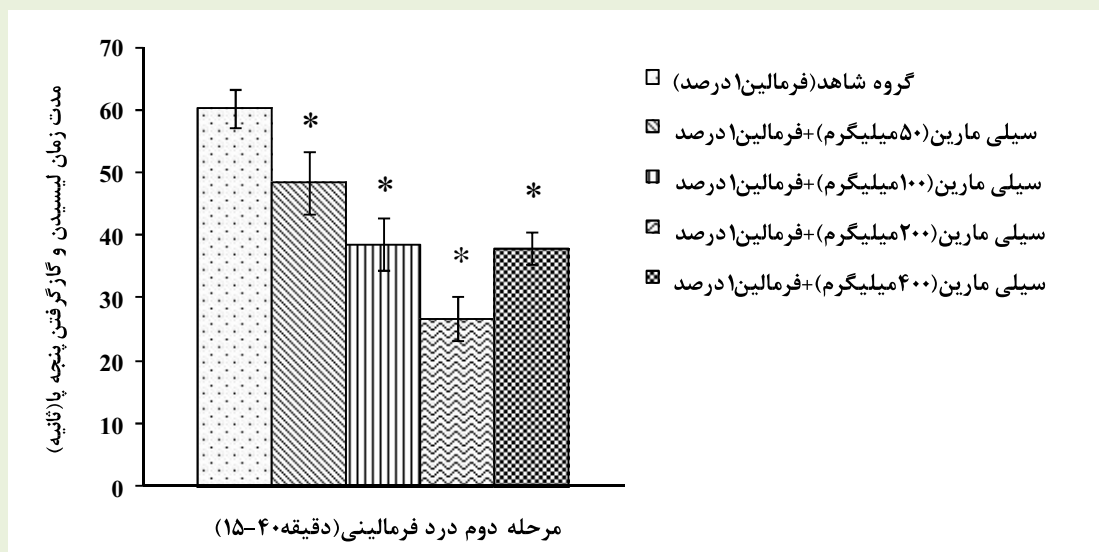
۴- گروه ۷: دریافت کننده پیش تزریق رانیتیدین (۲۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخل صفاقی و سپس سیلی مارین (۲۰۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخل صفاقی و سپس تزریق کف پای فرمالین ۱ درصد (۴۴، ۳۱، ۱۵، ۲-۱).

نحوه ارزیابی درد التهابی: برای ایجاد درد التهابی در حیوانات از آزمون فرمالین استفاده شد. حیوانات سه روز متوالی و هر روز ۳۰ دقیقه در دستگاه آینه درد قرار داده شدند. این عمل به منظور سازگاری حیوانات با روش کار و کاهش عوامل استرس زا انجام شد. دستگاه آینه درد از یک محفظه‌ی شیشه‌ای در ابعاد $25 \times 30 \times 30$ سانتی متر و یک چهارچوب چوبی تشکیل شده است. در داخل چهارچوب یک آینه با زاویه ۴۵ درجه قرار داده شد به طوری که نحوه قرار گرفتن آینه باعث مشاهده رفتارهای حیوان متعاقب تزریق کف پای فرمالین و یا سایر مواد در دوز آینه گردید. در روز سوم پس از سازگاری، فرمالین ۱ درصد به حجم ۵۰ میکرولیتر توسط سرنگ با سر سوزن شماره ۲۹ به صورت زیر جلدی در کف پای راست حیوان تزریق شد و مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده به عنوان پاسخ درد در فواصل زمانی ۵ دقیقه‌ای به مدت یک ساعت توسط کرونومتر بر حسب ثانیه محاسبه شد (۳۴، ۳۱-۲۹).

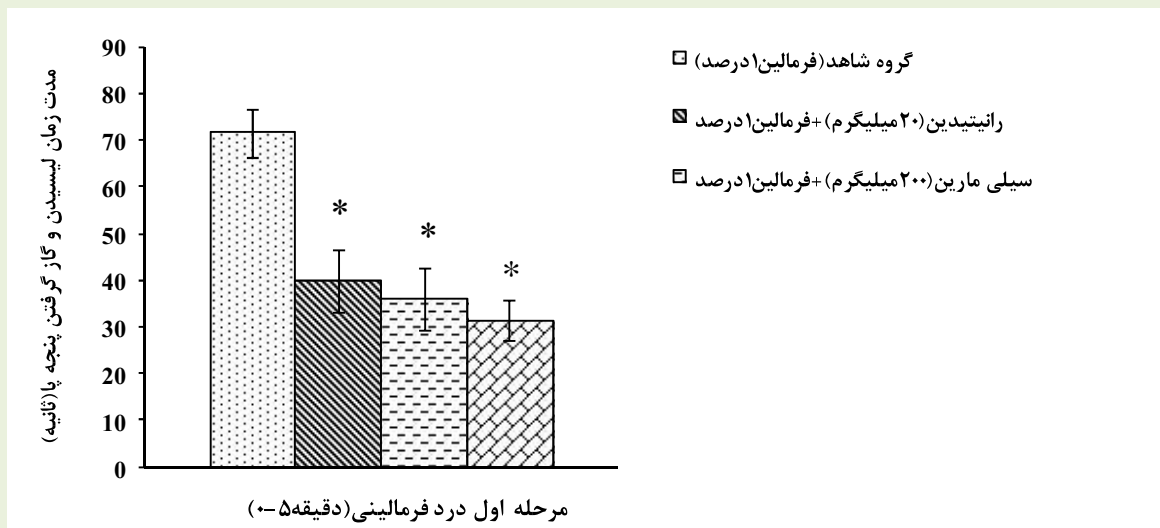
روش تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 19 و آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و سپس آزمون تعقیبی دانکن تجزیه و تحلیل شدند. نتایج به صورت میانگین و



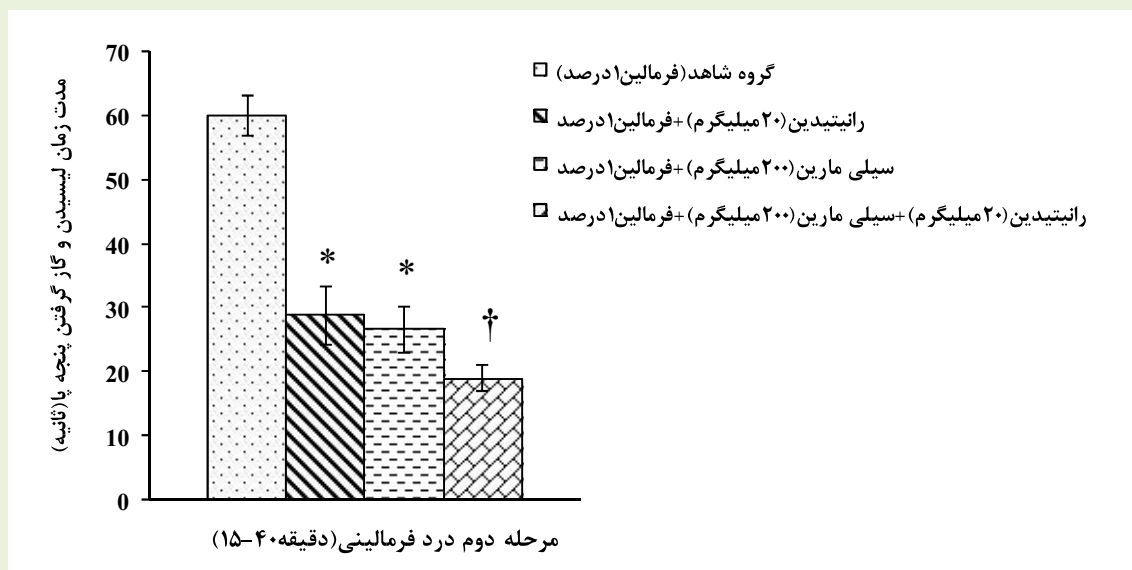
نمودار ۱- اثرات تزریق داخل صفاقی سیلی مارین بر پاسخ مرحله اول و دوم درد (مدت زمان لیسیدن و گازگرفتن پنجه پا) ناشی از تزریق کف پای فرمالین ۱ درصد در موش های صحرائی (* نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P < 0/05$) نسبت به گروه شاهد.



نمودار ۲- اثرات تزریق داخل صفاقی سیلی مارین بر پاسخ مرحله دوم درد (مدت زمان لیسیدن و گازگرفتن پنجه پا) ناشی از تزریق کف پای فرمالین ۱ درصد در موش های صحرائی (* نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P < 0/05$) نسبت به گروه شاهد.



نمودار ۳- اثرات تزریق داخل صفاقی سیلی مارین و رانیتیدین بر پاسخ مرحله اول درد (مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پا) ناشی از تزریق کف پای فرمالین ۱ درصد در موش‌های صحرائی. (* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) نسبت به گروه شاهد.



نمودار ۴- اثرات تزریق داخل صفاقی سیلی مارین و رانیتیدین بر پاسخ مرحله دوم درد (مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پا) ناشی از تزریق کف پای فرمالین ۱ درصد در موش‌های صحرائی. (* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) نسبت به گروه شاهد. († نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) نسبت به گروه سیلی مارین به تنهایی.

بحث و نتیجه گیری

صحرائی مورد بررسی قرار گرفت. در آزمون فرمالین تزریق زیرجلدی فرمالین رقیق شده در پنجه پای حیوان رفتار دو مرحله‌ای درد ایجاد می‌کند (۳۱-۲۹، ۱۹، ۱۶). مرحله اول به واسطه اثر مستقیم روی گیرنده‌های درد

در پژوهش حاضر اثرات جداگانه و توأم سیلی مارین و رانیتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2 هیستامینی) بر درد التهابی با استفاده از آزمون فرمالین در موش‌های

ضد دردی روی دردهای احشایی در موش‌های سوری نداشته و هیچ اثر تقویت کننده‌ای روی مرفین و نالوکسانن دارد (۲۲). نتایج پژوهش‌های پیشین نشان داده است که تزریق پریل آمین (آنتاگونیست گیرنده H_1 هیستامینی) و رانیتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2 هیستامینی)، پاسخ درد وابسته به دوز در آزمون فرمالین نشان داده‌اند (۲۸). نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که تجویز رانیتیدین به همراه مرفین سبب بلوک فعالیت ضد دردی مرفین شده است در حالی که سایمتیدین بر خلاف دیگر آنتاگونیست‌های H_2 اثر ضد دردی مرفین را تقویت کرده و از طرفی سبب افزایش سطح مرفین داخل مغزی می‌شود که این اعمال شباهتی به اعمال انسدادی گیرنده آن ندارد (۴۲، ۲۲). نتایج یک پژوهش مشخص نموده است که سایمتیدین باعث کاهش درد با اثر تقریباً طولانی به‌ویژه در جراحی‌های کوچک تا متوسط می‌شود و نیز اثر سایمتیدین با مرفین به‌عنوان یک ضد درد شناخته شده قابل مقایسه است و مشاهده شده است که در بی‌دردی با مرفین برابری می‌کند (۵). مطالعات انجام پذیرفته نشان داده است که تزریق آنتاگونیست‌های گیرنده H_1 (کلرفنیر آمین) و H_2 هیستامینی (سایمتیدین) به ترتیب پیشرفت درد حرارتی و مکانیکی را مهار کرده است، اگرچه کلرفنیل آمین اثر قوی‌تری داشته است (۴۶). پژوهش‌ها نشان داده که تزریق مرکزی هیستامین، پیرامین (آنتاگونیست گیرنده H_1 هیستامین) و فاموتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2 هیستامینی) به‌طور معنی داری باعث کاهش درد مرحله دوم فرمالینی شده است (۳۱-۲۹). مطالعات انجام گرفته بر روی درد فرمالینی در موش صحرائی با استفاده از هیستامین، پیرامین (آنتاگونیست گیرنده H_1) و فاموتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2) که به‌صورت تزریق داخل بطن مغزی (Intracerebriventricular injection) (icv) صورت پذیرفته است هیچ‌گونه اثرات

صورت می‌پذیرد که مربوط به فعالیت گیرنده‌های درد فیر C می‌باشد و به مدت ۱۰ دقیقه به طول می‌انجامد (درد نوروزنیک). مرحله دوم در نتیجه اثر مستقیم واسطه‌های التهابی صورت می‌پذیرد و از دقیقه ۱۵ تا ۲۰ بعد از تزریق فرمالین آغاز می‌گردد و وابسته به پاسخ‌های التهابی می‌باشد و واسطه‌های التهابی از قبیل پروستاگلاندین‌ها، برادی‌کینین، هیستامین، α -TNF و اینترلوکین‌ها را آزاد می‌کند. رفتارهای مرتبط با درد فرمالینی عمدتاً شامل رفتار لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده می‌باشد. آزمون فرمالین در حیواناتی از قبیل موش‌های آزمایشگاهی (بزرگ و کوچک)، گربه، خرگوش، خوکچه هندی، مرغ خانگی انجام پذیرفته است. با وجود این در حیواناتی مثل خرگوش و گوسفند پاسخ درد ناشی از تزریق فرمالین به صورت یک مرحله‌ای گزارش شده است (۴۱، ۱۹). به هر حال درد دو مرحله‌ای ایجاد شده در مطالعه حاضر با مطالعات مذکور در حیوانات آزمایشگاهی هم‌خوانی دارد. نتایج پژوهش حاضر مشخص نمود که تزریق داخل صفاقی رانیتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2 هیستامین) به مقدار ۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش معنی دار ($P < 0.05$) پاسخ درد فرمالینی در هر دو مرحله اول و دوم گردید. آنتی‌هیستامین‌ها به‌عنوان داروی کاهنده درد، قبل و بعد از عمل جراحی به‌طور وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند. مشاهده شده که برخی از آنتی‌هیستامین‌ها از قبیل هیدروکسی‌زین، دیفن-هیدرامین، پریل آمین، پرومتازین خصوصیات تسکین درد را هم در حیوانات آزمایشگاهی و هم در انسان دارا می‌باشند (۱۷). مطالعات مختلفی که بر روی بلوک کننده‌های H_2 در حیوانات آزمایشگاهی انجام گردیده نشان داده است که سایمتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2 هیستامینی)، سبب بهبود درد و افزایش آستانه تحمل درد در حیوانات می‌گردد. یافته‌های دیگر نشان داد که سایمتیدین هیچ اثر

معنی داری در مرحله اول درد نشان نداد، اما باعث کاهش معنی دار در زمان سپری شده برای لیسیدن و گازگرفتن پنجه پای تزریق شده در مرحله دوم گردید. این پژوهش ها مشخص نمود که هیستامین به عنوان یکی از واسطه‌های التهابی موضعی در هر دو مرحله درد فرمالینی مشارکت می‌کند. از طرف دیگر نواحی از مغز از قبیل لایه‌های اکسترنال شاخ خلفی طناب نخاعی، پری و نتری کولار ماده خاکستری، هسته‌های سجافی (Raphe nucleus) و هسته عصب سه قلو مزن سفالون (Mesencephalic trigeminal nucleus) در کنترل درد دخالت می‌کنند (۳۱، ۳۵-۲۹). در پژوهش‌های دیگری بیان شده است که آنتاگونیست های گیرنده H₂ هیستامین به ویژه سایمتیدین و فاموتیدین از قدرت نسبتا بالاتر در جاروب رادیکال هیدروکسیل (OH) برخوردار می‌باشند (۳). هم چنین پژوهش‌های دیگری نشان داده‌اند که آنتاگونیست‌های گیرنده‌های H₂ هیستامین مانند سایمتیدین، بوریمامید، رانیتیدین، فاموتیدین و تیوتیدین علاوه بر این که به خوبی می‌توانند ترشح اسیدناشی از تحریک با هیستامین را در معده مهار سازند، قادرند به عنوان جاروب کننده‌های بسیار قدرتمند رادیکال هیدروکسیل نیز عمل کنند (۱۴). در مطالعه حاضر از داروی گیاهی سیلی‌مارین به منظور بررسی اثرات کاهندگی درد استفاده گردید. سیلی‌مارین عصاره فعال دانه‌ها و میوه‌های گیاه خارمریم است و شامل فلاونوئیدهایی از قبیل سیلی‌بین، ایزوسیلی‌بین، سیلی‌دیانین و سیلی‌کریستین می‌باشد (۴۳). این ماده اثرات ضدالتهابی، ضدسرطانی، حفاظت سلول و آنتی-اکسیدانی دارد. مطابق مطالعات مختلف سیلی‌مارین هیچ‌گونه اثرات سمی زمانی که در دوزهای فارماکولوژیکی استفاده شده است، نشان نداده است (۲۶). داده‌های حاصل از بررسی بر روی این گیاه نشان داده است که گیاه مذکور منبع اساسی از ترکیباتی است که از لحاظ پتانسیل درمانی قابل توجه می‌باشد (۳۷). بررسی فعالیت

ضد دردی عصاره گیاه خارمریم در مدل‌های حیوانی تجربی درد مشخص نمود که در آزمون اسید استیک در موش‌ها، سیلی‌مارین به طور معنی داری تعداد انقباضات شکمی را کاهش داد، هم چنین در آزمون غوطه‌وری دم در موش‌های صحرایی استفاده از سیلی‌مارین به طور معنی داری باعث افزایش مدت زمان سپری شده برای تلنگر دم گردیده است. در آزمون صفحه داغ در موش نیز سیلی‌مارین باعث افزایش معنی دار در واکنش به بالا کشیدن دم گردیده است (۲۴). نتایج نشان داده که در مرحله اول درد فرمالینی، تزریق دیکلوفناک و دوزهای متفاوت از سیلی‌مارین تفاوت معنی داری در پاسخ رفتاری درد موش نسبت به گروه شاهد نشان نداده، اما باعث کاهش معنی دار در شدت درد حیوان در مرحله دوم گردیده است (۲۰). سیلی‌مارین اثرات وابسته به دوز ضد التهابی داشته و نیز مهارکننده وابسته به دوز انباشت لوکوسیت‌ها در ترشحات التهابی می‌باشد (۲۱). نتایج پژوهش‌ها نشان داده که فرآیند التهاب توسط مهار مهاجرت نوتروفیل‌ها به طرف محل التهاب صورت می‌پذیرد که منجر به تراوش (ROS Reactive Oxygen Species) و (RNS Reactive Nitrogen Species) و آنزیم‌های پروتئولیتیک شده که در نتیجه آسیب در مویرگ‌های اندوتلیال حاصل شده و سبب افزایش تراوایی سد اندوتلیال و ادم می‌گردد (۲۵). پاسخ به التهاب با فعالیت ماکروفاژهای موجود در محل آسیب آغاز می‌شود و ترشح مداوم واسطه‌های مرتبط با التهاب از قبیل ایکوزانوئیدها، سیتوکین‌ها، کموکین‌ها و پروتئازها صورت می‌پذیرد، که فعال شدن و به کار افتادن لوکوسیت‌ها را تحریک می‌کند. برطرف شدن التهاب (پاسخ ضد التهابی) یک فرآیند فعال است که توسط واسطه‌های درون‌زاد کنترل می‌شود که به صورت متوقف کردن بیان ژن‌های مرتبط با التهاب و سلول‌های درگیر در محل صورت می‌پذیرد و در نهایت منجر به مرگ سلول-

آلرژیکی هستند. به همین دلیل می‌توانند اثرات مهاری در آزادسازی هیستامین از بازوفیل‌ها و ماست سل‌ها داشته باشند از آنجایی که آسیب، سبب فعال شدن انتهای عصب حسی به‌طور مستقیم و یا از طریق آزاد شدن هیستامین از مجاورت ماست سل‌ها می‌شود و هیستامین نیز باعث آزاد سازی ماده P و CGRP (Calcitonin gene-related peptide) می‌شود (۳۸). مهار ترشح هیستامین منجر به جلوگیری از ترشح موادی از قبیل ماده P و CGRP می‌گردد و از این طریق نیز موجب سرکوب درد و کاهش تداوم آن می‌گردد. از طرف دیگر تداخل عمل سیلی مارین با آنتاگونیست گیرنده H_2 هیستامینی نشان داد که استفاده توأم از این داروها باعث کاهش معنی‌دار شدت و مدت زمان درد ناشی از تزریق کف پایی فرمالین گردید که احتمالاً این اثرات ضددردی سیلی مارین ناشی از تقویت نمودن قدرت کاهش‌دهندگی درد توسط آنتاگونیست‌های هیستامینی می‌باشد. بدین ترتیب می‌توان بیان داشت که احتمالاً اثرات کاهش‌دهندگی درد سیلی-مارین با واسطه‌گری سیستم هیستامینرژیک به انجام می‌رسد. با این وجود دستیابی به نتایج دقیق‌تر نیازمند استفاده از سایر آنتاگونیست‌های هیستامینی و نیز سایر نوروترنس‌میت‌های دخیل در فرایند درد می‌باشد.

های ملتهب و فاگوسیتوزی آن‌ها می‌گردد (۲۷). از آنجایی که سیلی مارین، حاوی ۸۰٪ سیلی بین است، مشخص شده است که می‌تواند در بهبود فرآیندهای التهابی و کاهش سطح سرمی سیتوکین‌های التهابی مؤثر باشد. مطالعات مختلفی تأیید کرده‌اند که سیلی بین بیان مولکول‌های پیش‌التهابی را مهار می‌کند (۱۸، ۹). سیلی-مارین فرآیند التهاب را از طریق مهاجرت نوتروفیل‌ها و سلول‌های کوپفر، مهار می‌کند. این عصاره همچنین تشکیل‌واسطه‌های التهابی از قبیل پروستاگلاندین‌ها و به-ویژه لوکوترین‌ها را از طریق مهار مسیر ۵-لیپوکسی ژناز بلوکه می‌کند و باعث مهار آزاد سازی و ترشح هیستامین از بازوفیل‌ها می‌شود (۱۰). 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 می‌باشد. سیلی مارین یک ترکیب فلاونوئیدی است، این قبیل ترکیبات با مهار آنزیم سیکلوکسی ژناز، تولید پروستاگلاندین E را از اسید آراشیدونیک در پاسخ به محرک‌های التهابی مهار می‌کنند و با توجه به این که پروستاگلاندین‌ها در ایجاد التهاب و تشدید درد اثر دارند و از اسید آراشیدونیک منشاء می‌گیرند، احتمالاً فلاونوئیدهای موجود در این گیاه در ایجاد اثر ضد التهابی و ضد دردی نقش دارند. از طرف دیگر ترکیبات فلاونوئیدی دارای خصوصیات ضد

منابع

۱- ارزیابی رفتاری، بیوشیمیایی و بافت شناسی. مجله کومش، جلد ۱۲، شماره ۴. ص ۴۶۶-۴۵۹.

۳- شهیدی، م.، مزدارانی، ح.، سمیعی، ف. ۱۳۷۹. بررسی اثر تعدیل‌کنندگی فاموتیدین بر آثار کلاس توژنیک پرتوهای گامادر سلول‌های اریتروسیتی مغز استخوان موش با روش آزمون میکرونوکلئتی. مجله علمی- پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران سال دهم، شماره ۲۶. ص ۱۹-۲۶.

۱- بلوچ نژاد مجرد، ت.، روغنی، م.، خواست خدایی، ز. ۱۳۸۸. بررسی اثر تجویز دراز مدت سیلی مارین بر هیپرآلرژی حرارتی و شیمیایی در مدل تجربی نوروپاتی دیابتی در موش صحرائی نر. مجله غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران. دوره ۱۱. شماره ۵. ص ۵۸۹-۵۸۳.

۲- بلوچ نژاد مجرد، ت.، روغنی، م.، مفاخری، م. ۱۳۹۰. اثر حفاظتی عصاره آبی ماریتیغال در مدل بیماری پارکینسون الفاء شده توسط ۶-هیدروکسی دوپامین در موش صحرائی نر:

16. Fu, K.Y., Light, A.R., Maixner, W. (2001). Long-lasting inflammation and long-term hyperalgesia after subcutaneous formalin injection into the rat hind paw. *J Pain*, 2(1); 2-11.
17. Galeotti, N., Ghelardini, C., Bartolini, A. (2002). Antihistamine antinociception is mediated by G_i-protein activation. *Neuroscience*, 109(4); 811-818.
18. Giorgi, V.S., Peracoli, M.T., Peracoli, J.C., Witkin, S.S., Bannwart- Castro, C.F. (2012). Silibinin modulates the NF- κ B pathway and pro-inflammatory cytokine production by mononuclear cells from pre-eclamptic women. *J Reprod Immunol*, 95; 67-72.
19. Gong, N., Huang, Q., Chen, Y., Xu, M., Ma, S.H., Wang, Y. (2014). Pain assessment using the rat and mouse formalin tests. *bio protocol*, 4(21); 1-7.
20. Hassani, F.V., Rezaee, R., Sazegara, H., Hashemzaei, M., Shirani, K., Karimi, G. (2015). Effects of silymarin on neuropathic pain and formalin-induced nociception in mice. *Iran J Basic Med Sci*, 18(7); 715-720.
21. Herman, H., Pilat, L., Mihali, C., Popescu, C., Turcus, V., Ardelean, A., et al. (2011). Pharmacology of *Silybum marianum* and its active constituents. therapeutic activity- Part 2. *J Med Aradean*, 14(2); 35-40.
22. Hough, L.B., Nalwalk, J.W., Leurs, R., Menge, W.M., Timmerman, H. (2000). Antinociceptive activity of derivatives of improgran and burimamide. *Pharmacol Biochem and Behav*, 65(1); 61-66.
23. Iranshahi, M., Askari, M., Sahebkar, A., Adjipavlou-Litina, D. (2009). Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and lipoxygenase inhibitory activities of the prenylated coumarin umbelliprenin. *Daru*, 17; 99-103.
24. Jadhav, G.B., Upasani, C.D. (2009). Analgesic effect of silymarin in experimental induced pain in animal models. *J Pharmacy Res*, 2(8); 1276-1278.
25. Juma, K.M., Hussain, S.A., Numan, I.T., Siqar, A.H. (2009). Dose-dependent anti-inflammatory effect of silymarin in experimental animal model of acute inflammation. *Iraqi J Pharmaceut Sci*, 18.
26. Karimi, G., Vahabzadeh, M., Lari, P., Rashedinia, M., Moshiri, M. (2011). Silymarin, a promising pharmacological agent for treatment of diseases. *Iran J Basic Med Sci*, 14(4); 308-317.
- ۴-عباس‌نژاد، م.، کرامت، ب.، سالاری، س.، حسین‌زاده، م. ۱۳۹۱. اثر عصاره آبی و الکلی میخک قرنفلی بر درد ناشی از تزریق فرمالین در موش‌های صحرایی نر. فصلنامه گیاهان دارویی. سال یازدهم. دوره ۲. شماره ۴۲. ص ۲۳۲-۲۲۵.
- ۵-فروزش‌فرد، م.، میلادی‌گرگی، ح. ۱۳۸۴. تعیین اثر ضد دردی سایمیتیدین در کنترل درد بعد از عمل جراحی و مقایسه اثر آن با مورفین. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان، جلد ۷، شماره ۱ و ۲. ص ۶-۱.
- ۶-کاتزونگ، برترام‌جی. ۱۳۸۷. فارماکولوژی پایه و بالینی. ترجمه سعید حاجی‌رحیم‌خان، عشرت قرائی فتح‌آباد، چاپ اول، تهران: انتشارات تیمورزاده- نشر طبیب.
- ۷-گایتون، آرتور؛ هال، ج. ۱۳۸۴. فیزیولوژی پزشکی، ترجمه فرخ شادان، چاپ اول، تهران: انتشارات نشر.
- ۸-مردوخی، ر. ۱۳۸۶. درد و تسکین درد، چاپ اول، تهران: انتشارات نسل نواندیش.
9. Aziz, T.A., Marouf, B.H., Ahmed, Z.H.A., Hussain, S.A. (2014). Anti-Inflammatory Activity of Silibinin in Animal Models of Chronic Inflammation. *Am J Pharmacol Sci*, 2(1); 7-11.
10. Bhattacharya, S. (2011). Phytotherapeutic properties of milk thistle seeds: An overview. *J AdvPharmaEdu& Res*, 1; 69-79.
11. Borah, A., Paul, R., Choudhury, S.A., Bhuyan, B., Talukdar, A.D. (2013). Neuroprotective potential of silymarin against CNS Disorders. *CNS Neurosci&Therapeu*, 19; 847-853.
12. Brandon- Warner, E., Eheim, A.L., Foureau, D.M., Walling, T.L., Schrum, L.W., McKillop, I.H. (2012). Silibinin (Milk Thistle) potentiates ethanol-dependent hepatocellular carcinoma progression in male mice. *Cancer Lett*, 326(1); 88-95.
13. Brown, R.E., Stevens, D.R., Hass, H.L. (2001). The physiology of brain histamine. *Neurobiology*, 63; 637-672.
14. Ching, T.L., Jong, J. (1994). Structural characteristics of histamine H₂ receptor antagonists that scavenge hypochlorous acid. *Eur J pharmacol Mole Pharmacol Section*. 268; 89-93.
15. Farzin, D., Nosrati, F. (2007). Modification of formalin-induced nociception by different histamine receptor agonists and antagonists. *Eur Neuropsychopharmacol*, 17; 122-128.

27. Lawrence, T., Willoughby, D.A., Gilroy, D.W. (2002). Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation. *Nature Rev Immunol*, 2; 787-795.
28. Mobarakeh, J.I., Torkaman- Boutorabi, A., Rahimi, A.A., Ghasri, S., Nezhad, R.M., Hamzely, A. (2011). Interaction of histamine and calcitonin gene-related peptide in the formalin induced pain perception in rats. *Biomed Res*, 32(3); 195-201.
29. Mojtahedin, A., Tamaddonfard, E., Zanoori, A. (2008a). Antinociception induced by central administration of histamine in the formalin test in rats. *Indian J Physiol Pharmacol*, 52(3); 249-254.
30. Mojtahedin, A., Tamaddonfard, E., Zanoori, A. (2008b). Effects of mepyramine and famotidine on the physostigmine-induced antinociception in the formalin test in rats. *Pakistan J BiolSci*, 11; 2573-2578.
31. Mojtahedin, A. (2016). Effects of cholinergic system in antinociception induced by H₁ and H₂ receptor antagonists on somatic pain in rats. *Int J Med Res & Health Sci*, 5(9s); 378-383.
32. Monsef, H.R., Ghobadi, A., Iranshahi, M., Abdollahi, M. (2004). Antinociceptive effects of *Peganum harmala* L. alkaloid extract on mouse formalin test. *J Pharmacy & PharmaceuSci*, 7; 65-69.
33. Naderi, S., GhaderiPakdel, F., AshrafiOsalou, M., Cankurt, U. (2014). Acute systemic infusion of bupropion decrease formalin induced pain behavior in rat. *Korean J Pain*, 27(2); 118-124.
34. Ortiz, M.I., Castaneda- Hernandez, G. (2008). Examination of the interaction between peripheral lumiracoxib and opioids on the 1% formalin test in rats. *EuropJ Pain*, 12(2); 233- 241.
35. Parada, C.A., Tambeli, C.H., Cunha, F.Q., Ferreira, S.H. (2001). The major role of peripheral release of histamine and 5-hydroxytryptamine in eormaline- induced nociception. *Neurosci*, 102(4); 937-944.
36. Raffa, R.B. (2001). Antihistamines as analgesics. *J ClinPharmacol & Therapeu*, 26(2); 81-85.
37. Rita, C.S., Leandra, E.G., Franklin, F.F., Jnanabrata, B., Reinaldo, N.A. (2010). Antinociceptive and toxicological effects of diocleagranti flora seed pod in mice. *J Biomedand Biotechn*, 10; 1-6.
38. Rosa, A.C., Fantozzi, R. (2013). The role of histamine in neurogenic inflammation. *British J Pharmacol*, 170(1); 38-45.
39. Sahib, A.S. (2011). Antinociceptive effect of silymarin in experimental animals. *Al – Kindy Col Med J*, 7(2); 91-94.
40. Saller, R., Meier, R., Brignoli, R. (2001). The use of silymarin in the treatment of liver diseases. *Drugs*, 61(14); 2035-2063.
41. Tamaddonfard, E., Roshanimeydan, M., Dejhakhsh, A. (2003). Behavioural responses associated with formalin injection into the ear of sheep and rabbits. *Indian J Anim Sci*, 73; 1245-1246.
42. Thilagarajah, R., Witherow, R.O., Walker, M.M. (2001). Oral cimetidine gives effective symptom relief in painful bladder disease: a prospective, randomized, double-blind placebocontrolled trial. *British J Urology International*, 87(3); 207-212.
43. Wellington, K., Jarvis, B. (2001). Silymarin: a review of its clinical properties in the management of hepatic disorders. *Bio Drugs*, 15; 465-489.
44. Zanoori, A., Tamaddonfard, E., Mojtahedin, A. (2008). Effects of chlorpheniramine and ranitidine on the visceral nociception induced by acetic acid in rats. *Pak J BiolSci*, 11(20); 2428-2432.
45. Zargari, A. (1997). *Medicinal Plants*. 7th ed. Tehran: Tehran University Pub, 488-495.
46. Zuo, Y., Perkins, N.M., Tracey, D.J., Geczy, C.L. (2003). Inflammation and hyperalgesia induced by nerve injury in the rat. *Pain*, 105; 467-479.



Effects of Silymarin in Experimental Inflammatory Pain Induced by Formalin and Relation with Histaminergic System

M.Gholizade Nikpey¹, A. Mojtahedin², R. Seyedsharifi³

1.M.Sc. Graduated in Animal Physiology, University of MohagheghArdabili, Ardabil. Iran.

2.Department of Physiology, Moghan Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of MohagheghArdabili, Ardabil. Iran. a_mojtahedin@uma.ac.ir

3.Animal Science Department, Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of MohagheghArdabili, Ardabil. Iran.

Received:2016. 3. 12

Accepted: 2017. 28. 1

Abstract

Introduction & Objective: The most common pain complaint of patients is one of the oldest forms of human problems. According to the therapeutic effects of medicinal plants, the effects of silymarin, an active ingredient of the Milk thistle, in an experimental model of inflammatory pain induced by formalin and examined its relationship with the histaminergic system.

Material and Methods: In this study, 42 male Wistar rats were used. Animals were divided into 7 groups in each group 6 rats as follows: Group 1 (Control): Normal Saline (i.p) + Formalin 1% (intraplantar), Group 2, 3, 4 and 5 Silymarin (50, 100, 200 and 400 mg/kg, ip) respectively + Formalin 1%, Group 6: Ranitidine (20 mg/kg, i.p) + Formalin 1%, Group 7: Ranitidine (20 mg/kg, i.p) + Silymarin (200 mg/kg, i.p) + Formalin 1%.

Results: The results showed that intraplantar injection of formalin 1% significantly ($P < 0.05$) produced a bi-phasic pain response. Silymarin injection significantly ($P < 0.05$) decreased formalin pain responses in both phases. On the other hand, pretreatment with ranitidine (20 mg/kg) before silymarin (200 mg/kg) induced a significant reduction ($P < 0.05$) in both the first and second phases of pain responses.

Conclusion: The results revealed that silymarin produced antinociception effect in formalin induced pain and this effect probably will be down by interfering with the H2 histamine receptors.

Keywords: Inflammatory pain, Ranitidine, Silymarin, Histaminergic system.