

بررسی اثرات ضد دردی اناریجه متعاقب درد التهابی ناشی از اسید استیک در موش کوچک آزمایشگاهی

امید عصاریان^۱، شاهین حسن پور^{۲*}، حسین اریک آغاجی^۲

چکیده

درد نوروپاتیک شرایط مزمنی است که با مکانیسم‌های پیچیده از طریق میانجی‌های عصبی انجام می‌شود. بنابراین، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات ضد دردی اناریجه متعاقب درد التهابی ناشی از اسید استیک در موش کوچک آزمایشگاهی بود. در این مطالعه ۸۵ موش نر بالغ به ۴ آزمایش با ۴ گروه تقسیم شدند. در آزمایش ۱، حیوانات صفاقی سالین، عصاره اناریجه (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) را دریافت کردند. در آزمایش ۲، حیوانات با سالین، عصاره اناریجه (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، نالوکسان (۲ میلی گرم بر کیلوگرم) و تزریق همزمان نالوکسان + اناریجه دریافت کردند. آزمایش ۳ و ۴ مشابه آزمایش ۲ بود، به جز موش‌هایی که به جای نالوکسان، L-NAME (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و سیپروهپتادین (۴ میلی گرم بر کیلوگرم) تزریق شدند. سپس تزریق اسید استیک انجام و درصد مهار انقباضات شکمی ثبت شد. براساس یافته‌ها، تزریق سطوح ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم عصاره اناریجه بطور معنی داری موجب مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک شد ($P < 0/05$). تزریق توام نالوکسان به علاوه اناریجه بطور معنی داری موجب کاهش اثرات ضد دردی اناریجه در مقایسه با گروه اناریجه شد ($P < 0/05$). تزریق توام L-NAME به علاوه عصاره اناریجه بطور معنی داری موجب مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک شد ($P < 0/05$). تزریق توام L-NAME به علاوه اناریجه بطور معنی داری موجب مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک و مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک شد ($P < 0/05$). نتایج نشان دهنده این است که اناریجه دارای فعالیت ضد دردی بوده و این اثرات از طریق گیرنده‌های اوپیوئیدرژیک و نیتراژیک در موش سوری انجام می‌شود.

واژگان کلیدی: اناریجه، ضد دردی، تست رایت، موش

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱/۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۴/۱۳

مقدمه

درد یکی از مشکلات اصلی و اساسی در جوامع امروزی

بوده و علیرغم آن که هشدار برای آسیب‌های بافتی است، وجود درد احساس ناخوشایندی است که انسان را وادار میکند برای مقابله با آن از روش‌های مختلف درمانی استفاده نماید. درد به عنوان مجموعه ای پیچیده از تجارب ناخوشایند حسی، عاطفی و شناختی حاصله از آسیب بافتی و تظاهرات واکنش‌های اتونومیک، سایکولوژیک و رفتاری تعریف شده است. درد با سایر حس‌ها متفاوت است چون وجود مشکلی را در بدن هشدار می‌دهد (۱). امروزه برای کنترل درد بیشتر از داروهای ضدالتهاب غیر استروئیدی و بیا داروهای اوپیوئیدی استفاده میشود اما این داروها دارای عوارض جانبی نسبتاً زیادی بوده و با بروز اختلالات در دستگاه گوارش، آسیب‌های کلیوی و یا با وابستگی همراه هستند که در مجموع باعث شده است که محققین به دنبال داروهای جدیدتری باشند تا علاوه بر عوارض جانبی کمتر، ارزان و در دسترس هم باشند (۲). مصرف اوپیوئیدها در کوتاه و دراز مدت می‌تواند سبب عوارض جانبی مانند کاهش فعالیت دستگاه گوارش و یبوست، تهوع، استفراغ، خارش، احتباس ادرار و ایجاد وابستگی است (۳). یکی از راهکارهای کاهش اثرات سو داروهای موجود استفاده از گیاهان دارویی می‌باشد. گیاهان

۱. دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
s.hassanpour@srbiau.ac.ir

دارویی منبع مهمی از مواد شیمیایی جدید، با اثرات درمانی بسیار قوی می باشند (۴).

در حال حاضر کنترل درد با استفاده از داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی و داروهای ضد درد اپیوئیدی انجام می گیرد. مصرف این داروها عوارض جانبی متعددی را به همراه دارد. برای مثال اپیوئیدها منجر به تضعیف تنفس، تهوع، کاهش تحرکات دستگاه معده-روده‌ای، یبوست و تغییرات سیستم اندوکروینی و اتونومیک شده و در صورت مصرف طولانی مدت اعتیادآور نیز هستند (۵). داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی نیز باعث زخم‌های گوارشی و خونریزی، نفروتوکسیسیته و هپاتوتوکسیسیته می شوند (۶). بنابراین تحقیق جهت دستیابی به ترکیبات ضد درد با عوارض جانبی کمتر ضروری به نظر می رسد. استفاده از داروهای مخدر از جمله مورفین در بهبود بیمارانی که از درد شدید رنج می برند، از اهمیت فراوانی برخوردار می باشد. این داروها با تحریک گیرنده‌های اپیوئیدی دستگاه عصبی، توانایی تخفیف درد را دارند. با این وجود وجود گزارش‌های مختلفی در ارتباط با وجود تفاوت‌های جنسی بین نر و ماده در پاسخ به اپیوئیدها گزارش شده است. بسیاری از این مطالعات اثر ضد درد اپیوئیدها در جنس نر بیشتر از جنس ماده گزارش شده است. نشان داده شده که میزان بی دردی ایجاد شده توسط مورفین در بعضی از مدل‌های القای درد در جنس نر بیشتر است. این اختلافات، تفاوت‌های وابسته به جنس در حساسیت مغز به مورفین را منعکس می کند. در حالی که مشخص شده که سطح مورفین در خون و مغز در حیوان نر و ماده مشابه هستند، یکی از منطقی ترین تفسیرها در

مورد تفاوت‌های وابسته به جنس در پاسخ به اپیوئیدها، هورمون‌های جنسی هستند که در این اثرات دخالت دارند (۷).

ترکیب‌های ثانویه گیاهان جزء ترکیباتی هستند که نقش چندانی در فرآیندهای اصلی گیاه مانند فتوسنتز و تنفس ندارند. از عمده وظایف آن‌ها می توان به جذب حشرات برای گرده افشانی، افزایش تحمل و سازگاری گیاه در برابر شرایط نامساعد محیطی، نقش تدافعی در برابر بیماری‌ها، آفات و حیوانات چرا کننده اشاره کرد (۶). *Froriepia subpinnata* که به نام اناریجه شناخته می شود، یک گیاه دارویی مهم از خانواده Apiaceae است که بومی منطقه قفقاز است و در نواحی شمالی ایران می روید. مطالعات نشان می دهد *Froriepia subpinnata* حاوی سطوح بالایی از مواد شیمیایی گیاهی آنتی اکسیدانی و محافظ عصبی از جمله ترکیبات فنلی مانند اسید کلروژنیک و همچنین فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و کومارین ها است (۸). این فیتوکمیکال‌ها فعالیت‌های آنتی اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد قابل توجهی را نشان می دهند. اناریجه دارای فعالیت مهار رادیکال DPPH در مقدار ۱۲/۸ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک است (۸). اسید کلروژنیک همچنین به طور خاص به عنوان ترکیب فنلی غالب در اناریجه شناسایی شده است که ممکن است برای درمان اسکیزوفرنی مفید باشد (۹). اندام های هوایی اناریجه از جمله برگ های تازه و خشک آن به دلیل خواص ضد عفونی کنندگی، ضد اسپاسم، ادرارآور، ضد عفونی کننده و آرام بخش این گیاه معمولاً در غذاهای محلی و طب سنتی استفاده می شود. اناریجه حاوی

حقوق حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت. پس از جمع آوری یا خریداری گیاه مورد نظر عصاره گیری از آن به روش هیدروالکلی انجام شد. یک هفته پس از آدپتاسیون موش‌ها، مطالعه انجام شد. در مرحله اول تعیین دوز موثر عصاره اناریجه انجام شد که شامل ۵ گروه آزمایشی بود (۵ موش در هر گروه).

مرحله اول

- الف- گروه اول به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد
- ب- گروه دوم تزریق دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره اناریجه
- ج- گروه سوم تزریق دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره اناریجه
- د- گروه چهارم تزریق دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره اناریجه
- ه- گروه پنجم تزریق دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم مورفین. پس از تعیین دوز موثر مرحله ۵-۲ انجام شد. در این مطالعه دور ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره اناریجه دوز موثر شناخته شد.

مرحله دوم

- الف- گروه اول به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد
- ب- گروه دوم تزریق دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره اناریجه
- ج- گروه سوم تزریق دوز ۲ میلی گرم بر کیلوگرم نالوکسان.
- د- گروه چهارم تزریق توام نالوکسان ۴۰۰+ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره اناریجه

مرحله سوم

- الف- گروه اول به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد

ترکیبات زیست فعال با اثرات آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی است (۱۰). اجزای اصلی شناسایی شده در اسانس استخراج شده از اندام هوایی اناریجه عبارتند از: p-cymen-8-ol (51.13%)، α -terpinolene (7.69%) و limonene (۶.۸۳٪) (۱۱). برخی از مطالعات استفاده از اناریجه را در طب سنتی برای درمان بیماری های خاصی مانند صرع گزارش کرده اند (۱۲)، علیرغم اثرات محافظت کننده عصبی این گیاه (۱۳) تا کنون مطالعه ای در خصوص اثرات آن بر کنترل درد انجام نشده است. لذا هدف از این مطالعه، بررسی اثرات ضد دردی اناریجه متعاقب درد التهابی ناشی از اسید استیک در موش کوچک آزمایشگاهی بود.

مواد و روش کار

در این پژوهش از ۸۵ موش نر کوچک آزمایشگاهی با میانگین سنی ۸-۱۰ هفته و محدوده وزنی ۲۸-۳۰ گرم استفاده شد. موش‌ها از بخش تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی موسسه رازی تهیه و در قفس‌های مخصوص واقع در مجتمع آزمایشگاهی رازی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران نگهداری شدند. به منظور پرهیز از استرس و سازگار شدن حیوانات با محیط، به مدت یک هفته، هیچگونه آزمایشی روی موش‌ها صورت نگرفت و تمامی حیوانات تحت شرایط محیطی و تغذیه ای یکسان (دما، رطوبت، نور، نوع جیره غذایی و تعداد دفعات غذای یکسان) نگهداری شدند و در چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعت نگهداری شدند. تغذیه موش‌ها با استفاده از پلت آماده مخصوص حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت و آب نیز به صورت مصرف آزاد با استفاده از آب لوله کشی شهری تأمین شد و در اختیار حیوانات قرار گرفت. دستورالعمل و روش کار این مطالعه مطابق اصول اخلاقی مورد تایید کمیته های بین المللی حمایت از

ب- گروه دوم تزریق دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره اناریجه

ج- گروه سوم تزریق دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم L-NAME

د- گروه چهارم تزریق توام L-NAME + ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره اناریجه

مرحله چهارم

الف- گروه اول به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد

ب- گروه دوم تزریق دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره اناریجه

ج- گروه سوم تزریق دوز ۴ میلی گرم بر کیلوگرم سپروهپتادین

د- گروه چهارم تزریق توام سپروهپتادین + ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره اناریجه

رایزینگ تست از تستهای استاندارد مورد استفاده در مطالعات درد می باشد که با تزریق یک ماده محرک مانند استیک اسید در صفاق و ایجاد درد احشایی اثر داروهای مورد نظر بررسی می گردد. از عوامل مهم ایجاد کننده درد در محیط پروستاگلاندین ها می باشند. اکثر داروهای ضد درد از طریق مهار سنتز این مواد در محیط عمل می کنند.

این تست اثرمسکنی داروهایی که از طریق مهار پروستاگلاندین عمل می کنند را نشان می دهد. در حقیقت یک تست غربال کننده می باشد که گروه داروهای با اثر مسکنی را از سایر داروها تفکیک می کند. سپس برای بررسی دقیق تر مکانیسم عمل از جمله اثرات محیطی یا مرکزی و اثرضد التهابی آنها از دیگر تستهای استاندارد استفاده می شود. عصاره اناریجه با سطوح ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر، دوزهای کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی تزریق گردید. پس از گذشت ۱۵ دقیقه اسید استیک ۰/۶ درصد به حجم ۰/۱ میلی لیتر بر کیلوگرم بلافاصله پس از تزریق درون صفاقی اسید تزریق و تعداد

انقباضات شکمی به گونه ای که هر دو پای موش کاملاً کشیده گردد به مدت ۳۰ دقیقه شمارش گردید. در گروه کنترل نیز بعد از تزریق درون صفاقی سالین، تست ریتینگ انجام شد (۲۵). محاسبه درصد مهار درد طبق فرمول زیر انجام شد:

(میانگین کنترل - میانگین درمان) × ۱۰۰ تقسیم بر میانگین کنترل

تجزیه و تحلیل داده ها

به منظور تجزیه و تحلیل داده ها، نتایج حاصل توسط آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و برای بررسی مقایسات میانگین بین گروه ها در سطح معنی - داری (P < 0.05) از تست چند دامنه ای توکی استفاده گردید.

نتایج

همانطور که در جدول ۱ دیده می شود مورفین طور معنی - داری موجب مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک نسبت به گروه کنترل شد (P < ۰/۰۵). عصاره اناریجه (۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) موجب مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک نسبت به گروه کنترل شد (P < ۰/۰۵).

جدول ۱- بررسی اثرات تزریق سطوح مختلف عصاره اناریجه بر تست درد ناشی از اسید استیک در موش سوری

گروه	تعداد انقباضات (میانگین ± انحراف معیار)	مهار (درصد)	P-value
کنترل	۸۶/۱۲ ± ۴/۲۶	-	-
اناریجه (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	۸۱/۱۲ ± ۲/۵۶	۵/۸۰	۰/۶۷

مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک نسبت به گروه کنترل نداشت ($P>0/05$).

جدول ۲- بررسی اثرات تزریق عصاره اناریجه، نالوکسان و تزریق توام آنها بر تست درد ناشی از اسید استیک در موش سوری

گروه	تعداد انقباضات (میانگین $\pm$ انحراف معیار)	مهار (درصد)	P-value
کنترل	۸۵/۳۲ $\pm$ ۳/۱۱	-	-
نالوکسان (۲ میلی گرم بر کیلوگرم)	۸۲/۳۴ $\pm$ ۳/۵۴	۳/۴۹	۰/۶۶
اناریجه (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	۶۴/۴۵ $\pm$ ۳/۲۲	۲۴/۴۶	۰/۰۳۴
نالوکسان + اناریجه	۷۲/۲۲ $\pm$ ۳/۶۱	۱۵/۳۵	۰/۰۴۵

جدول ۳- بررسی اثرات تزریق عصاره اناریجه، L-NAME و تزریق توام آنها بر تست درد ناشی از اسید استیک در موش سوری

گروه	تعداد انقباضات (میانگین $\pm$ انحراف معیار)	مهار (درصد)	P-value
کنترل	۸۶/۱۱ $\pm$ ۳/۴۴	-	-
L-NAME (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	۸۵/۳ $\pm$ ۳/۲۱	۰/۹۴	۰/۷۵
اناریجه (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	۶۴/۲۲ $\pm$ ۳/۱۱	۲۵/۴۲	۰/۰۱۲

اناریجه (۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) ۸۲/۲۵ $\pm$ ۳/۴۴ ۴/۶۶ ۰/۰۳۲

اناریجه (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) ۶۶/۲۶ $\pm$ ۴/۱۹ ۲۳/۰۶ ۰/۰۲۸

مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) ۵۳/۸۴ $\pm$ ۴/۳۵ ۳۷/۴۸ ۰/۰۲۲

با توجه به جدول ۲، عصاره اناریجه (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) موجب مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک نسبت به گروه کنترل شد ($P<0/05$). نالوکسان اثری بر انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک نداشت ($P>0/05$). تزریق توام نالوکسان به علاوه عصاره اناریجه بطور معنی داری موجب مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک نسبت به گروه کنترل شد ($P<0/05$).

همانطور که در جدول ۳ دیده می شود عصاره اناریجه (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) موجب مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک نسبت به گروه کنترل شد ($P<0/05$). L-NAME اثری بر انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک نداشت ($P>0/05$). تزریق توام L-NAME به علاوه عصاره اناریجه بطور معنی داری موجب مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک نسبت به گروه کنترل شد ($P<0/05$).

باتوجه به جدول ۴، عصاره اناریجه (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) موجب مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک نسبت به گروه کنترل شد ($P<0/05$). سیپروهپتادین (۴ میلی گرم بر کیلوگرم) اثری بر انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک نداشت ($P>0/05$). تزریق توام سیپروهپتادین به علاوه عصاره اناریجه تاثیری بر

التهابی مانند برادی کینین فرض می‌شود (۲۷). همچنین، عصاره اناریجه با مهار ترشح Cl^- منجر به شل شدن ماهیچه‌های صاف شریانی می‌شود که اساس مولکولی بالقوه‌ای برای مزایای محافظت کننده قلب دارد. با این حال، بر اساس محدودیت‌های مطالعه حاضر، ما نتوانستیم تأثیر عصاره اناریجه را بر روی کانالهای K^+ و Na^+ تعیین کنیم. شاید، ضد درد ناشی از عصاره اناریجه با این مکانیسم عمل کند. این پتانسیل‌های درمانی عصاره اناریجه به طور کامل استخراج نشده است و شایسته بررسی است. نقش انتقال دهنده‌های عصبی مانند گیرنده‌های مخدر، سروتونرژیک و آدرنرژیک در تنظیم تعدیل بازی پردازش درد در گزارش‌های متعددی نشان داده شده است. تعیین این سیستم‌ها در خصوص خواص دردناک گیاهان دارویی به عنوان داروی جدید و داروهای جدید بسیار مهم است (۲۸).

با توجه به جدول ۲، عصاره اناریجه (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) موجب مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک شد. نالوکسان اثری بر انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک نداشت. تزریق توام نالوکسان به علاوه عصاره اناریجه موجب مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک شد. نالوکسان یک آنتاگونیست غیر انتخابی برای گیرنده‌های μ ، δ و κ است و تزریق داخل وریدی نالوکسان اثرات ضد درد عصاره اناریجه را مهار می‌کند. به نظر می‌رسد که پاسخ ضد درد عصاره اناریجه از طریق گیرنده‌های افیونی انجام می‌شود. همه زیرگونه‌های افیونی گیرنده‌ها در سیستم عصبی مرکزی شناسایی شده و در درد و بی دردی به بافت‌های محیطی واسطه می‌شوند (۲۹). با این حال، به دلیل محدودیت‌های مطالعه حاضر، ما نتوانستیم تعامل مستقیم عصاره اناریجه با گیرنده‌های مختلف مواد افیونی را تعیین کنیم.

گروه	تعداد انقباضات (میانگین $\pm$ انحراف معیار)	مهار (درصد)	P-value
کنترل	$85/45 \pm 3/11$	-	-
سیپروهپتادین (۴ میلی گرم بر کیلوگرم)	$82/27 \pm 3/98$	۳/۷۲	۰/۵۶
اناریجه (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	$67/13 \pm 3/10$	۲۱/۴۳	۰/۰۳۶
سیپروهپتادین + اناریجه	$66/25 \pm 3/16$	۲۲/۴۶	۰/۳۹

بحث

براساس ادبیات، این اولین گزارش در مورد تعامل اثر ضد درد عصاره اناریجه است. همانطور که مشاهده شد، همانطور که در نمودار ۱-۴ دیده می‌شود، تزریق مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) موجب کاهش زمان درد ناشی از تست فرمالین شد. تزریق سطوح ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم عصاره اناریجه بطور معنی داری موجب مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک شد. عصاره اناریجه انواع کانال‌های یونی مانند Na^+ ، K^+ یا Ca^{2+} دارای ولتاژ مسئول انتقال درد هستند. ممکن است برای اثر ضد درد عصاره اناریجه به نقش تعدیل کننده آن در عملکردهای کانال یونی مربوط شود (۱۲۵). به عنوان مثال، فرض بر این است که خاصیت ضد درد اسید تاننیک در درد التهابی با فعال شدن K^+ و مهار کانالهای Na^+ و تسکین واسطه‌های

- Kurdistan University of Medical Sciences. 2016;21(4):41-8.
4. Zarei M, Mohammadi S, Shahidi S, Fallahzadeh AR. Effects of *Sonchus asper* and apigenin-7-glucoside on nociceptive behaviors in mice. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*. 2017;5(4):227-37.
5. Tekin S, Erden Y, Colak C, Sandal S. Effects of chronic central administration of irisin on food intake, body weight and body temperature in the rats. 2014.
6. Duan H, Ma B, Ma X, Wang H, Ni Z, Wang B, et al. Anti-diabetic activity of recombinant irisin in STZ-induced insulin-deficient diabetic mice. *International journal of biological macromolecules*. 2016;84:457-63.
7. Mani BK, Puzziferri N, He Z, Rodriguez JA, Osborne-Lawrence S, Metzger NP, et al. LEAP2 changes with body mass and food intake in humans and mice. *The Journal of clinical investigation*. 2019;129(9):3909-23.
8. Ikeda H, Yatomi Y, Yanase M, Satoh H, Maekawa H, Ogata I, et al. Biological activities of novel lipid mediator sphingosine 1-phosphate in rat hepatic stellate cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2000;279(2):G304-G10.
9. Elias E, Hruban Z, Wade JB, Boyer JL. Phalloidin-induced cholestasis: a microfilament-mediated change in junctional complex permeability. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1980;77(4):2229-33.
10. de Buy Wenniger LM, Beuers U. Bile salts and cholestasis. *Digestive and Liver Disease*. 2010;42(6):409-18.
11. Shearn CT, Fennimore B, Orlicky DJ, Gao YR, Saba LM, Battista KD, et al. Cholestatic liver disease results increased production of reactive aldehydes and an atypical periportal hepatic antioxidant response. *Free Radical Biology and Medicine*. 2019;143:101-14.

همانطور که در جدول ۳ دیده می‌شود عصاره اناریجه (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) موجب مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک شد. L-NAME اثری بر انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک نداشت. تزریق توام L-NAME به علاوه عصاره اناریجه موجب مهار انقباضات شکمی ناشی از تزریق اسید استیک شد. درد التهابی با هم افزایی بین واسطه‌های التهابی مانند برادیکینین، سروتونین، هیستامین، پروستاگلاندین‌ها و نیتریک اکسید ایجاد می‌شود. فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان غنی از تانن مسئول مهار مستقیم فعالیت آنها در تولید نیتریک اکسید است. نیتریک اکسید نقش مهمی در پاسخ التهابی ناشی از کاراگینان و آزمایش ادم پنجه دارد و نقش مهمی در مراحل حاد و مزمن درد در سیستم عصبی مرکزی و محیطی دارد. تزریق زیر پلانتر فرمالین باعث افزایش سطح نیتریک اکسید در محل تزریق می‌شود و پیش تیمار با L-NAME پاسخ درد را در موش کاهش می‌دهد (چن و همکاران ۲۰۱۰). پیش درمانی با L-NAME مانع از اثر ضد درد *Melilotus officinalis* Linn می‌شود و نتایج ما با گزارشات قبلی مطابقت داشت. حتی اگر مکانیسم مستقیم این یافته‌ها مشخص نشده باشد، اما تولید نیتریک اکسید در نخاع اثر ضد درد عصاره را کاهش می‌دهد. به نظر می‌رسد واکنش ضد درد عصاره اناریجه از طریق سیستم نیترازیک انجام می‌شود.

فهرست منابع

1. Chiu IM, Ribeiro F, Woolf CJ. Pain and infection: pathogen detection by nociceptors. *Pain*. 2016;157(6):1192.
2. Zarei M, Mohammadi S, Abolhassani N, ASGARI NM. The antinociceptive effects of hydroalcoholic extract of *bryonia dioica* in male rats. 2015.
3. Izadpanah E, Nikandam F, Moloudi MR, Hassanzadeh K. Evaluation of the analgesic effect of hydroalcoholic extract of *Cinnamomum* in rats. *Scientific Journal of*

12. Silva ASCPd. BSEP drug inhibition and cholestasis: Development of a Pharmacokinetic model 2016.
13. Lefkowitz JH. Scheuer's liver biopsy interpretation E-Book: Elsevier Health Sciences; 2020.