تأثیر اثر ماده فعال والپوتریات در التهاب و واکنش به محرک درد در بین موش‌های نر

مصطفی چراغی[1]، پژمان‌هاشم زاده[2]، مهرنوش صدیقی[1]، آرش کریمی[3]*

۱- دانشیار قلب و عروق، مرکز تحقیقات قلب و عروق، بیمارستان شهید رحیمی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

۳- دانشیار گروه بیهوشی، دانشکده پزشکی، بیمارستان شهید رحیمی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

یافته / دوره ۲۷ / شماره ۱ / بهار ۱۴۰۴ / مسلسل ۱۰۳

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۶/۷ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۱۰/۲۳

مقدمه: مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تأثیر والپوتریات (از گیاه سنبل‌الطیب) بر درد و التهاب در موش‌ها و تعیین مکانیسم‌های احتمالی ضد دردی و ضدالتهابی آن طراحی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه برای بررسی اثر ضدالتهابی ۴۰ سر موش نر به‌صورت تصادفی به ۵- گروه تقسیم شدند. و در تست درد ۵۶ سر موش نر به‌صورت تصادفی به ۷ گروه (۸ تایی) تقسیم شدند.

تست التهاب: ۱- گروه نرمال سالین، ۲- گروه زایلن، ۳- گروه دگزامتازون، ۴ و ۵- گروه‌هایی که ماده فعال والپوتریات را با دوزهای mg/kg ۲/ ۰ و ۰/۱ به‌صورت یک دوز واحد برای هر حیوان دریافت کردند.

تست درد: ۱- گروه سالین، ۲- فرمالین، ۳- گروه مورفین + فرمالین، ۴ و۵- گروه والپوتریات (mg/kg ۲/ ۰ و ۰/۱) +فرمالین، ۶- گروه نالوکسان +عصاره (mg/kg 2/۰) + فرمالین، ۷- گروه نالوکسان + مورفین + فرمالین.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که زمان واکنش درد در دوز ۰/۲ میلی‌گرم والپوتریات در مراحل درد حاد و مزمن در مقایسه با فرمالین به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P< ۰/۰۰۱). همچنین، ماده فعال والپوتریات اثر مهاری خود را بر التهاب ناشی از زایلن اعمال کرد که بهترین درصد مهار در دوز ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم و دگزامتازون با عصاره ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم مشاهده شد (P< ۰/۰۱).

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج، والپوتریات اثر ضد دردی نسبتاً قوی داشت احتمالاً مکانیسم اثر ضد دردی عصاره حداقل تا حدودی همانند مرفین بر پایه گیرنده‌های اوپیوئیدی است. در تست التهاب، عصاره همچون دگزامتازون قادر به مهار التهاب بود.

واژه‌های کلیدی: درد، التهاب، والپوتریات، رت، سنبل‌الطیب.

*آدرس مکاتبه: خرم آباد، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، دانشکده پزشکی، گروه بیهوشی.

پست الکترونیک: arashkarimidastgerdi@gmail.com

مقدمه

التهاب یک پاسخ محافظتی برای حذف علت اولیه آسیب سلولی و همچنین سلول‌ها و بافت‌های نکروتیک ناشی از آسیب‌های شدید است. در صورت عدم وجود التهاب، عفونت شناسایی نمی‌شود و زخم بهبود نمی‌یابد. اگرچه التهاب به رفع عفونت‌ها و بهبود زخم‌ها کمک می‌کند، اما هم التهاب و هم بهبود پتانسیل قابل‌توجهی برای ایجاد آسیب دارند. پایه فیزیولوژیک بسیاری از بیماری‌های بحث‌برانگیز انسانی، التهاب مزمن و نامناسب است. به همین دلیل، فرآیند التهاب اساس تمامی پزشکی بالینی را تشکیل می‌دهد. التهاب به دو الگوی اساسی تقسیم می‌شود: التهاب حاد و التهاب مزمن. نتیجه التهاب حاد ممکن است تخریب گسترده بافت و ایجاد اسکار باشد. تبدیل التهاب حاد به التهاب مزمن ممکن است به دلیل پایداری عامل ایجادکننده یا دخالت در فرآیند طبیعی بهبود باشد. التهاب حاد به‌سرعت آغاز می‌شود و برای مدت کوتاهی ادامه دارد و با تورم و قرمزی و درد و گرما همراه است (۱). وقتی بافت دچار آسیب می‌شود سلول‌های ایمنی به محل آسیب می‌آیند. این سلول‌ها مواد شیمیایی مانند سیتوکین‌ها و پروستاگلاندین‌ها را ترشح می‌کنند که باعث افزایش جریان خون و نفوذ سلول‌های ایمنی به بافت آسیب‌دیده می‌شوند. التهاب مزمن برای مدت طولانی ادامه می‌یابد و منجر به آسیب دائمی بافتی می‌شود. عوارض التهاب اگر به‌درستی کنترل نشود باعث اختلال در عملکرد اعضای بدن و بیماری‌های خود ایمنی می‌شود (۲).

ویتامین‌های موجود در گیاهان اثر بازدارنده‌ای در آغاز و پیشرفت بیماری التهابی مانند Encephalomyelitis (EAE) Experimetal Autoimmune نقش بازدارنده‌ای دارند (۶). مثلاً ویتامین D3 از طریق القای آپوپتوز در سلول‌های التهابی از پیشرفت بیماری‌های التهابی جلوگیری می‌کند. و با مهار تولید سایتوکاین‌های التهابی IL-6 وIFN-γ سبب کاهش شدت بیماری می‌گردند و با کاهش بیان مولکول MHCII نقض در تمایز و بلوغ سلول‌های DC از مغز استخوان باعث تعدیل پاسخ ایمنی که می‌تواند در کاهش شدت بیماری‌های التهاب نقش داشته باشد می‌شوند (۳،۴).

آنتی‌اکسیدان‌های گیاهان با جلوگیری از سنتز سایتوکاین‌های پیش التهابی شامل IL-1, TNF نقش دارند(۵) و حتی از طریق مهار مستقیم مسیر سیکلواکسیژناز و ۵-لیپو اکسیژناز نیز خاصیت ضدالتهابی خود را ایفا می‌کنند و به‌خوبی توانایی مهار تولید پروستاگلاندین‌ها، نیتریت اکساید و حتی اینترلوکین‌های درگیر در التهاب را دارند (۶). ولی علائم بالینی التهاب با قرمزی: افزایش جریان خون به ناحیه آسیب‌دیده و گشادی عروق در محل التهاب

تورم: تجمع مایعات و سلول‌های ایمنی در بافت‌ها

گرما: افزایش دما در ناحیه ملتهب ناشی از افزایش جریان خون و فعالیت متابولیکی

درد: درد ناشی از تحریک اعصاب حسی توسط مواد شیمیایی آزادشده از سلول‌های ایمنی و آسیب به بافت‌ها که می‌تواند خفیف یا شدید باشد و ممکن است در حین حرکت یا لمس ناحیه ملتهب تشدید شود (۷).

علائم اضافی با تب: که نشانه‌ای از پاسخ سیستم ایمنی به عفونت یا التهاب شدید است.

خستگی: التهاب مزمن می‌تواند باعث خستگی عمومی و کاهش انرژی شود.

تغییرات در آزمایش‌های خون: افزایش سطح پروتئین‌های التهابی مانند CRP,ESR که می‌تواند نشانه وجود التهاب در بدن باشد (۸).

درد: درد یکی از مکانیسم‌های محافظتی بدن است. هر زمان که هر بافتی آسیب ببیند، درد ایجاد می‌شود و این باعث می‌شود فرد به‌طور مناسب به محرک درد پاسخ دهد. درد به دو نوع اصلی تقسیم می‌شود: درد

سریع (حاد) و درد آهسته (مزمن). که همان score بندی درد هستند. مسیرهای هدایت این دو نوع درد متفاوت است و هر یک کیفیت خاص خود را دارند. درد آهسته معمولاً با آسیب بافتی همراه است و می‌تواند باعث رنج طولانی‌مدت و غیرقابل‌تحمل شود. تمامی گیرنده‌های درد در پوست و سایر بافت‌ها انتهای آزاد اعصاب هستند.

این گیرنده‌ها در لایه‌های سطحی پوست، دیواره شریان‌ها، سطح مفاصل، داس مغز و چادرینه و حفره جمجمه توزیع می‌شوند. انواع مختلفی از محرک‌ها می‌توانند باعث درد شوند. محرک‌های درد به سه گروه تقسیم می‌شوند: مکانیکی، حرارتی و شیمیایی. محرک‌های حرارتی و مکانیکی درد تیز ایجاد می‌کنند، درحالی‌که درد آهسته توسط هر سه نوع محرک تولید می‌شود. برخلاف اکثر گیرنده‌های حسی در بدن، گیرنده‌های درد یا بسیار کم سازگار می‌شوند یا اصلاً سازگار نمی‌شوند. اهمیت نداشتن سازگاری در گیرنده‌های درد این است که تا زمانی که یک محرک مخرب بافت وجود دارد، فرد را از آن آگاه نگه می‌دارد. درد حاد نقش مهمی در ترغیب فرد به اجتناب سریع از محرک‌های دردناک دارد. درد آهسته به‌تدریج با گذشت زمان افزایش می‌یابد و باعث می‌شود فرد به دنبال از بین بردن علت درد باشد. رشته‌های درد پس از ورود به نخاع از طریق ریشه‌های خلفی، با نورون‌های شاخ خلفی سیناپس پیدا می‌کنند (۹).

سنبل‌الطیب *(Valeriana officinalis)*

V. officinalis یک بوته چندساله از خانواده سنبل‌الطیبیان است که در اروپا و برخی مناطق آسیا و همچنین در شمال آمریکا رشد می‌کند (۱۰). ترکیبات و عصاره‌های به‌دست‌آمده از *V. officinalis* نشان‌دهنده طیف وسیعی از اثرات بیولوژیکی و داروشناختی دارند، ازجمله: آنتی‌اکسیدان، ضد میکروب، ضدالتهاب، ضد روماتیسم، آرام‌بخش، ضد اضطراب، ضد اسپاسم، ضد صرع و محافظت‌کننده عصبی هستند (۱۱). ریشه‌ها و ریزوم‌های این گیاه حاوی دو گروه اصلی از ترکیبات هستند: ۱. سزکویی‌ترپن‌های موجود در روغن‌های فرار (اسید والرینیک و مشتقات آن، والرانون، والرنال و استرهای کسایل) و ۲. والپوتریات‌ها (والتریت و ایزووالریل والتریت) به همراه سایر ترکیبات، ازجمله فلاونوئیدها، تری‌ترپن‌ها، لیگنان‌ها و آلکالوئیدها در این گیاه وجود دارند (۱۲). در حال حاضر، والپوتریات‌ها (ایریدوئیدها) موردتوجه قرارگرفته‌اند (۱۳). اگرچه مطالعات قبلی نشان داده‌اند که والپوتریات‌ها مقاومت اکسیداتیو وابسته به دوز را نشان می‌دهند (۱۴). به نظر می‌رسد که عصاره دی‌کلرومتان تهیه‌شده از این گیاه در پاسخ به درد و واکنش‌های التهابی به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره *V. officinalis* و به‌ویژه والپوتریات‌های موجود در این گیاه، اثرات بالقوه و مفیدی داشته باشند. عصاره *V. officinalis* سطح انتقال‌دهنده عصبی گابا *(GABA)* را در مغز افزایش می‌دهد. با اعمال اثر مهاری، گابا فعالیت سیستم عصبی را کاهش می‌دهد و اثرات آرام‌بخش، ضد تشنج و ضد اضطراب ایجاد می‌کند (۱۵). عصاره *V. officinalis* همچنین یک آگونیست گیرنده سروتونین است. این اثرات عصاره ممکن است به دلیل حضور برخی ترکیبات موجود در آن، در عملکرد ضد دردی عصاره نقش داشته باشند (۱۶). هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر والپروات بر واکنش‌های التهابی و درد در موش‌های نر بود. و طبق رفرنس از ماده استخراجی والپوتریات است ولی چون به دلیل کاهش امکانات تست تائید نگذاشتیم کمی هم از فلاونوییدها در بحث بیان شد که ممکن است همراه والپوتریات در عصاره باشند و در قسمت پیشنهادات خواسته می‌شود اثر این ماده به‌تنهایی بر واکنش درد و التهاب توضیح داده شود.

مواد و روش‌ها

استخراج و جداسازی ماده فعال والپوتریات

آماده‌سازی ماده فعال والپوتریات از گیاه سنبل‌الطیب با استفاده از دی کلرومتان: برای استخراج والپوتریات‌ها، ریشه گیاه *V. officinalis* پس از خشک کردن در سایه، با استفاده از آسیاب پودر شد. سپس ۲۰ گرم از پودر گیاه به مدت ۲۴ ساعت در ۲ میلی‌لیتر دی کلرومتان خیسانده و سپس صاف شد. محلول به‌دست‌آمده از صاف کردن در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه روتاری تحت هود تقطیر شد و عصاره باقی‌مانده در انتهای ظرف و دی کلرومتان حاصل از تقطیر در دو ظرف جداگانه جمع‌آوری شدند. سپس برای تبخیر حلال، عصاره تحت هود در معرض هوا قرار گرفت و در نهایت مقدار کمی از محلول باقی‌مانده با استفاده از اسپری گاز نیتروژن تبخیر شد. عصاره جمع‌آوری‌شده و پس از توزین، در مقدار مناسبی از آب حل شد و به موش‌ها گاواژ شد (۱۷). (تست استخراج با توجه به رفرنس ۱۷ گذاشتم. ولی تست تائید نگذاشتم و ممکن هست در عصاره کمی از فلاونوییدها هم وارد شده باشند که در بحث از آن‌ها هم بر مکانیسم درد و التهاب صحبت شد).

حیوانات

در این مطالعه، ۹۶ موش نر آلبینو سالم و سفید، با وزن ۱۵۰-۱۷۰ گرم که از مرکز تحقیقاتی تهیه شده بودند، در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲۰-۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. حیوانات به ۱۲ گروه ۸ تایی تقسیم شدند ۵ گروه ۸ تایی تست التهاب (لازم به اضافه کردن موش نبود). و ۷ گروه ۸ تایی تست درد.

آزمون التهاب

برای ارزیابی اثر ضدالتهابی از آزمون زایلن استفاده شد. برای این منظور، ۴۰ موش نر به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

۱-گروه نرمال سالین؛ ۲- گروه زایلن؛ ۳- گروه دگزامتازون (۱۵ میلی‌گرم/کیلوگرم)؛ ۴ و ۵- گروه‌های آزمایشی که ماده فعال والپوتریات را با دوزهای ۰/۲ و ۰/۱ میلی‌گرم/کیلوگرم به‌صورت یک دوز واحد برای هر حیوان دریافت کردند. برای القای التهاب در گوش موش، از زایلن (Romil، انگلستان) استفاده شد. به این منظور، ۱۵ دقیقه پس از تزریق‌های داخل صفاقی ماده بیهوشی، ۰/۳ میلی‌لیتر زایلن به سطوح قدامی و خلفی گوش راست حیوان تزریق شد و حیوان ۲ ساعت بعد قربانی شد. سپس، دو گوش حیوان جدا شده و برش‌های ۷ میلی‌متری از محل التهاب پانچ شدند و وزن آن‌ها اندازه‌گیری شدند وزن گوش‌های پانچ شده با وزن گوش‌های سالم مقایسه شدند نتایج در گروه‌های مختلف مقایسه شدند (۱۸).

آزمون فرمالین

حیوانات نیم ساعت قبل از شروع آزمایش برای سازگاری با شرایط و کاهش استرس در اتاقک آزمون فرمالین نگهداری شدند. اتاقک آزمون یک محفظه پلکسی گلاس شفاف با ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر و آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه در زیر آن بود تا امکان مشاهده بهتر حیوان فراهم شود. پس از ۳۰ دقیقه، برای القای درد، ۲۰ میکرولیتر محلول ۲٫۵٪ فرمالین به‌صورت زیرجلدی به پای حیوان تزریق شد و سپس بلافاصله حیوان در اتاقک آزمایش قرار گرفته شدند. برای بررسی اثر درد، حیوانات ازنظر لیسیدن و گاز گرفتن پا تحت نظر قرار گرفتند و مدت زمان رفتارهای مرتبط با درد با استفاده از کرنومتر ثبت شدند. مشاهدات ثبت‌شده برای ۲ دقیقه به‌منظور ارزیابی درد حاد در نظر گرفته شدند. به حیوانات ۳۰ دقیقه استراحت داده شد و مشاهدات ثبت شدند و ۳۰ دقیقه بعدی برای ارزیابی درد مزمن در نظر گرفته شدند (۱۸).

گروه‌ها

برای این آزمایش، ۵۶ موش نر به‌طور تصادفی به ۷ گروه ۸ تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

۱- گروه نرمال سالین (۱۰ میلی‌لیتر/کیلوگرم)؛

۲- گروه فرمالین؛

۳- گروه مورفین (۲/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) + فرمالین؛

۴- گروه والپوتریات (۲/ ۰میلی‌گرم/کیلوگرم) + فرمالین؛

۵- گروه عصاره (۰/۱ میلی‌گرم/کیلوگرم) + فرمالین؛

۶- گروه نالوکسان (۰/۴ میلی‌گرم/کیلوگرم) + عصاره (۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم) + فرمالین؛

۷- گروه نالوکسان + مورفین (۲/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) + فرمالین.

تحلیل داده‌ها و روش‌های آماری

اطلاعات به‌دست‌آمده از داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفت نرم‌افزار تغییرات نیروی انقباضی ناشی از عصاره و آنتاگونیست در مقایسه با عصاره به‌صورت میانگین SEM + محاسبه شد. برای مقایسه غلظت‌های مختلف از آزمون آنالیز واریانس استفاده شد و برای مقایسه دو گروه از آزمون t استفاده شد (P< ۰/۰۵) بود تفاوت معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

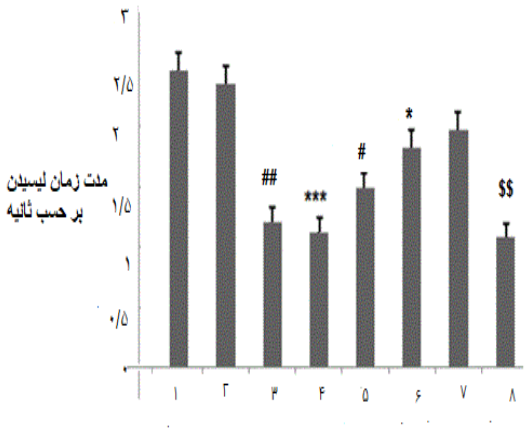
مقایسه تحمل درد در دوزهای مختلف عصاره با گروه فرمالین

نتایج حاصل از تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف والپوتریات (۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم) و مورفین در فاز درد القاشده با فرمالین، کاهش معنی‌داری در مدت زمان پاسخ به درد در دوز ۰/۲ میلی‌گرم در فازهای حاد و مزمن نسبت به فرمالین نشان داد (P< ۰/۰۱ و P< ۰/۰۰۱ به ترتیب).

مورفین همچنین کاهش معنی‌داری در درد مزمن نسبت به فاز حاد و گروه‌های دیگر ایجاد کرد (P< ۰/۰۱).

نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین دوزهای ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره و مورفین وجود ندارد.

بیشترین (بالاترین) اثر عصاره در فازهای حاد و مزمن در دوز ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم و مورفین در فاز مزمن مشاهده شد و کمترین اثر در دوز ۰/۱ میلی‌گرم/کیلوگرم در فازهای حاد و مزمن مشاهده گردید.



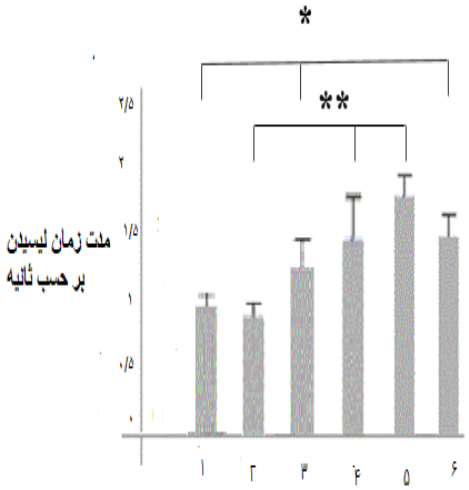
شکل ۱. اثرات تزریق درون‌صفاقی دوزهای مختلف والپوتریات و مورفین بر درد القاشده با فرمالین (حاد=A، مزمن=C)
1- فرمالین A، 2- فرمالین C، ۳- عصاره ۰/۲ + فرمالین A، ۴- عصاره ۰/۲ + فرمالین C، ۵- عصاره ۰/۱ + فرمالین A، ۶- عصاره ۰/۱ + فرمالین A، ۷- فرمالین + مورفین A، ۸- فرمالین + مورفین C
*** فرمالین + عصاره ۰/۱ در فاز مزمن نسبت به فرمالین مزمن P< ۰/۰۵**
***** فرمالین + عصاره ۰/۲ در فاز مزمن نسبت به فرمالین مزمن P< ۰/۰۰۱**
فرمالین + عصاره ۰/۲ در فاز حاد نسبت به فرمالین حاد P< ۰/۰۱
 # فرمالین + عصاره ۰/۱ در فاز حاد نسبت به فرمالین حاد P< ۰/۰۵
$$ فرمالین + مورفین در فاز مزمن نسبت به فاز مزمن و گروه‌های دیگر P< ۰/۰۱

مقایسه تحمل درد والپوتریات، مورفین و نالوکسان

برای ارزیابی مکانیسم عمل والپوتریات از طریق گیرنده‌های اوپیوئیدی و مقایسه مدت زمان تحمل درد ناشی از والپوتریات و مورفین، موش‌ها با ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم والپوتریات یا والپوتریات به همراه نالوکسان درمان شدند.

با اشغال گیرنده‌های اوپیوئیدی توسط نالوکسان، عصاره اثر مسکن را نشان داد، اما این اثر کمتر از زمانی

بود که گیرنده‌های اوپیوئیدی با نالوکسان اشغال نشده بودند (P< ۰/۰۱). این نتیجه همچنین در گروه‌هایی که مورفین به همراه نالوکسان دریافت کرده بودند مشاهده شد (شکل ۲).



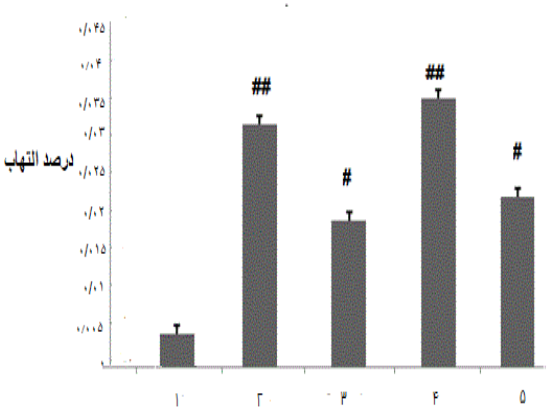
شکل ۲. اثر نالوکسان بر تحمل درد والپوتریات و مورفین
۱-عصاره ۰/۲ + فرمالین A، ۲- عصاره ۰/۲+ فرمالین C، ۳- نالوکسان + عصاره ۰/۲ + فرمالین A +۴- نالوکسان+ عصاره ۰/۲ + فرمالین C،۵- نالوکسان+ مورفین+ فرمالین A، ۶- نالوکسان+ مورفین+ فرمالین C،
**** P<0.01 و P<0.05 نسبت به عصاره ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم + فرمالین در فازهای حاد(A) و مزمن.(C)**

اثر عصاره گیاه بر التهاب القاشده با زایلن در گوش

نتایج حاصل از تزریق والپوتریات بر التهاب القاشده با زایلن نشان داد که این ترکیب اثرات مهاری بر التهاب ناشی از زایلن داشته که ازنظر آماری نسبت به گروه نرمال سالین معنی‌دار بود (P< ۰/۰۵، P< ۰/۰۱).

به‌عبارت‌دیگر، عصاره قادر به کاهش التهاب القاشده با زایلن به‌صورت وابسته به دوز بود. دگزامتازون، داروی ضدالتهابی استاندارد، به‌طور معنی‌داری سطح التهاب در گوش را کاهش داد (P< ۰/۰۵).

بهترین درصد مهار در دوز ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره و اثر هم‌افزای دگزامتازون و عصاره در دوز ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم مشاهده شد (P< ۰/۰۱).



شکل ۳. بهترین درصد مهار در دوز ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم و اثر هم‌افزای دگزامتازون با عصاره در دوز ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم (P<0/01)
۱-نرمالین سالین، ۲- عصاره ۰/۲، ۳- عصاره ۰/۱، ۴- دگزامتازون +عصاره ۰/۲، ۵- دگزامتازون
مقایسه با گروه نرمال سالین **P< ۰/۰۵**
مقایسه با گروه نرمال سالین **P< ۰/۰۱**

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از تزریق درون پریتونئال دوزهای مختلف ماده فعال والپوتریات و مرفین بر روی درد القاشده با فرمالین، کاهش معنی‌داری در مدت زمان پاسخ به درد در دوز ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره در مراحل حاد و مزمن نسبت به گروه فرمالین نشان داد. مرفین نیز باعث کاهش معنی‌دار درد مزمن نسبت به مرحله حاد در سایر گروه‌ها شد. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین دوز ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره و مرفین وجود ندارد. بیشترین اثر عصاره در مراحل حاد و مزمن در دوز ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم و مرفین در مرحله مزمن مشاهده شد و کمترین اثر در دوز ۰/۱ میلی‌گرم/کیلوگرم در مراحل حاد و مزمن مشاهده گردید.

با توجه به کاهش قابل‌توجه در زمان پاسخ به درد در گروه نالوکسان+عصاره، به نظر می‌رسد که مکانیسم عمل مسکن بودن عصاره والپوتریات، مشابه مرفین، به‌طور جزئی بر پایه گیرنده‌های اوپیوید است، زیرا نالوکسان با مسدود

کردن این گیرنده‌ها، تحمل درد در تست فرمالین را در موش‌ها کاهش داد.

هدف دیگر مطالعه ما بررسی اثر ضدالتهابی عصاره والپوتریات بود. در آزمون التهاب، عصاره در دوز ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم به‌طور معنی‌داری التهاب را کاهش داد. اثر هم‌افزای عصاره و دگزامتازون نیز قادر به مهار التهاب بود.

فلاونوئیدها و آنتی‌اکسیدان‌ها با مهار فسفولیپاز، لیپوکسیژناز، و سیکلواکسیژناز، که به‌طور مستقیم بر سنتز پروستاگلاندین‌ها تأثیر می‌گذارند و اثرات مسکن تولید می‌کنند، عمل می‌کنند (۱۹). فلاونوئیدها همچنین مهارکننده آنزیم نیتریک اکسید سنتاز هستند و تولید نیتریک اکسید را کاهش می‌دهند (۲۰).

پروستاگلاندین‌ها ترکیبات محلول در چربی هستند که از اسید آراشیدونیک سنتز می‌شوند و به‌طور مستقیم و از طریق افزایش حساسیت گیرنده‌های درد به عوامل دیگر مانند برادیکینین، درد را تحریک می‌کنند. بنابراین، فلاونوئیدها و آنتی‌اکسیدان‌ها با مهار سیکلواکسیژناز در بافت‌های ملتهب و جلوگیری از تشکیل پروستاگلاندین‌ها، بهبود التهاب را تسهیل می‌کنند (۲۱).

مطالعات همچنین نشان داده‌اند که فلاونوئیدها با مهار فعالیت گیرنده‌های N-methyl-D-aspartate، فعالیت نیتریک اکسید سنتاز و فسفولیپاز وابسته به کلسیم را کاهش می‌دهند و اثرات مسکن را از طریق کاهش NO و پروستاگلاندین‌ها تولید می‌کنند (۲۲). نیتریک اکساید به‌عنوان یک گونه فعال نیتروژن است. این رادیکال آزاد گازی یک پیامبر بیولوژیک با قدرت انتشار بالاست که نقش مهمی در فیزیولوژی سیستم عصبی مرکزی بازی می‌کند. نیتریک اکساید بعد از تولید به‌سرعت با سوپراکسید واکنش داده و رادیکال‌های قوی پراکسی نیترات و هیدروکسیل را تولید می‌کند. گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و نیتروژن درمجموع موجب ایجاد استرس اکسیداتیو در سیستم عصبی خواهند شد و سبب افزایش فعالیت‌های التهابی و درد می‌شوند. استرس اکسیداتیو یکی از گذرگاه‌های مهمی است که منجر به مرگ سلولی نورونی القاشده توسط نیتریک اکساید می‌گردد پس عامل اصلی ایجاد التهاب در نظر گرفته می‌شود (۲۳).

ترکیبات الکالوئیدی موجود در گیاهان از طریق سیستم‌های مختلف مغزی نیز باعث آرام بخشی و تسکین درد می‌شوند ازجمله این مکانیسم‌ها می‌توان به تأثیر آن‌ها بر روی سیستم گاباارژیک (GABA) و دوپامینرژیک نام برد. مطالعات ازجمله گیاهان مختلف در این زمینه را جینکوبلیا (*Ginkgo biloba*) و ماتریکاریا و کاموملیا (*Matricaria chamomoilla*) را نام برد (۲۴). وجود ترکیبات آلکالوئید در *V. officinalis* توضیح‌دهنده نسبت دادن اثر مسکن آن به مکانیسم‌های فوق است. با توجه به اینکه نتایج مطالعه نشان داد نالوکسان اثر مسکن عصاره را کاهش می‌دهد، به نظر می‌رسد که اثر گیاه در تسکین درد از طریق گیرنده‌های اوپیوید اعمال می‌شود، زیرا در گروهی که نالوکسان، آنتاگونیست گیرنده‌های اوپیوید، تجویز شد، این اثر به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت و نالوکسان گیرنده‌های اوپیوید را مسدود کرد (۲۵).

حیدری و همکاران به بررسی اثر ضدالتهابی و بی‌دردی میوه گشنیز در موش سوری پرداخته‌اند. در این مطالعه عصاره پرکوله و سوکسله میوه گشنیز با مقادیر مختلفی به‌صورت داخل صفاقی در موش سوری تزریق شده و اثر ضد دردی آن با آزمون فرمالین و tail flick بررسی شده است. عصاره حاصل از روش پرکوله با دوزهای ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم قادر به ایجاد اثر ضد دردی معنی‌دار نسبت به گروه شاهد بوده است. در مقایسه با اثر عصاره میوه گشنیز، اثر ضد دردی مرفین ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم فقط در محدوده زمانی ۰ تا ۵ دقیقه در آزمون فرمالین بیشتر از اثر ضد دردی عصاره با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده و در سایر زمان‌ها اثر ضد دردی کمتری داشته است (۲۶).

چراغی و همکارش به بررسی اثر ضد دردی و ضدالتهابی ترکیب لیمونن موجود در گیاهان دارویی در موش صحرایی نر پرداخته‌اند. اثر ضد دردی با آزمون فرمالین و اثر ضدالتهابی با آزمون گزیلن مورد بررسی و تهیه لیمونن با روش دکانتاسیون انجام گرفته است. عصاره پوست پرتقال با سه دوز ۲۰ و ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش‌ها تزریق شده که هر سه دوز اثر ضد دردی و ضدالتهابی از خود نشان داده‌اند که در این میان دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیشترین اثر ضد دردی را داشته است (۲۷).

هودگر و همکاران به بررسی اثر ضد دردی و ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی دانه گیاه گنده تلخه در موش سوری نر پرداختند. در این پژوهش از ۱۵۶ موش سوری استفاده شده و بعد از تعیین میزان دوز کشنده عصاره (LD 50) از دو تست گزیلن و فرمالین برای بررسی اثر ضد دردی و ضدالتهابی استفاده شد در هر تست حیوانات به ۶ گروه تقسیم شده‌اند: شاهد، کنترل مثبت (دریافت‌کننده دگزامتازون با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در تست التهاب و مرفین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در تست فرمالین) و گروه‌های تجربی دریافت‌کننده دوزهای ۴۲، ۸۵، ۱۷۰، ۳۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند و دریافتند عصاره هیدروالکلی دانه این گیاه دارای اثر ضدالتهابی در تمامی دوزها و کاهش درد به‌خصوص در دوز ۳۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم شده است (۲۸).

عصاره الکلی همچنین اثر ضدالتهابی قابل‌توجهی نشان داد (قابل‌مقایسه با دیکلوفناک سدیم). پیش‌درمان با نالوکسان به‌طور معنی‌داری اثر مسکن عصاره را کاهش داد. نتایج نشان می‌دهد که *Rosa damascena* اثر مسکن قوی‌ای دارد که به‌طور جزئی از طریق سیستم اوپیوید اعمال می‌شود. مطالعه فوق شباهت‌های زیادی با مطالعه حاضر دارد، ازجمله استفاده از نالوکسان برای بررسی خصوصیات اوپیویدی عصاره گیاه (۲۹،۳۰). در کل، با وجود مطالعات متعدد، گیاهان زیادی باقی مانده‌اند که نیاز به بررسی اثر مسکن با دخالت مکانیسم‌های اوپیویدی و ضدالتهابی دارند. با توجه به تقویت اوپیویدها و کولینرژیک‌ها توسط آلکالوئیدها، اثر مسکن غیرمستقیم مرفین به دلیل آنتاگونیست‌های کولینرژیک و اینکه تعامل در سطح بر روی مسیرهای درد انجام می‌شود، می‌توان نتیجه گرفت که آلکالوئیدهای گیاه با اثر بر گیرنده‌ای کولینرژیک و اپیوئیدی درد را تسکین دهند. نتایج نشان داد که عصاره الکلی به‌طور معنی‌داری مدت زمان تحمل درد را نسبت به گروه کنترل افزایش داده است که قابل‌مقایسه با مرفین بود (۳۱،۳۲).

در پایان پیشنهاد می‌شود شاخص‌های بیوشیمیایی سرم و نیز پارامترهای سلولی دخیل تعیین‌کننده در التهاب و اثر ضدالتهابی ماده مذکور در مطالعه بعدی مورد سنجش قرار گیرد.

و چون ما تست تائید نگذاشته‌ایم و ممکن است اثر مواد دیگر گیاه سنبل‌الطیب در عصاره باشد پیشنهاد می‌شود اثر خالص ماده مؤثر والپوتریات بر واکنش درد و التهاب بر موش‌های نر بررسی شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از زحمات دانشگاه علوم پزشکی لرستان به خاطر امکاناتش کمال تشکر و قدردانی را به عمل می‌آورند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافعی در نگارش این پژوهش ندارند.

حمایت مالی

نویسندگان برای انجام این پژوهش از هیچ حمایت مالی استفاده نکرده‌اند.

مشارکت نویسندگان

طراحی مطالعه و ایـده اولیـه: مصـطفی چراغـی، آرش کریمی، مهرنوش صدیقی، پژمان هاشم زاده.

ملاحظات اخلاقی

تمام ملاحظات اخلاقی رعایت شـده اسـت. پژوهشـگر خود را موظف دانست در مرحله جمع‌آوری و انتشار نتایج، کلیه نکات اخلاقی نظیر رعایت اصل محرمانگی و همچنین توجه کافی به عدم سرقت علمی را مدنظر قـرار داده و کـد اخلاق LUMS.REC.1394.79 است.

References

1. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins basic pathology e-book: Elsevier Health Sciences; 2017.
2. Citro A, Campo F, Dugnani E, Piemonti L. Innate immunity mediated inflammation and beta cell function: neighbors or enemies? Frontiers in Endocrinology. 2022.11:606332:1.
3. Gauzzi MC, Purificato C, Donato K, Jin Y, Wang L, Daniel KC, et al. Suppressive effect of 1α, 25-dihydroxyvitamin D3 on type I IFN-mediated monocyte differentiation into dendritic cells: impairment of functional activities and chemotaxis .The Journal of Immunology. 2005;174(1):270-6.
4. Gill D, Tan PH. Induction of pathogenic cytotoxic T lymphocyte tolerance by dendritic cells: a novel therapeutic target. Expert Opinion on Therapeutic Targets. 2010;14(8):797-824.
5. Ahui MLB, Champy P, Ramadan A, Van LP, Araujo L, André KB, et al. Ginger prevents Th2-mediated immune responses in a mouse model of airway inflammation. International immunopharmacology. 2008;8(12):1626-32.
6. Pongrojpaw D, Somprasit C, Chanthasenanont A. A randomized comparison of ginger and dimenhydrinate in the treatment of nausea and vomiting in pregnancy. Journal-Medical Association of Thailand. 2007;90(9):1703.
7. Grunz EA, Jones BW, Lateef OM, Sen S, Wilkinson K, Joshi T, et al. Adventitial macrophage accumulation impairs perivascular nerve function in mesenteric arteries with inflammatory bowel disease. Frontiers in Physiology. 2023;14:1198066.
8. Dima A, Opris D, Jurcut C, Baicus C. Is there still a place for erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in systemic lupus erythematosus? Lupus. 2016;25(11):1173-9.
9. Katzung BG. Basic and clinical pharmacology: Mc Graw Hill; 2012.
10. Alireza M. Iran generic drug: generic,orphan,radiopharmaceutical. Tehran: Pezeshk; 1396. 176 p.
11. Khalilidehkordi B, Mohamadi M ,Yousefi H. Effect of Valeriana officinalis hydroalcoholic extract on Giardia lamblia cysts. International Journal of Infectious Diseases. 2016;45:363.
12. Dong F-W, Jiang H-H, Yang L, Gong Y, Zi C-T, Yang D, et al. Valepotriates from the roots and rhizomes of Valeriana jatamansi Jones as novel N-type calcium channel antagonists. Frontiers in Pharmacology. 2018;9:885.
13. Stevinson C, Ernst E. Valerian for insomnia: a systematic review of randomized clinical trials. Sleep Medicine. 2000;1(2):91-9.
14. Wang F, Zhang Y, Wu S, He Y, Dai Z, Ma S, et al. Studies of the structure-antioxidant activity relationships and antioxidant activity mechanism of iridoid valepotriates and their degradation products. PloS one. 2017;12(12):e0189198.

15. Diaper A, Hindmarch I. A double-blind, placebo-controlled investigation of the effects of two doses of a valerian preparation on the sleep, cognitive and psychomotor function of sleep-disturbed older adults. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives. 2004;18(10):831-6.
16. Wang P-C, Ran X-H, Chen R, Luo H-R, Liu Y-Q, Zhou J, et al. Germacrane-type sesquiterpenoids from the roots of Valeriana officinalis var. latifolia. Journal of natural products. 2010;73(9):1563-7.
17. Sedighi M, Seidi H, Asadi F, Biranvand H, Banaei P, Torkashvand M, et al. Cardioprotective effect of dichloromethane valerian (valeriana officinalis) extract on ischemia-reperfusion-induced cardiac injuries in rats. Acta Endocrinologica (Bucharest). 2023;19(2):178.
18. Rafieian-Kopaei M, Shakiba A, Sedighi M, Bahmani M. The analgesic and anti-inflammatory activity of Linum usitatissimum in Balb/c mice. Journal of evidence-based complementary & alternative medicine. 2006-892:(4)22;17.
19. Dey R, Dey S, Samadder A, Saxena AK, Nandi SJCC, Screening HT. Natural inhibitors against potential targets of cyclooxygenase, lipoxygenase and leukotrienes. 2022;25(14):2341-57.
20. Toker G, Küpeli E, Memisoğlu M, Yesilada E. Flavonoids with antinociceptive and anti-inflammatory activities from the leaves of Tilia argentea (silver linden). Journal of Ethnopharmacology. 2004;95(2-3):393-7.
21. Wautier J-L, Wautier M-PJIJoMS. Pro- and anti-inflammatory prostaglandins and cytokines in humans: a mini review. 2023;24(11):9647.
22. Lee W-H, Carey LM, Li L-L, Xu Z, Lai YY, Courtney MJ, et al. ZLc002, a putative small-molecule inhibitor of nNOS interaction with NOS1AP, suppresses inflammatory nociception and chemotherapy-induced neuropathic pain and synergizes with paclitaxel to reduce tumor cell viability. Molecular Pain. 2018;14:1744806918801224.
23. Vishnoi S, Raisuddin S, Parvez S. Glutamate excitotoxicity and oxidative stress in epilepsy: modulatory role of melatonin. Journal of environmental pathology, toxicology and oncology. 2016;35(4).
24. Mohammad K, Ahmed Reza GJPC. Effects of root extracts of Withania coagulans on withdrawal syndrome in albino mice. 2012;3.(١)
25. Baylie T, Kebad A, Ayelgn T, Tiruneh M, Hunie Tesfa KJJoEP. Anti-Diabetic Effects of the 80% Methanolic Extract of Datura Stramonium Linn (Solanaceae) Leaves in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. 2023:375-89.
26. Heidari M, Aghil M, Soltaninezhad E. Evaluation of anti-inflammatory and analgesic effects of Coriandrum sativum extract in mice. Journal of Inflammatory Diseases. 2005;8(4):3-8.

27. Cheraghi J, Valadi A. Effects of anti-nociceptive and anti-inflammatory component of limonene in herbal drugs. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 2010;26(3).22-415.
28. Hoodgar F, Nasri S, Amin G. Investigation of antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydro-alcoholic extract of Securigera Securidaca L. Internal Medicine Today. 2011;17(1):12-9.
29. Bi S, Srivastava RJICC. Rosa damascena leaf extract mediated palladium nanoparticles and their anti-inflammatory and analgesic applications. 2024;162:112122.
30. Hajhashemi V, Ghannadi A, Hajiloo M. Analgesic and anti-inflammatory effects of Rosa damascena hydroalcoholic extract and its essential oil in animal models. Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR. 2010;9(2):163.
31. Thor KB, Muhlhauser MA, Sauerberg P, Shannon H, Springer JP. Central muscarinic inhibition of lower urinary tract nociception. Brain research. 2000;870(1-2):126-34.
32. Wyndaele M, Charrua A, Hervé F, Aronsson P, Grundy L, Khullar V, et al. Beyond the urothelium: Interplay between autonomic nervous system and bladder inflammation in urinary tract infection, bladder pain syndrome with interstitial cystitis and neurogenic lower urinary tract dysfunction in spinal cord injury—ICI-RS 2023. 2024;43(6):1283-92.

Impact of the Valepotriate active ingredient on inflammation and the response to pain stimuli in male rats

Cheraghi M[1], Hashemzadeh P[2], Sedighi M[1], Karimi A[3*]

1. Associate Professor of Cardiology, Cardiovascular Research Center, Shahid Rahimi Hospital, Lorestan University of Medical Sciences, Khoramabad, Iran

2.Masters Student, Department of Medical Biotechnology, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

3. Associate Professor, Department of Anesthesia, Faculty of Medicine, Shahid Rahimi Hospital, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran, arashkarimidastgerdi@gmail.com

Received: *2024/8/28* Accepted: *2025/1/12*

Abstract

Background: The present study was designed to evaluate the effect of Valepotriate (from *Valeriana officinalis*) on pain and inflammation in rats and to determine its possible analgesic and inflammatory mechanisms.

Materials and Methods: The present study was conducted with the objective of investigating the anti-inflammatory effect. To this end, 40 male rats were randomly divided into five groups. In the pain test, 56 male rats were randomly divided into seven groups (n=8 each).

Inflammation test: 1- Normal saline group, 2- Xylene group, 3- Dexamethasone group, 4 and 5- Groups that received the active ingredient Valepotriate at doses of 0.2 and 0.1 mg/kg as a single dose for each animal.

Pain test: 1- Saline group, 2- Formalin, 3- Morphine + Formalin group, 4-5- Valepotriate group (0.2 and 0.1 mg/kg) + Formalin, 6- Naloxone + Extract group (0.2 mg/kg) + Formalin, 7- Naloxone+ Morphine + Formalin group

Results: The results showed a significant decrease in pain response time at 0.2 doses of Valepotriate in acute and chronic pain phases compared to Formalin ($P<0.001$). Valepotriate active ingredient also exerted its inhibitory effect on xylene-induced inflammation, with the best inhibition percentage observed for 0.2 mg/kg dose and dexamethasone with extract at 0.2 mg/kg ($P<0.01$).

Conclusion: According to the results, Valepotriate has a relatively strong analgesic effect. It is likely that the mechanism of analgesic action of the extract is at least relatively similar to that of morphine based on opioid receptors. In the inflammation test, the extract was able to inhibit inflammation in a way similar to dexamethasone.

Keywords: Inflammation, Pain, Rat, Valepotriate, *Valeriana officinalis*.

Citation: Cheraghi M, Hashemzadeh P, Sedighi M, Karimi A. Impact of the Valepotriate active ingredient on inflammation and the response to pain stimuli in male rats. Yafte. 2025; 27(1): 28-40.