

مقایسه اثر عصاره آبی ریشه ارکید با ایوبروفن بر آستانه حسی درد با استفاده از آزمایش فرمالین در موش صحرایی نر بالغ

نویسندگان:

حسین کارگر جهرمی^۱، اسماعیل صلح جو^۲، آرش حسن نژاد^۳، محمد پورا احمدی^۱، رضا صحرایی^۱، حسنعلی عابدی^۱، شکوفه آتش پور^۱ و^۲ *

- ۱- مرکز تحقیقات بیماری‌های غیر واگیر، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران
- ۲- مرکز تحقیقات زئونوز، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران
- ۳- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران
- ۴- گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.18, No.1, Spring 2020

چکیده:

مقدمه: درد احساس نامطبوعی است که معمولاً در اثر صدمات وارده به بافت‌ها به وجود می‌آید. گیاه ارکید با داشتن گلوکومانان دارای اثرات ضددردی در مدل‌های ایجاد درد حاد و مزمن است. با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی ترکیبات موجود در ریشه این گیاه، هدف از انجام این طرح بررسی اثر عصاره ریشه ارکید بر کاهش و پیشگیری از درد فرمالینی بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی ۵۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی در هفت گروه کنترل، شاهد، ایوبروفن (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و چهار گروه دریافت کننده عصاره آبی ریشه ارکید (۸۰، ۱۶۰، ۳۲۰ و ۶۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) قرار گرفتند. تزریق‌ها به صورت درون صفاقی انجام شد. سی دقیقه پس از تزریق عصاره ارکید، آزمایش فرمالین انجام شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی دانکن در سطح معناداری ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: غلظت‌های ۳۲۰ و ۶۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنادار درد حاد و غلظت‌های ۱۶۰، ۳۲۰ و ۶۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنادار درد مزمن شد. ایوبروفن نیز درد حاد و مزمن ناشی از فرمالین را کاهش داد.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره ریشه ارکید به صورت وابسته به دوز دارای خاصیت ضددردی است که احتمالاً به خاصیت آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضدالتهابی آن و همچنین وجود گلوکومانان مربوط می‌شود.

واژگان کلیدی: ارکید، درد، فرمالین، موش صحرایی

Pars J Med Sci 2020;18(1):15-22

مقدمه:

صورتی که درد مزمن بعد از گذشت چند ثانیه و یا بیشتر بروز کرده و چند ثانیه تا چند دقیقه ادامه می‌یابد [۲، ۳]. بر اساس تعریف انجمن بین‌المللی مطالعه و بررسی درد، آستانه حسی درد به کمترین حد دردی که فرد قادر به تشخیص آن باشد گفته می‌شود. سطح تحمل درد به معنی بیشترین میزان دردی که که یک فرد آمادگی تحمل آن را دارد بوده و در افراد مختلف متفاوت

درد یکی از مشکلات اصلی همراه با بیماری‌های مختلف است که هر انسانی در طول عمر خود با آن مواجه می‌شود. درد عبارت است از احساس نامطبوعی که معمولاً در اثر صدمات وارده به بافت‌های مختلف بدن به وجود می‌آید [۱]. درد به دو نوع درد فیزیولوژیک یا حاد و درد پاتولوژیک یا مزمن طبقه بندی می‌شود. درد حاد در حدود ۱/۱ ثانیه پس از ایجاد صدمه پدیدار شده، در

* نویسنده مسئول، نشانی: دکترای فارماکولوژی - توکسیکولوژی - مرکز تحقیقات بیماری‌های غیر واگیر، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران.

پست الکترونیک: sh.atashpoor@gmail.com

تلفن تماس: ۰۹۱۷۷۱۲۶۰۲۹

پذیرش: ۹۹/۲/۹

اصلاح: ۹۹/۲/۸

دریافت: ۹۸/۱۲/۶

نیتریک اکسید (NO) به شمار می‌رود که مانع تولید NO به عنوان میانجی پر دردی می‌شوند [۱۶، ۱۷]. فلاونوئیدها همچنین با تاثیر روی گیرنده $\alpha 2$ - آدرنژیک دارای اثر ضد دردی از طریق تعدیل مسیرهای آدرنژیکی هستند و باعث کاهش حساسیت سیستم عصبی مرکزی می‌شوند [۱۸].

یکی از روش‌های تعیین میزان درد، آزمایش فرمالین است. مهم ترین ویژگی آزمایش فرمالین این است که جوندگان دو پاسخ به درد را نشان می‌دهند که ظاهراً دو سازوکار مختلف دارد. مرحله اول (درد حاد) بلافاصله بعد از تزریق فرمالین ظاهر می‌شود که به مدت ۳-۵ دقیقه طول می‌کشد. بعد از ۵ دقیقه اول در فاصله ۵-۱۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین، رفتار خاصی از خود نشان نمی‌دهند. فاز دوم درد (درد مزمن) از دقیقه ۱۶ شروع شده و تا دقیقه ۶۰ طول می‌کشد.

در پژوهش حاضر علاوه بر بررسی تأثیر عصاره ارکید بر درد حاد و مزمن، مقایسه‌ای بین ترکیبات این گیاه و یک داروی ضد درد رایج به نام ایبوپروفن با استفاده از آزمایش فرمالین صورت خواهد گرفت. ایبوپروفن از داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی است که از طریق مهار سنتز پروستاگلاندین‌ها اثرات ضددردی خود را اعمال می‌کند [۱۹، ۲۰]. مشخص شده است ایبوپروفن مهارکننده غیرانتخابی آنزیم سیکلوکسیژناز است. از طرفی داروهای مهارکننده سیکلو اکسیژناز اثر قابل توجه خود را در مرحله دوم درد اعمال می‌کنند [۲۱]. علاوه بر این گزارش‌هایی مبنی بر عدم تأثیر معنادار ایبوپروفن بر درد حاد یا فاز اولیه آزمایش فرمالین وجود دارد [۲۲].

روش کار:

در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی و کاملاً تصادفی، با توجه به مطالعات پیشین و رعایت قوانین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی حجم نمونه ۵۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۰۰-۱۸۰ تعیین شد. موش‌ها از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جهرم تهیه شدند. چرخه تاریکی و روشنایی شامل ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت محیط در حدود ۵۰ تا ۵۵ درصد بود. موش‌ها در هفت گروه هشت تایی قرار گرفتند. گروه ۱ (گروه کنترل): به موش‌های این گروه ۰/۰۵ میلی لیتر فرمالین ۲/۵٪ به صورت زیر جلدی به کف پای راست حیوان تزریق شد [۲۳]. گروه ۲ (گروه شاهد): به موش‌های این گروه ۳۰ دقیقه قبل از تزریق فرمالین یک میلی لیتر آب مقطر به صورت داخل صفاقی تجویز شد. گروه‌های ۳ (گروه تجربی اول) و ۴ (گروه تجربی دوم) و ۵ (گروه تجربی سوم) و ۶ (گروه تجربی چهارم): به موش‌های این گروه‌ها ۳۰ دقیقه قبل از تزریق فرمالین به ترتیب مقادیر ۸۰، ۱۶۰، ۳۲۰

است. سطح درد به عوامل مختلفی همچون جنسیت، سن، شرایط زیست محیطی، وضعیت روان‌شناسی و میزان هورمون‌های جنسی بستگی دارد [۴]. در حال حاضر دو دسته اصلی از مواد ضد درد یعنی اوپیوئیدها (مخدرها) و داروهای ضد درد و ضدالتهاب غیراستروئیدی مورد استفاده قرار می‌گیرند که با وجود استفاده فراوان، آثار نامطلوب آن‌ها نیز قابل توجه است. به عنوان نمونه، شبه اسپرین‌ها آسیب‌هایی را به دستگاه گوارش، کلیه‌ها و سیستم عصبی مرکزی وارد می‌سازند و علاوه بر آن در برخی از بیماران موثر نبوده و حتی ایجاد تحمل نسبت به برخی از آنان گزارش شده است. در مورد داروهای ضد درد اوپیوئیدی نیز مشکلاتی همچون تحمل به دارو، وابستگی، سرخوشی، ایجاد تهوع، یبوست، ضعف تنفسی دیده شده است [۵].

گیاه ارکید (*Lancibractea (C.koch) Renz Dactylorhiza*) متعلق به خانواده ارکیدها با گونه‌های متفاوتی است که تقریباً در سرتاسر دنیا می‌روید [۶]. در طب سنتی، این گیاه به عنوان مرهم سینه و در درمان اختلال‌های سینه و روده، بیماری سل، اسهال، پارکینسون، سرطان، تب و به ویژه به عنوان تقویت‌کننده فعالیت‌های جنسی، درمان اختلال‌های نعوظ، افزایش قدرت بدنی و انرژی‌زایی تجویز می‌شود. از این گیاه در صنعت بستنی‌سازی، نوشیدنی و شیرینی‌سازی نیز استفاده می‌شود [۷، ۸]. ارکید دارای مواد نیتروژن دار، نشاسته، پروتئین، قند، هیدروکسی بنزالدئید، اسید فرولیک، کوئرستین، داوکوسترول، سیرسیلینول، استروئیدها و گلوکومانان است [۹، ۱۰، ۱۱]. همچنین عصاره ریشه این گیاه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای است [۱۲].

گلوکومانان که یک از ترکیبات موجود در گیاه ارکید است، نوعی فیبر طبیعی خنثی محلول در آب است که به تنظیم قند خون، کاهش فشار بر پانکراس و ناهنجاری‌های قند خون از قبیل هیپوگلیسمی کمک می‌کند [۱۳، ۱۴]. همچنین بر اساس نتایج مطالعه کورداوا و همکاران در سال ۲۰۱۳، پلی ساکارید گلوکومانان دارای اثرات ضد دردی قابل ملاحظه‌ای در مدل‌های ایجاد درد حاد و مزمن است. بر اساس گزارش این پژوهشگران اثرات ضددردی گلوکومانان با مهار واکنش‌های التهابی و همچنین مهار نوروترانسمیترهای درگیر در مسیر درد همچون گلوتامات و N-متیل D-آسپاراتات (NMDA) مرتبط است [۲۵]. فلاونوئیدها و استروئیدها که از دیگر ترکیبات موجود در عصاره ارکید هستند، با مهار آنزیم سیکلو اکسیژناز تولید پروستاگلاندین E₂ از آراشیدونیک اسید در پاسخ به محرک‌های التهابی مهار می‌کنند. در نتیجه این کار، از حساس شدن گیرنده‌های درد که به وسیله این مولکول‌ها به وجود می‌آید جلوگیری می‌شود و احساس دردی که همراه با این پاسخ‌ها است کاهش می‌یابد [۱۵]. از سوی دیگر، فلاونوئیدها از مهارکننده‌های آنزیم سنتزکننده

در این فرمول T0, T1, T2, T3 تعداد ۱۵ ثانیه‌هایی است که حیوان در یک دوره ۵ دقیقه ای به ترتیب رفتار صفر، ۱، ۲، و ۳ را نشان می‌دهد. در کلیه گروه‌ها زمان ۱۵-۰ دقیقه به عنوان مرحله حاد و زمان ۶۰-۱۶ دقیقه به عنوان مرحله مزمن در نظر گرفته شده است.

این مطالعه دارای کد اخلاق IR.JUMS.REC.1395.129 از دانشگاه علوم پزشکی جهرم بوده و کلیه اصول و ملاحظات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است.

داده‌ها به کمک نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ و با استفاده از آزمون آماری تحلیل واریانس‌های یک طرفه و آزمون تعقیبی دانکن در سطح معناداری ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند. اعداد به صورت میانگین \pm خطای استاندارد نمایش داده شده‌اند.

یافته‌ها:

همان طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است از زمان تزریق فرمالین تا ۱۵ دقیقه پس از آن (مرحله حاد) بیشترین کاهش درد مربوط به گروه دریافت کننده ایبوپروفن است ($P < 0.05$). گروه‌های دریافت کننده ارکید ۸۰ و ۱۶۰ میلی‌گرم در مقایسه با گروه کنترل و شاهد کاهش معناداری را نشان ندادند. گروه‌های دریافت کننده ارکید ۳۲۰ و ۶۴۰ میلی‌گرم در مقایسه با گروه کنترل و شاهد کاهش معناداری را نشان دادند ($P < 0.05$ ، ولی در مقایسه با گروه دریافت کننده ایبوپروفن افزایش معناداری داشته‌اند. در مقایسه عصاره‌های مختلف ریشه ارکید با یک دیگر، بیشترین اثر مربوط به عصاره ۶۴۰ میلی‌گرم بود که در مقایسه با سایر دوزهای عصاره کاهش درد معناداری نشان داد ($P < 0.05$). بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌های هر ستونی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند اختلاف معناداری با هم ندارند ($n=8$, $P < 0.05$). (نمودار ۱)

در رابطه با درد مزمن، همان طور که در نمودار ۲ نشان داده شده است از زمان ۱۵ دقیقه بعد از تزریق فرمالین تا ۶۰ دقیقه پس از آن، بیشترین کاهش درد مربوط به گروه دریافت کننده ایبوپروفن است ($P < 0.05$). گروه‌های دریافت کننده ارکید ۸۰ و ۱۶۰ میلی‌گرم در مقایسه با گروه کنترل و شاهد کاهش معناداری را نشان ندادند. گروه‌های دریافت کننده ارکید ۳۲۰ و ۶۴۰ میلی‌گرم در مقایسه با گروه کنترل و شاهد کاهش معناداری را نشان دادند ($P < 0.05$ ، ولی در مقایسه با گروه دریافت کننده ایبوپروفن افزایش معنادار نبود. در مقایسه عصاره‌های مختلف ریشه ارکید با یک دیگر، بیشترین اثر مربوط به عصاره ۶۴۰ میلی‌گرم بود که در مقایسه با سایر دوزهای عصاره کاهش درد معناداری نشان داد ($P < 0.05$). همچنین در مرحله مزمن، دوز ۳۲۰ میلی‌گرم نیز

و ۶۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی ریشه گیاه ارکید به صورت داخل صفاقی تجویز شد [۲۴، ۷]. ثبت رفتارهای بی‌دردی بلافاصله پس از تزریق فرمالین شروع و تا ۶۰ دقیقه ادامه یافت. گروه ۷ (گروه تجربی پنجم): به موش‌های این گروه ۳۰ دقیقه قبل از تزریق فرمالین میزان ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم ایبوپروفن (داروی ضداالتهابی غیراستروئیدی به عنوان گروه کنترل مثبت) بر حسب وزن بدن به روش داخل صفاقی تزریق شد [۳۰].

برای تهیه عصاره گیاه ارکید، مقدار ۱۰۰ گرم ریشه تازه و خرد شده گیاه را در ۵۰۰ سی‌سی اتانول ۹۶ درجه ریخته و مخلوط حاصل در دستگاه روتودوکسی به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار داده شد تا یک مخلوط یک نواخت به دست آید. سپس محلول صاف شده با دور ۳۰۰۰ و به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. این کار برای اطمینان از جدا شدن ذرات معلق در گیاه انجام می‌شود. محلول به دست آمده را به مدت ۴۸ ساعت در شرایط محیط قرار داده تا به عصاره جامد و خشک فاقد الکل تبدیل شود. سپس عصاره خشک به دست آمده در آب مقطر حل شد [۲۵].

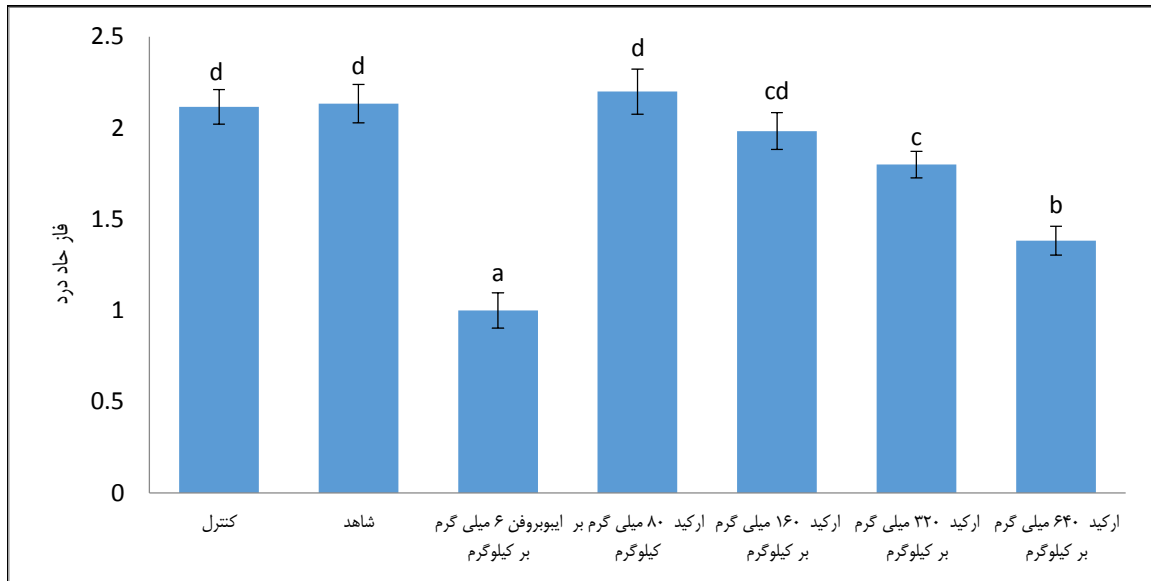
آزمایش فرمالین:

برای انجام آزمایش فرمالین و ثبت رفتارهای بی‌دردی ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش تجویز عصاره یا آب مقطر انجام شد و بلافاصله حیوان به منظور سازش با محیط و رفع استرس در محفظه آزمون فرمالین قرار داده شد. پس از ۳۰ دقیقه، ۰/۰۵ میلی‌لیتر فرمالین ۲/۵٪ به صورت زیر جلدی به کف پای راست حیوان تزریق و حیوان بلافاصله در محفظه آزمون فرمالین از جنس پلکسی گلاس با ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر قرار داده شد. به کمک آینه‌ای که با زاویه ۴۵ درجه نسبت به سطح افق در کف محفظه تعبیه شده بود رفتار حیوان مشاهده شد و هر ۱۵ ثانیه پاسخ حرکتی درد با اعداد ۰، ۱، ۲ و ۳ (طبق روش Dubisson and Dennis, 1997) به شرح زیر ثبت شد [۲۳]:

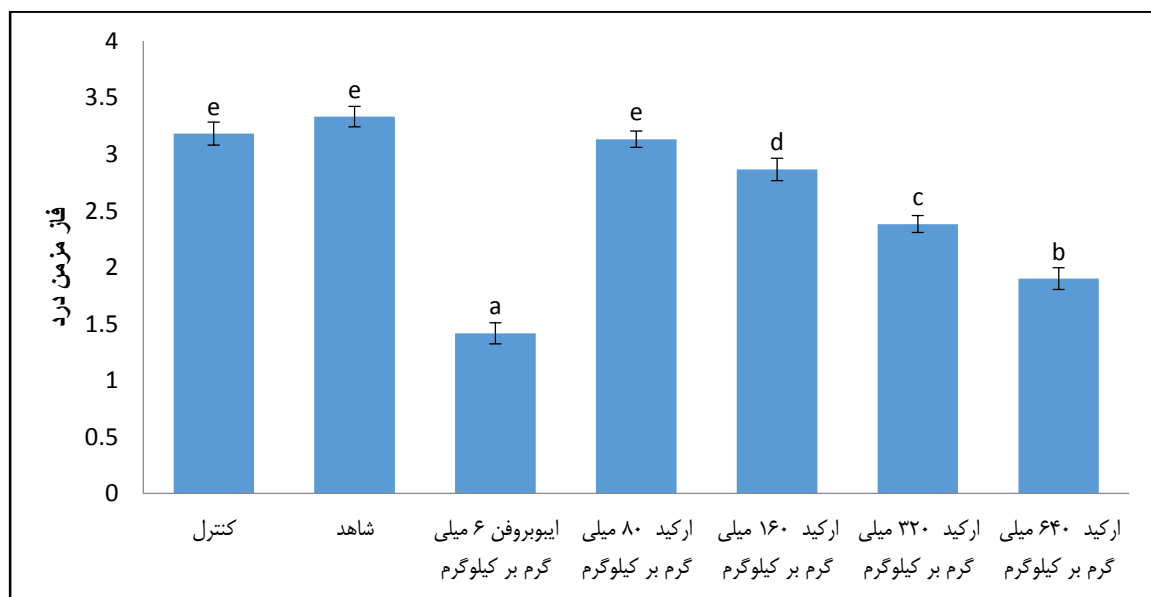
عدد صفر: برای هنگامی که حیوان موقع راه رفتن تعادل کامل داشته و وزن بدنش به تساوی روی هر دو پا توزیع شده باشد. عدد ۱: برای هنگامی که حیوان وزن بدنش را روی پای تزریق شده تحمل نکرده و یا در موقع راه رفتن مشکل نداشته باشد. عدد ۲: برای وقتی که حیوان پنجه دردناک را بلند کرده و هیچ گونه تماسی با کف محفظه نداشته باشد. عدد ۳: برای زمانی که حیوان پای دردناک را لیسیده یا به شدت تکان دهد. نمره درد طی ۶۰ دقیقه به صورت ۱۲ بلوک ۵ دقیقه‌ای تعیین و میانگین نمره درد طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{Pain Score} = \frac{0T0 + 1T1 + 2T2 + 3T3}{300S}$$

نسبت به دوز ۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم کاهش معناداری داشت (P<۰/۰۵).
 بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌های موجود در هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند اختلاف معناداری با هم ندارند (P<۰/۰۵, n=8). (نمودار ۲)



نمودار ۱: مقایسه میانگین گروه‌های مختلف در خصوص تاثیر عصاره ارکید بر فاز حاد درد فرمالینی.



نمودار ۲: مقایسه میانگین گروه‌های مختلف در مورد اثر عصاره ارکید بر فاز مزمن درد فرمالینی.

بحث:

ارکید اثر ضد دردی آن نیز افزایش یافته است. گلوکومانان یکی از ترکیبات موجود در گیاه ارکید می باشد. بر اساس نتایج مطالعه کورداوا و همکاران در سال ۲۰۱۳، این گیاه اثرات ضد دردی قابل ملاحظه‌ای در دردهای حاد و مزمن دارد. این مطالعه نشان داد

در مطالعه حاضر مشخص شد که دوزهای بالای عصاره ارکید (۳۲۰ و ۶۴۰ میلی‌گرم) باعث کاهش درد نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد شده است. این اثر ضد دردی عصاره ارکید به صورت وابسته به دوز بوده به طوری که با افزایش دوز عصاره ریشه

نیز بخشی از آن است، وجود گیرنده‌های GABA_A، اپیوئیدی، آلفا دو آدرنژیک گزارش شده است. تحریک این گیرنده‌ها موجب بی‌دردی می‌شود [۳۴]. فلاونوئیدها با مهار سیکلواکسیژناز در بافت ملتهب، از تشکیل پروستاگلاندین‌ها که سبب تحریک رستپورهای درد می‌شوند، جلوگیری می‌کنند. گیاهان حاوی فلاونوئید، بسیاری از آثار خود را با مهار آنزیم سیکلواکسیژناز اعمال می‌کنند [۳۵]. فلاونوئیدها یکی از مهار کننده‌های آنزیم سنتز کننده نیتریک اکسید نیز به شمار می‌روند و مانع تولید نیتریک اکسید می‌شوند که به دنبال تزریق فرمالین افزایش می‌یابد. بنابراین، کاهش آن منجر به فعالیت ضد درد می‌شود. سایر مطالعات نشان داده‌اند که فلاونوئیدها با مهار فعالیت گیرنده های NMDA سبب کاهش کلسیم داخل سلولی شده که به دنبال آن فعالیت آنزیم سنتز کننده نیتریک اکسید و فسفولیپاز A2 وابسته به کلسیم کاهش می‌یابد و در نتیجه با کاهش نیتریک اکسید و پروستاگلاندین‌ها اثرات ضد درد خود را نشان می‌دهند. مهار فعالیت آنزیم فسفولیپاز A2 باعث مهار تبدیل اسید فسفوتیدیک به اسید آراشیدونیک می‌شود و در نتیجه سنتز پروستاگلاندین‌ها مهار می‌شود [۳۶]. با توجه به شواهد موجود، فلاونوئیدها با مهار فاکتور نکروز کننده تومور [۳۷] و مهار آنزیم سیکلواکسیژناز، تولید پروستاگلاندین‌ها از اسید آراشیدونیک در پاسخ به محرک‌های التهابی را مهار می‌کنند [۳۳]. فلاونوئیدها، کوئرستین، دائوکوسترول، سیرسیلینول و استروئیدها از دیگر ترکیبات موجود در عصاره ارکید هستند. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که ارتباطی بین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد درد وجود دارد [۳۸]. فلاونوئیدها دارای خاصیت ضد درد و ضدالتهابی هستند. این تأثیر از طریق مهار متابولیسم اسید آراشیدونیک و خاصیت ضد رادیکالی فلاونوئیدها است. ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و فلاونولی تولید پروستاگلاندین‌ها و ترمبوکسان را مهار می‌کنند [۳۹]. میانجی‌های التهابی متنوعی همچون پروستاگلاندین‌ها باعث شروع مسیر درد می‌شوند. پروستاگلاندین‌ها طی متابولیسم اسید آراشیدونیک از طریق مسیر سیکلواکسیژناز تولید می‌شوند. آراشیدونیک اسید از طریق مسیر لیبواکسیژناز متابولیزه می‌شود که منجر به تولید لکوترین‌ها شده که همراه با مسیرهای التهابی علایم درد را تشدید می‌کنند [۴۰]. از آن جایی که پروستاگلاندین‌ها میانجی‌های مهمی در بروز درد هستند و عصاره ریشه ارکید به دلیل دارا بودن فلاونوئیدها و خاصیت بالای آنتی‌اکسیدانی می‌تواند مانع از تولید پروستاگلاندین‌ها و ترمبوکسان شود، بنابراین ممکن است از این طریق باعث بروز اثرات ضد درد شود.

که گلوکومانان سبب کاهش مقادیر اینترلوکین ۱ بتا در طناب نخاعی و اعصاب مدل Partial Sciatic Nerve Ligation می‌شود. به علاوه درمان سیستمیک با گلوکومانان سبب مهار درد القا شده با تزریق کف پای گلوتامات و تزریق اینتراتکال NMDA (N-متیل - D-آسپاراتات)، تومور نکروز فاکتور آلفا و اینترلوکین ۱ بتا می‌شود [۲۶، ۱۳]. خاصیت ضد درد و ضدالتهابی گلوکومانان وابسته به تحریک مهار اسید استیک و همچنین انتقال لکوسیت‌ها گزارش شده است، هرچند سازوکار آن مشخص نیست [۲۷]. اسید استیک تزریق شده به صورت درون صفاقی با تحریک آزادسازی میانجی‌گرهای شیمیایی همچون پروستاگلاندین‌ها، سیتوکین‌ها و برادی‌کینین‌ها منجر به ایجاد درد التهابی و همچنین افزایش نفوذپذیری مویرگ‌ها می‌شود [۲۸]. اثرات گلوکومانان بر مهار درد ناشی از اسید استیک القاء شده می‌تواند به دلیل کاهش آزادسازی واسطه‌های التهابی از جمله برادی‌کینین‌ها، گلوتامات، پروستاگانوئیدها و سیتوکین‌ها اینترلوکین ۱ بتا و فاکتور نکروز کننده تومور آلفا (TNF- α) باشد [۲۹]. گلوکومانان به طور قابل توجهی باعث کاهش درد ایجاد شده به وسیله تزریق اینترلوکین ۱ بتا و تومور آلفا می‌شود که این به دلیل قابلیت ضد درد و ضد التهابی گلوکومانان در مهار سیتوکین‌ها است [۲۶]. علاوه بر این، نشان داده شده است که اینترلوکین ۱ بتا از طریق افزایش نفوذ کلسیم و فعال کردن پروتئین کیناز C باعث افزایش جریان گیرنده‌های یونوتروپیک گلوتامات AMPA (آلفا-آمینو-۳-هیدروکسی-۵-متیل-۴-ایزوالو کسازول پروپانویک اسید) و NMDA در طناب نخاعی می‌شوند. گلوتامات از میانجی‌های التهاب درونی است که در زمان آسیب‌های عصبی محیطی آزاد می‌شود و در تحریک عصبی درد شرکت می‌کند. گلوکومانان با مهار آزادسازی اینترلوکین ۱ بتا و نوروترانسمیترهای درگیر در مسیر درد همچون گلوتامات باعث کاهش درد می‌شود [۳۰، ۳۱، ۳۲]. در پژوهش کوردوا و همکاران در سال ۲۰۱۳ افزودن گلوکومانان به طور معناداری باعث مهار درد ایجاد شده به وسیله گلوتامات شد. این پژوهشگران گزارش کردند سازوکار عمل ضد درد گلوکومانان احتمالاً می‌تواند از طریق مهار گلوتامات و از طریق گیرنده‌های NMDA انجام شده باشد که برای تأیید این مطلب نیاز به مطالعات تکمیلی است [۲۶].

فلاونوئیدها یکی دیگر از ترکیبات این گیاه است که خواص ضد درد و ضد التهابی دارد [۳۳]. فلاونوئیدها می‌توانند از سد خونی- مغزی عبور کنند و به واسطه سازوکارهای مختلفی از جمله اثر بر گیرنده‌های GABA_A، اپیوئیدی، آلفا دو آدرنژیک و مهار آنزیم‌های درگیر در التهاب در مغز، درد را به صورت مرکزی کنترل کنند. در نواحی مختلف سیستم عصبی از جمله در ناحیه نوکی شکمی جانبی بصل‌النخاع که هسته پاراژینگانوسولولاریس

نتیجه‌گیری:

نتایج این مطالعه نشان داد که تمامی دوزهای عصاره ریشه گیاه ارکید استفاده شده نسبت به ایبوپروفن اثر ضددردی کمتری داشتند ($P < 0.05$). گروه‌های دریافت کننده عصاره ارکید ۳۲۰ و ۶۴۰ میلی‌گرم در مقایسه با گروه کنترل و شاهد کاهش معناداری در کاهش درد حاد و مزمن ناشی از تزریق فرمالین نشان دادند ($P < 0.05$). عصاره ریشه این گیاه حاوی گلوکومانان است و پلی‌ساکارید گلوکومانان دارای اثرات ضد دردی قابل ملاحظه‌ای از طریق مهار گلوکومات و از طریق گیرنده‌های NMDA مدل‌های ایجاد درد حاد و مزمن است. اثر ضددردی عصاره ریشه ارکید ممکن است به دلیل وجود ترکیبات سودمند فلاونوئیدی باشد که از طریق مهار سنتز پروستاگلاندین‌ها انجام می‌شود.

بنابراین، عصاره ریشه ارکید احتمالاً می‌تواند در کاهش دردهای حاد و مزمن در آینده استفاده شود.

تشکر و قدردانی:

این تحقیق با کد اخلاق IR.JUMS.REC.1395.129 از دانشگاه علوم پزشکی جهرم و حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری این دانشگاه انجام گرفته است، و از واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان پیمانیه شهرستان جهرم جهت همکاری در اجرای این مقاله سپاسگزاری می‌شود.

تعارض منافع:

بین نویسندگان تعارض منافع وجود ندارد.

References:

- Berne RM, Levy MN, Koeppe BM, Tanton BA. Text book of physiology. 5th edition. Philadelphia: Mosby 2004; 97-9.
- Oscar A. Pain pathway and mechanism of neuroptic pain. University at Buffalo 2007; 30(1): 133-8.
- Levine D, Sherrington S. The Integrative action of the nervous system Acentennia Lappraisal. Journal of the Neurological Science 2007; 253:1-6.
- Chiu H, Silmana A, Macfarlan G, Ray D, Gupta A, Dickens C. Poor sleep and depression are independently associated with a reduced pain threshold. Results of a Population Based Study Pain 2005; 115(3):316-21.
- Mazilu D, Ionescu R. TOPICAL NONSTEROID ANTI-INFLAMMATORY DRUGS-INDICATIONS, EFFICACY AND SAFETY. Romanian Journal of Rheumatology 2019 Jan 1;28(1).
- Endress PK. Development and evolution of extreme synorganization in angiosperm flowers and diversity: a comparison of Apocynaceae and Orchidaceae. Annals of Botany 2016 Apr 1;117(5):749-67.
- Kargar Jahromi H, Karimi Jashni H, Sameni H, Abedi HA, Kargar Jahromi Z, Khabbaz Kherameh Z. The Effect of Aqueous Extract of Dactylorhiza Maculate Root on the Concentration of Hypothalamic-pituitary-thyroid Axis Hormones in Adult Female Rats. Int J Med Res Health Sci 2016; 5:248-252.
- Kaya S, Tekin AR. The effect of salep content on the rheological characteristics of a typical ice-cream mix. J Food Eng 2001; 47(1): 59-62.
- Cozzolino S, Widmer A. Orchid diversity: an evolutionary consequence of deception? Trends Ecol Evol 2005; 20(9): 487-494.
- Baronelumaga MR, Cozzolino S, Kocyan A. Exine micromorphology of Orchidinae (Orchidoideae, Orchidaceae): phylogenetic constraints or ecological influences? Ann Bot 2006;98(1): 237-244.
- Hernandez JA, Thimmaiah A. Meta-analysis of 10 herbs of Iowa for traditional, homeopathic and modern medicinal uses. Int J Complement Alt Med 2018;11(6):326-32.
- Pourahmad M, Kargar Jahromi H, Kargar Jahromi Z. Protective Effect of Salep on Liver. Hepat Mon 2015; 15(4): e28137.
- Tekinsen KK, Guner A. Chemical composition and physicochemical properties of tubera salep produced from some Orchidaceae species. Food Chem 2010; 121(2): 468-471.
- Farhoosh R, Riazi AR. A compositional study on two current types of salep in Iran and their rheological properties as a function of concentration and temperature. Food Hydrocolloids 2007; 21: 660-666.
- Ahmadianai A, Hosseiny J, Semnianian S, Javan M, Saeedi F, Kamalinajad M. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Elaeagnus angustifolia* fruit extract. J Ethnopharmacology 2000;72(1-2): 287-92.
- Toker G, Kupeli E, Memisoglu M, Yesilada E. Flavonoids with antinociceptive and anti-inflammatory activities from the leaves of *Tilia argentea* (silver linden). J Ethnopharmacology 2004. 95(2-3): 393-7.
- Mehmat O, Yagiz U, Mehmat G. Comparison of the effects of specific and nonspecific inhibition of nitric oxide synthase on morphine analgesia, tolerance and dependence in mice. Life Sci 2003; 72:1943-51.
- Kaur R, Chopra K, Singh D. Role of alpha2 receptors in quercetin-induced behavioral despair in mice. J Med Food 2007. 10: 165-68.
- Ortega-Alvaro A, Berrocoso E, Rey-Brea R, Leza JC, Mico JA. Comparison of the antinociceptive effects of ibuprofen arginate and ibuprofen in rat models of inflammatory and neuropathic pain. Life Sci 2012; 90(1-2): 13-20.
- Malmberg AB, Yaksh TL. Cyclooxygenase inhibition and the spinal release of prostaglandin E2 and amino acids evoked by paw formalin injection: a microdialysis study in unanesthetized rats. J Neurosci 1995; 15(4): 2768-76.
- Nasri S, Ramezanghorbani A, Kamalinejad M. Analgesic and anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract of *Stachys Lavandulifolia* Vahl

- S, aerial parts in male mice. *Armaghan Danesh* 2011; 16(2): 161-71.
22. Basim A, Hojjati MR, Alibabaei Z, Fathpoor H. Evaluating the analgesic effect of *Cucurbita maxima* Duch hydro-alcoholic extract in rats. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2014; 16(4): 88-94.
 23. Harton LR, Richardson JR, Armendariz A, Nazarian A. Dissociation of morphine analgesic effects in the sensory and affective components of formalin-induced spontaneous pain in male and female rats. *Brain research*. 2017 Mar 1;1658:36-41.
 24. Shekoufeh Atashpour, Hossein Kargar Jahromi, Zahra Kargar Jahromi, Sanaz Zarei. Antioxidant effects of aqueous extract of Salep on Paraquat-induced rat liver injury. *World J Hepatol* 2017 February 8; 9(4): 209-216
 25. Faraji Z, Nikzad H, Parivar K, Nikzad M. The effect of aqueous extract of Salep Tubers on the structure of testis and sexual hormones in male mice. *Journal of Jahrom University of Medical Sciences* 2013; 11(1): 71-76.
 26. Cordova MM, Martins DF, Silva MD, Baggio CH, Carbonero ER, Ruthes AC, Iacomini M, Santos ARS. Polysaccharide glucomannan isolated from *Heterodermia obscurata* attenuates acute and chronic pain in mice. *Carbohydrate Polymers* 2013; 92: 2058-2064.
 27. Pereira MI, Ruthes AC, Carbonero ER, Marcon R, Baggio CH, Freitas CS, et al. Chemical structure and selected biological properties of a glucomannan from the lichenized fungus *Heterodermia obscurata*. *Phytochemistry* 2010; 71: 2132-2139.
 28. de Souza ET, de Lira DP, de Queiroz AC, da Silva DJ, de Aquino AB, Mella EA, et al. The antinociceptive and antiinflammatory activities of caulerpin, a bisindole alkaloid isolated from seaweeds of the genus *Caulerpa*. *Mar Drugs* 2009; 7(4):689-704.
 29. Ji RR, Strichartz G. Cell signaling and the genesis of neuropathic pain. *Science STKE* 2004; 252.
 30. Brenner GJ, Ji RR, Shaffer S, Woolf CJ. Peripheral noxious stimulation induces phosphorylation of the NMDA receptor NR1 subunit at the PKC-dependent site, serine-896, in spinal cord dorsal horn neurons. *European Journal of Neuroscience* 2004; 20: 375-384.
 31. Guo W, Zou S, Guan Y, Ikeda T, Tal M, Dubner R, et al. Tyrosine phosphorylation of the NR2B subunit of the NMDA receptor in the spinal cord during the development and maintenance of inflammatory hyperalgesia. *Journal of Neuroscience* 2002; 22: 6208-6217.
 32. Kawasaki Y, Zhang L, Cheng JK, Ji RR. Cytokine mechanisms of central sensitization: Distinct and overlapping role of interleukin-1beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha in regulating synaptic and neuronal activity in the superficial spinal cord. *Journal of Neuroscience* 2008; 28: 5189-5194.
 33. Hoodgar F, Nasri S, Amin Gh. Investigation of Antinociceptive and Anti-inflammatory Effects of Hydroalcoholic Extract of *Securiger a Securidaca L. Ofogh-e-Danesh*, *Journal of Gonabad University of Medical Sciences* 2011; 17(2): 12-20.
 34. Golabi S, hassanpour-ezati M, Rohampour K. Effect of aqueous extracts of sun-dew (*Drosera spatulata*) on the firing rate of PGI nucleus neurons after formalin-induced pain in rats. *Journal of Physiology and Pharmacology* 1389. 14 (3): 287-282.
 35. Alibabaei Z, Pilehvarian A, Shirani M, Kheiri S, Taji F, Asgari A et al. Effect of *Euphorbia helioscopia* on acetic acid-induced abdominal constrictions in Balb/c mice. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2010; 11(4):9-14. (Persian)
 36. Lopez LS, Pereira SS, Silva L, Figueiredo kA, Moura BA, Almeida F, Sousa F. Antinociceptive effect of Topiramate in models of acute pain and diabetic neuropathy in rodents. *Life Sciences* 2009; 16, 84(3-4): 105-110.
 37. Dashti-Rahmatabadi M, Vahidi Merjardi A, Pilavaran A, Farzan F. Antinociceptive Effect of Cinnamon Extract on Formalin Induced Pain in Rat. *JSSU* 2009; 17 (2):190-199. (Persian)
 38. Khalil Z, Liu T, Helwe RD. Free radicals contribute to the reduction in peripheral vascular responses and the maintenance of thermal hyperalgesia in rats with chronic constriction injury. *Pain* 1999; 79(1):31-37.
 39. Picq M, Cheav SL, Prigent AF. Effect of two flavonoid compounds on central nervous system. Analgesic activity. *Life Sci* 1991; 49(26):1979-88.
 40. Juergens UR, Stöber M, Vetter H. Inhibition of cytokine production and arachidonic acid metabolism by eucalyptol (1.8-cineole) in human blood monocytes in vitro. *Eur J Med Res* 1998. 11:508-10.

Comparison of aqueous extract of Orchid's root (*Dactylorhiza maculate*) with ibuprofen on pain sensory thresholds using the formalin test in adult male rats

Hossein Kargar jahromi^{1,2}, Esmail Solhjoo³, Arash Hassannezhad³
Mohammad Pourahmadi^{1,2}, Reza Sahraei¹, Shekufeh Atashpoor^{1,2,4*}

Received: 2020.02.25

Revised: 2020.04.27

Accepted: 2020.09.28

1. Research Center for Noncommunicable Diseases, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran
2. Zoonoses Research center, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran
3. Student Research Committee, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran
4. Pharmacology Department, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.18, No.1, Spring 2020

Pars J Med Sci 2020;18(1):15-22

Abstract:

Introduction:

Pain is an unpleasant feeling that usually occurs as a result of tissue injuries. Orchid could have significant analgesic effects in acute and chronic pain modalities due to its glucomannan content. Considering the antioxidant and anti-inflammatory properties of the Orchid root's compounds, the aim of this study was to determine the effect of Orchid root extract on the reduction and prevention of formalin-induced pain.

Materials and Methods:

In this experimental study, 56 male Wistar rats were randomly divided into 7 groups, including Control, Sham (distilled water), Ibuprofen (6 mg/kg) groups and four groups receiving the aqueous extract of Orchid root (80, 160, 320 and 640 mg/kg). All treatments were injected intra peritoneal. Formalin test was performed 30 minutes after injection of Orchid extract. Data were analyzed by one-way ANOVA and Duncan's post-test at a significance level of 0.05.

Results:

Orchid at concentrations of 320 and 640 mg/kg caused a significant reduction in acute pain and at concentrations of 160, 320 and 640 mg/kg significantly decreased chronic pain. Ibuprofen also reduced acute and chronic pain induced by formalin.

Conclusion:

This research demonstrated the dose-dependent anti-nociceptive effect of Orchid root extract which is probably related to glucomannan and its antioxidant and anti-inflammatory properties.

Keywords: Orchid, Pain, Formalin, Rat

* Corresponding author Email: sh.atashpoor@gmail.com