

اثرات ضددردی آلفا پائین در مدل‌های درد ایجاد شده به وسیله آزمون‌های رایتینگ و پلانتر در موش صحرائی

کاوه رحیمی^۱، اکرم ابراهیمی فر^۲، اسماعیل ایزد پناه^۳، هلیا رحمانی^۴، عباس احمدی^۵

^۱ مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران آگروه فیزیولوژی و فارماکولوژی،
دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۱/۰۷/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: درد یک حس ناخوشایند است. مطالعه بر روی ترکیبات ضد درد طبیعی می‌تواند سودمند باشد. لذا هدف از این مطالعه اثرات ضددردی آلفا پائین در مدل‌های درد ایجاد شده به وسیله آزمون‌های رایتینگ و پلانتر در موش صحرائی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۹ انجام شد، ۳۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۷۰±۲۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت. موش‌ها در ۵ گروه به طور تصادفی تقسیم شدند؛ گروه اول: نرمال سالین به صورت داخل صفاقی تجویز شد، گروه دوم: دیکلوفناک سدیم با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد، گروه سوم: آلفا پائین با دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد، گروه چهارم: آلفا پائین با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و گروه پنجم: آلفا پائین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز گردید. سپس آزمون‌های رایتینگ و پلانتر تست (پنج گروه برای هر آزمون) انجام شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری SPSS تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در آزمون رایتینگ تعداد پیچش‌های شکمی در گروه‌هایی که آلفا پائین دریافت کردند به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود ($p < 0/05$). همچنین دیکلوفناک سدیم ۵ میلی‌گرم موجب کاهش شدت درد در مقایسه با گروه کنترل در آزمون رایتینگ شد ($p < 0/05$). در برخی از زمان‌های آزمون پلانتر شدت درد در گروه‌هایی که آلفا پائین با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و دیکلوفناک سدیم ۵ میلی‌گرم دریافت کرده بودند، به طور معنی‌داری از گروه کنترل کمتر بود ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری: آلفا پائین در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن می‌تواند همانند دیکلوفناک سدیم با دوز ۵ میلی‌گرم موجب کاهش شدت درد مدل درد احشایی آزمون رایتینگ شود. همچنین در زمان ۳۰ و ۶۰ دقیقه در آزمون پلانتر آلفا پائین با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانست همانند دیکلوفناک سدیم با دوز ۵ میلی‌گرم موجب کاهش درد ناشی از حرارت در مقایسه با گروه کنترل شد.

واژه‌های کلیدی: آلفا پائین، استیک اسید، آزمون رایتینگ، آزمون پلانتر، موش صحرائی.

*نویسنده مسئول: کاوه رحیمی، سنندج، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، پژوهشکده توسعه سلامت، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

Email: kaveh_rahimi66a@yahoo.com

مقدمه

درد از معمول ترین علایم و نشانه‌های یک بیماری می‌باشد که به فرد این آگاهی را می‌دهد که در قسمتی از بدن اختلالی به وجود آمده است. حس درد به عنوان مجموعه پیچیده‌ای از تجارب ناخوشایند حسی، عاطفی و شناختی حاصل از آسیب بافتی و تظاهرات واکنش‌های اتونومیک، سایکولوژیک و رفتاری تعریف شده است. اگرچه درد، حسی ناخوشایند است، اما اکثر مریض‌ها داشتن درد را یک مزیت عنوان کرده‌اند، به طور مثال بیمارانی که به خاطر نوروپاتی‌های ارثی فاقد توانایی درک درد هستند، اغلب عفونت‌های آنها ناشناخته می‌ماند. درد به طور معمول، یا حاصل فشارها و دماهای شدید (آنقدر شدید که برای بافت‌ها آسیب رسان باشند) و یا ناشی از مولکول‌های سمی و واسطه‌های التهابی است. بر خلاف دیگر احساس‌ها که ماهیت نسبتاً عینی‌تری دارند، درد یک احساس کاملاً فردی است و تفسیر افراد از درد مختلف است، مثلاً ممکن است فردی درد را بسیار شدیدتر و دیگری آن را بسیار کمتر از آنچه که هست توصیف کند (۱-۳). تخمین زده می‌شود که میلیون‌ها نفر از مردم سراسر جهان دچار دردهای مزمن هستند و یکی از شایع‌ترین علل مراجعه به پزشکان دردهای مزمن است (۴). سیتوکین‌ها و اینترلوکین‌هایی که از سلول‌های التهابی نظیر ماکروفاژها تولید می‌شوند، می‌توانند به واسطه تحریک مستقیم گیرنده‌های درد و همچنین حساس کردن گیرنده‌های درد، در ایجاد دردهای مزمن نقش داشته باشند (۵ و ۶). دسته‌های مختلفی از داروهای کاهنده درد در بازار دارویی وجود دارند که شامل:

اپیوئیدها، داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی، ضدافسردگی‌ها و ضد تشنج‌ها می‌باشند. اگر چه این داروها درد را کم می‌کنند، ولی در کل اثرات آنها ناکامل، همراه با عوارض جانبی و یا ایجاد تحمل است. بنابراین یافتن داروهای ضد درد با مکانیسم‌های عمل متفاوت و عوارض کم یک امر ضروری به نظر می‌آید (۶).

در بیماری‌هایی نظیر آلزایمر بروز دردهای حاد و مزمن موجب آزار بیمار می‌گردد. در بیماری آلزایمر آسیب ماده سفید در سیستم اعصاب مرکزی موجب تخریب ارتباط بین مسیرهای تعدیل کننده درد می‌شود و در نتیجه در این بیماران حساسیت به درد افزایش می‌یابد (۷).

امروزه با توجه به کاربرد ترکیبات گیاهی در درمان بیماری‌های مختلف، پژوهش‌های زیادی در جهت به کارگیری بیشتر گیاهان دارویی و استخراج مواد مؤثره آنها به منظور درمان بیماری‌ها در حال انجام است. آلفا پاپین یک ترکیب پلی‌فنولیک از خانواده ترپن‌ها است که در گیاهان مختلفی از رده مخروطیان، از جمله درخت بنه کردستانی موجود است. در پژوهش‌های مختلفی اثرات ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی آلفا پاپین مشخص شده است. خواص آنتی‌اکسیدانی فوق‌العاده قوی آلفا پاپین می‌تواند موجب مهار تولید پروستاگلاندین E1 و KB-NF شود (۸). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که آلفا پاپین می‌تواند به عنوان یک ماده آرام‌بخش هم عمل کند. پژوهش‌های الکتروفیزیولوژیک ex vivo روی برش‌های مغزی نشان

داشت و حیوانات تا زمان آزمایش در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و تاریکی/روشنایی ۱۲ ساعت نگهداری می‌شدند. همچنین تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات در این تحقیق بر اساس معاهده هلسینکی و تحت نظر کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کردستان انجام شد.

این مطالعه در دو فاز انجام شد. در گروه اول:

نرمال سالین (با حجم ۱ میلی‌لیتر به ازای هر ۱۰۰۰ گرم وزن بدن) به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ یا پلانتر انجام شد. در گروه دوم: دیکلوفناک سدیم با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ یا پلانتر انجام شد. گروه سوم: آلفا پائین با دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ یا پلانتر انجام شد. گروه چهارم: آلفا پائین با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ یا پلانتر انجام شد. گروه پنجم: آلفا پائین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ یا پلانتر انجام شد.^۱

آلفا پائین C10H16 با وزن مولکولی ۱۳۶/۲۴ و

درجه خلوص ۹۸ درصد از شرکت تولیدی سقزسازی کردستان، ون^(۱) تهیه شد. اسید استیک از شرکت مرک (Merk-Germany) خریداری شد.

داده است که آلفا پائین می‌تواند از طریق رسپتورهای GABA-A خواب NREM را تقویت کند (۹). همچنین اثرات نوروپروتکتیو آلفا پائین به واسطه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی در رده‌های سلولی PC12 نشان داده شده است. این پژوهش‌ها پتانسیل مفید درمانی آلفا پائین و مونوترپن‌های مشابه‌ها را بر اساس تعادل اکسیدان بر آنتی‌اکسیدان در بیماری‌های سیستم عصبی پیشنهاد کرده‌اند (۱۰). همچنین مشخص شده است که آلفا پائین موجب بهبود فعالیت حرکتی و حافظه اجتنابی در مدل حیوانی پارکینسون شده است (۱۱). اخیراً از آلفا پائین در مراکز دارویی هم استفاده زیادی می‌شود و ED50 و LD50 آن به ترتیب ۰/۰۳۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۲/۰۷۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین شده است (۱۲).

با توجه به این که تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با اثر آلفا پائین در آزمون‌های درد رایتینگ و پلانتر انجام نشده است، هدف از این مطالعه تعیین و بررسی اثرات آلفا پائین در مدل‌های درد در موش صحرایی در مدل درد احشایی القا شده به وسیله استیک اسید (آزمون رایتینگ) و آزمون پلانتر بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۹ انجام شد، ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی 27.0 ± 3.0 گرم مورد استفاده قرار گرفت. موش‌ها به ۵ گروه در دو فاز تقسیم‌بندی شد. آب و غذا به صورت آزادانه در اختیار حیوانات قرار

مدت زمان ۳۰ دقیقه قبل از انجام آزمون رایتینگ آلفا پایین به صورت داخل صفاقی تزریق شد. آزمون رایتینگ یک آزمون غربالگری است که برای ارزیابی اثرات ضددردی و اثرات ضدالتهابی ترکیبات مختلف، استفاده می‌شود. درد با استفاده از تزریق یک ماده محرک نظیر استیک اسید در محوطه صفاقی حیوان آزمایشگاهی القا می‌شود. پاسخ رفتاری به درد حیوان یک حالت کشش در بدن است که رایتینگ نامیده می‌شود (۱۳). استیک اسید ۶ درصد با دوز ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی به موش‌های صحرایی تزریق خواهد شد. در مدت زمان ۳۰ دقیقه تعداد دفعاتی که حیوان خود را بر روی کف محفظه انجام آزمون می‌کشد، در سه فاز ثبت می‌گردد.

در این مطالعه برای ارزیابی درد از روش هارگریوز (درد حرارتی) استفاده شد (۱۴). به منظور تطابق ابتدا حیوانات به مدت ۳۰ دقیقه در محفظه دستگاه پلانتر با دمای ۲۳ درجه قرار گرفتند. برای انجام آزمون منبع حرارتی (نور دستگاه) که قابلیت جا به جایی دارد را در زیر پنجه پای حیوان قرار داده و درد القا گردید. زمان تأخیری که حیوان درد را حس می‌کرد و پا را عقب می‌کشید ثبت شد. ابتدا مدت زمان تأخیر پایه برای هر حیوان (میانگین سه بار اندازه‌گیری) به دست آمد. همچنین شدت نور طوری تنظیم شده بود که مدت زمان تأخیر پایه ۵ ثانیه باشد. به منظور جلوگیری از آسیب حداکثر زمان القای منبع حرارت ۳۰ ثانیه در نظر گرفته شد و در صورتی که

حیوان عکس‌العملی نسبت به القای درد نشان نمی‌داد، منبع حرارت قطع می‌شد. در تمام گروه‌ها مدت زمان تأخیر به صورت MPH درصد ثبت گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس و تست تکمیلی بنفرونی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها

نتایج مربوط به آزمون رایتینگ بر اساس میانگین و انحراف‌معیار در زمان‌های مختلف آزمون رایتینگ در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج آزمون رایتینگ به این ترتیب بود در ۱۰ دقیقه اول بعد از تزریق داخل صفاقی استیک اسید، در گروه دوم شدت درد تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه اول نشان نداد. همچنین شدت درد در گروه سوم تفاوت معنی‌داری با گروه اول نداشت. با این حال در گروه‌های چهارم و پنجم شدت درد به طور معنی‌داری کمتر از گروه اول بود ($p < 0.05$) (شکل ۱).

نتایج آزمون رایتینگ به این ترتیب بود در ۱۰ دقیقه دوم بعد از تزریق داخل صفاقی استیک اسید، در گروه دوم شدت درد به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه اول کاهش نشان داد ($p < 0.05$)، اما شدت درد در گروه سوم تفاوت معنی‌داری با گروه اول نداشت. با این حال در گروه‌های چهارم و پنجم شدت درد به طور معنی‌داری کمتر از گروه اول بود ($p < 0.05$) (شکل ۲).

آمده در دقیقه ۶۰ بدین ترتیب بود که در گروه دوم شدت درد به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه اول کاهش نشان داد ($p < 0/05$)، اما شدت درد در گروه سوم تفاوت معنی‌داری با گروه اول نداشت. با این حال در گروه چهارم شدت درد به طور معنی‌داری کمتر از گروه اول بود ($p < 0/05$). همچنین در گروه پنجم اختلاف معنی‌داری با گروه اول مشاهده نشد. در دقیقه آزمون پلانتار ۹۰ اختلاف معنی‌داری بین هیچ‌کدام از گروه‌های مورد مطالعه دیده نشد (جدول ۲).

بحث

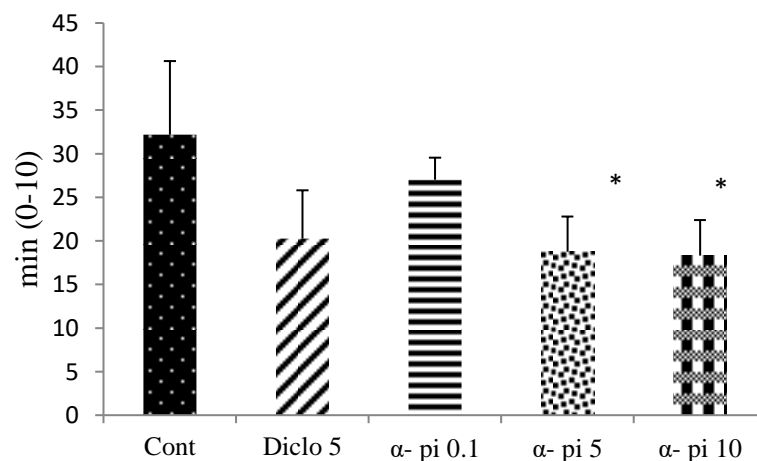
درد اغلب با یک حس ناخوشایند همراه است. لذا هدف از این مطالعه اثرات ضددردی آلفا پایین در مدل‌های درد ایجاد شده به وسیله آزمون‌های رایتینگ و پلانتار در موش صحرایی بود.

نتایج مطالعه فعلی نشان داد آلفا پایین در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارای اثرات ضد دردی در درد احشایی القا شده به وسیله استیک اسید دارد. همچنین در زمان ۳۰ و ۶۰ دقیقه در آزمون پلانتار آلفا پایین با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب کاهش درد ناشی از حرارت در مقایسه با گروه کنترل شد.

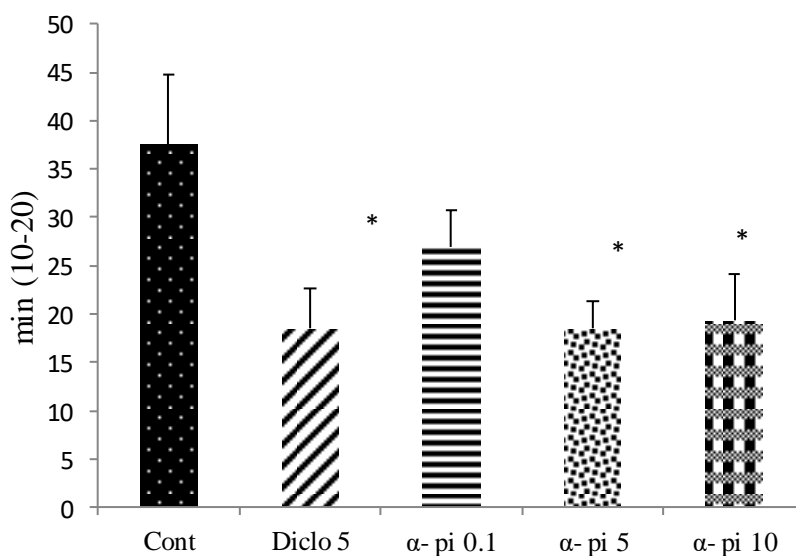
نتایج آزمون رایتینگ به این ترتیب بود در ۱۰ دقیقه سوم بعد از تزریق داخل صفاقی استیک اسید، در گروه دوم شدت درد به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه اول کاهش نشان داد ($p < 0/05$)، اما شدت درد در گروه سوم تفاوت معنی‌داری با گروه اول نداشت. با این حال در گروه‌های چهارم و پنجم شدت درد به طور معنی‌داری کمتر از گروه اول بود ($p < 0/05$) (شکل ۳).

نتایج آزمون رایتینگ به این ترتیب بود در کل دوره ۳۰ دقیقه‌ای آزمون رایتینگ، در گروه دوم شدت درد به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه اول کاهش نشان داد ($p < 0/05$)، اما شدت درد در گروه سوم تفاوت معنی‌داری با گروه اول نداشت. با این حال در گروه‌های چهارم و پنجم شدت درد به طور معنی‌داری کمتر از گروه اول بود ($p < 0/05$) (شکل ۴).

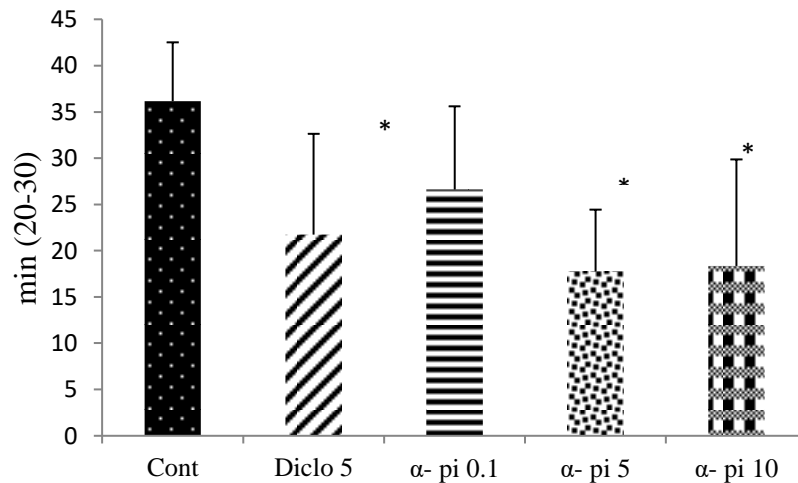
در آزمون پلانتار نتایج به دست آمده در دقیقه ۳۰ بدین ترتیب بود که در گروه دوم شدت درد به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه اول کاهش نشان داد ($p < 0/05$)، اما شدت درد در گروه سوم تفاوت معنی‌داری با گروه اول نداشت. با این حال در گروه چهارم شدت درد به طور معنی‌داری کمتر از گروه اول بود ($p < 0/05$). همچنین در گروه پنجم اختلاف معنی‌داری با گروه اول مشاهده نشد. نتایج به دست



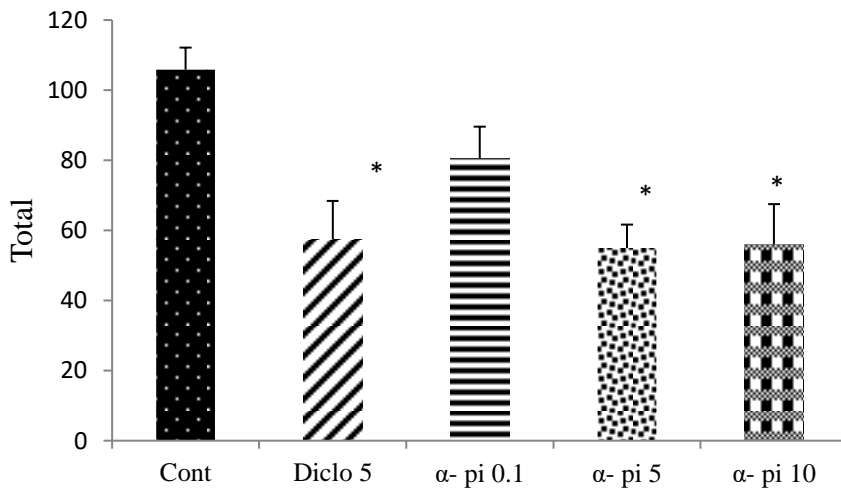
شکل ۱: نتایج مربوط به ده دقیقه اول آزمون رایتینگ در گروه‌های مورد مطالعه، گروه اول: کنترل، گروه دوم: کنترل مثبت، گروه سوم: آلفا پائین با دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ انجام شد، گروه چهارم: آلفا پائین با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ انجام شد، گروه پنجم: آلفا پائین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ انجام شد.
*تفاوت سطح معنی‌داری گروه‌های مختلف با گروه کنترل، سطح معنی‌داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.



شکل ۲: نتایج مربوط به ده دقیقه دوم آزمون رایتینگ در گروه‌های مورد مطالعه، گروه اول: کنترل، گروه دوم: کنترل مثبت، گروه سوم: آلفا پائین با دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ انجام شد، گروه چهارم: آلفا پائین با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ انجام شد، گروه پنجم: آلفا پائین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ انجام شد.
*تفاوت سطح معنی‌داری گروه‌های مختلف با گروه کنترل، سطح معنی‌داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.



شکل ۳: نتایج مربوط به ده دقیقه سوم آزمون رایتینگ در گروه‌های مورد مطالعه. گروه اول: کنترل. گروه دوم: کنترل مثبت. گروه سوم: آلفا پاپین با دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ انجام شد. گروه چهارم: آلفا پاپین با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ انجام شد. گروه پنجم: آلفا پاپین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ انجام شد. *تفاوت سطح معنی‌داری گروه‌های مختلف با گروه کنترل. سطح معنی‌داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.



شکل ۴: نتایج مربوط به کل دوره آزمون رایتینگ در گروه‌های مورد مطالعه. گروه اول: کنترل. گروه دوم: کنترل مثبت. گروه سوم: آلفا پاپین با دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ انجام شد. گروه چهارم: آلفا پاپین با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ انجام شد. گروه پنجم: آلفا پاپین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شد و ۳۰ دقیقه بعد آزمون رایتینگ انجام شد. *تفاوت سطح معنی‌داری گروه‌های مختلف با گروه کنترل. سطح معنی‌داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

جدول ۱: میانگین‌ها و انحراف معیار داده‌های آزمون رایتینگ در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	دقیقه ۰-۱۰		دقیقه ۱۰-۲۰		دقیقه ۲۰-۳۰		جمع	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
کنترل	۳۲/۱۶	۸/۴۷	۳۷/۵	۷/۲۸	۳۶/۱۶	۶/۹۶	۱۰۵/۸۳	۶/۳۶
کنترل مثبت	۲۰/۲۵	۵/۵۶	۱۸/۵	۴/۱۲	۲۱/۷۵	۴/۳۴	۵۷/۵	۱۰/۸۷
آلفا پایین با دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم	۲۷	۲/۵۴	۲۷	۳/۸	۲۶/۶	۳/۲	۸۰/۶	۹/۰۱
آلفا پایین با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم	۱۸/۷۵	۴/۰۳	۱۸/۵	۲/۸۸	۱۷/۷۵	۱/۵	۵۵	۶/۶۸
آلفا پایین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم	۱۸/۳۳	۴/۰۴	۱۹/۳۳	۴/۷۲	۱۸/۳۳	۲/۸۸	۵۶	۱۱/۵۳

جدول ۲: نتایج مربوط به آزمون پلانتار

گروه	زمان تأخیر ۳۰ درصد دقیقه بعد از تزریق		زمان تأخیر ۶۰ درصد دقیقه بعد از تزریق		زمان تأخیر ۹۰ درصد دقیقه بعد از تزریق	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
کنترل	۴۱/۳۱ a	۳۹/۵۹	۱۶/۲۹ a	۹/۱۵	۱۵/۸۳a	۷/۳۵
کنترل مثبت	۵/۲۶ a	۴/۱۸	۲/۶۵ b	۴/۰۴	۴/۶۸b	۳/۵۶
آلفا پایین با دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم	۱۷/۴۷a	۱۴/۱۰	۱۰/۱۴ab	۶/۷۵	۸/۰۰ab	۸۵.۴
آلفا پایین با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم	۱۰/۱۹ a	۶/۲۴	۶/۵۱b	۴/۲۵	۲۰/۲۱b	۴۲/۱۸
آلفا پایین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم	۱۶/۲۴ a	۳/۲۴	۱۱/۲۴ab	۵/۵۲	۱۶/۳۸ab	۱۱/۶۶

* حروف نامتشابه اختلاف سطح معنی‌داری را نشان می‌دهد. تفاوت سطح معنی‌داری گروه‌های مختلف با گروه کنترل. سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد (انحراف معیار ± میانگین)

صورت داخل دندانی درد ایجاد شد و رفتار درد ثبت گردید. بیان COX-2 در هسته دمدار مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که آلفا پایین در دوز های ۰/۲ و ۰/۴ میکرو مول بر لیتر موجب کاهش درد ناشی از کیپسایسین می شود. همچنین بیان COX-2 در هسته دمدار افزایش یافت. تجویز هم‌زمان بیکوکولین و یا نالوکسان با آلفا پایین نشان داد که اثر ضدردی آلفا

راهبر و همکاران اثر تجویز داخل بطن مغزی آلفا پایین را بر درد القا شده به وسیله کیپسایسین در پالپ دندانی در موش صحرایی مورد بررسی قرار داده‌اند. در این مطالعه آلفا پایین با غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ میکرو مول بر لیتر با جراحی استریوتاکس به صورت داخل بطن مغزی تزریق شد. سپس با استفاده از ۱۰۰ میکروگرم محلول کیپسایسین به

مورد گلی بن کلامید، ال - آرژنین، آتروپین و یوهیمبین نیز مشاهده شده است (۱۶). سیترال (۳۰۷- دی متیل - ۶،۶-اکتادینال) نیز یک مونوترپنوئید با زنجیره باز است که در اسانس چندین گیاه دارویی وجود دارد. اثرات سیترال خوراکی در مدل‌های تجربی درد حاد و مزمن، التهاب و زخم معده ناشی از داروهای ضدالتهابی غیر استروئیدی (NSAIDs) بررسی شده است. درمان خوراکی با سیترال به طور قابل توجهی پاسخ‌های درد عصبی و التهابی ناشی از تزریق داخل کف پا فرمالین را مهار کرده است. سیترال همچنین دارای اثرات ضد درد پیشگیرانه و درمانی علیه پردردی مکانیکی در جراحی برش کف پا، سندرم درد منطقه‌ای مزمن و بستن جزیی مدل‌های عصب سیاتیک، بدون ایجاد اختلال حرکتی قابل توجهی بوده است. علاوه بر این، سیترال به طور قابل توجهی پاسخ درد ناشی از تزریق داخل کف پا گلوتامات و فوربول ۱۲- میریستات ۱۳- استات (PMA)، یک فعال کننده پروتئین کیناز C) و همچنین با تزریق داخل نخاعی (i.t.) گلو تا یونوتروپیک و متابوتروپیک را کاهش داده است (۱۷).

در مطالعه حاضر نتایج مربوط به آزمون رایتینگ نشان داد که در ۱۰ دقیقه اول بعد از تزریق داخل صفاقی استیک اسید، دیکلوفناک سدیم با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نتوانست درد را بخوبی کنترل کند. با این حال دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلفا پائین درد را در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد. در ۱۰ دقیقه دوم بعد از تزریق داخل صفاقی استیک

پائین می‌تواند به واسطه تعامل با گیرنده‌های گابا آ و مو- اپیوئیدی باشد (۱۵). هیپ و همکاران اثرات ضد دردی آلفا پائین، لیمونن، فنکون و چند ترکیب مونوترپنی دیگر را در موش بالب سی مورد مطالعه قرار داده‌اند. آلفا پائین با دوز ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و به صورت داخل صفاقی تجویز شد و پاسخ رفتاری ناشی از درد با آزمون تکانه دم مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که آلفا پائین موجب افزایش تاخیر در آزمون تکانه دم می‌شود. بنابراین آنها گزارش نمودند که آلفا پائین دارای اثر ضد دردی است. همچنین در این پژوهش بیان گردیده است که آلفا پائین دارای اثرات ضد دردی بیشتری در مقایسه با سایر مونوترپین‌ها می‌باشد (۸).

آلفا فلاندرین (α -PHE) نیز یک مونوترپن می‌باشد که جزء روغن فرار در بافت‌های گیاهی است. در تست‌های درد رایتینگ و کپسایسین α -PHE اثر ضد دردی را در تمام دوزهای ارزیابی شده (حداقل دوز ۲/۱۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ارتقا داده است. در آزمون فرمالین، α -PHE (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مهار هر دو فاز حاد و مزمن مؤثر بوده است. در آزمایش گلوتامات، α -PHE (۱۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) پاسخ درد را کاهش داده است. در پردردی ناشی از کاراژینان، α -PHE (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) باعث کاهش شدت درد شده است. در مطالعه مکانیسم‌های درگیر، پیش‌درمانی با نالوکسان اثر ضددردی α -PHE را معکوس کرده است، همین امر در

اسید، دیکلوفناک سدیم با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانست درد را کنترل کند، اما در مورد دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلفا پایین اثرات ضددردی قابل توجهی مشاهده نشد. با این حال دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلفا پایین درد را در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد. همچنین در ۱۰ دقیقه سوم بعد از تزریق داخل صفاقی استیک اسید، دیکلوفناک سدیم با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانست درد را کنترل کند، اما در مورد دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلفا پایین اثرات ضد دردی قابل توجهی مشاهده نشد. با این حال دوزهای ۵ و ۱۰ آلفا پایین درد را در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد. در کل دوره ۳۰ دقیقه‌ای آزمون رایتینگ، بعد از تزریق داخل صفاقی استیک اسید، دیکلوفناک سدیم با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانست درد را کنترل کند، اما در مورد دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلفا پایین اثرات ضد دردی قابل توجهی مشاهده نشد. با این حال دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلفا پایین اثرات ضد دردی مشاهده نشد. با این حال دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلفا پایین درد را در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد. قابل ذکر است در رابطه با اثر ضددردی دیکلوفناک سدیم با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در درد احشایی القا شده به وسیله استیک اسید، تفاوت معنی‌داری با دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلفا پایین مشاهده نشد.

مدل درد احشایی القا شده به وسیله اسید استیک یک مدل غربالگری آسان و سریع برای دسترسی به نحوه فعالیت داروهای ضد درد و مکانیسم اثر آنها می‌باشد (۲۱-۱۸). تزریق داخل

صفاقی استیک اسید رفتار درد آشکار به عنوان یک پاسخ انقباضات شکمی را موجب می‌شود. کینازهای MAP و PI3K کینازهای سیگنال دهی مهم در ستون فقرات در مدل اسید استیک با رفتارهای درد آشکار هستند و همچنین فعال شدن میکروگلیای ستون فقرات نشان می‌دهد که داروهای ضد دردی آزمایش شده در این مدل‌ها عمده اثرات خود را در طناب نخاعی موجب می‌شوند. واسطه‌های التهابی مسیره‌های پیام رسان دوم مانند AMP حلقوی، پروتئین کیناز A و پروتئین کیناز C را با فسفوریلاسیون بعدی کانال‌های سدیم وابسته به ولتاژ و مهار کانال‌های پتاسیم وابسته به ولتاژ فعال می‌کنند که منجر به کاهش آستانه گیرنده درد و افزایش آستانه عصبی می‌شود (۲۳ و ۲۲). استیک اسید یک محرک التهابی است که بدون نیاز محرک‌های خارجی مکانیکی یا حرارتی رفتاری را مانند انقباضات شکمی (پیچیدگی) القا می‌کند. این رفتار اعلام شده به این دلیل رخ می‌دهد که محرک‌های درد آشکار باعث فعال شدن یا تولید سریع واسطه‌های اندوژنوس می‌شوند که گیرنده‌های درد را فعال می‌کنند. در مدل اسید استیک، نشان داده شد که سیتوکین‌هایی مانند IL- β و TNF α و کموکاین‌ها به صورت هم‌افزایی برای القای پاسخ رایتینگ یا پیچ خوردگی عمل می‌کنند (۲۴). پژوهش‌ها نشان دادند که مهار هر کدام از این فاکتورها رفتار درد را کاهش می‌دهد. همچنین تزریق تمام این سیتوکین‌ها نمی‌تواند اثر کاملاً مشابه استیک اسید ایجاد کند، بنابراین احتمالاً فاکتورهای دیگری نیز در ایجاد رفتار درد

انجام تست‌های درد مزمن بود. نتایج این پژوهش، بررسی‌های بیشتری را در رابطه با اثرات ضددردی آلفا پائین و به ویژه بررسی مکانیسم مولکولی آن را پیشنهاد می‌کند.

نتیجه‌گیری

آلفا پائین در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن می‌تواند همانند دیکلوفناک سدیم با دوز ۵ میلی‌گرم موجب کاهش شدت در مدل درد احشایی آزمون رایتینگ شود. همچنین در زمان ۳۰ و ۶۰ دقیقه در آزمون پلانتار آلفا پائین با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانست همانند دیکلوفناک سدیم با دوز ۵ میلی‌گرم موجب کاهش درد ناشی از حرارت در مقایسه با گروه کنترل شد.

تقدیر و تشکر

این مقاله بر گرفته از طرح پژوهشی با کد اخلاق IR.MUK.REC.1398.177 از دانشگاه علوم پزشکی کردستان می‌باشد، که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد.

ناشی از استیک اسید نقش داشته باشند. پژوهش‌های مختلفی نشان داده‌اند که داروهای مخدر، مهارکننده‌های سیکلوآکسیژناز و ترکیبات نچرال می‌توانند در کاهش رفتار درد ناشی از استیک اسید نقش داشته باشند (۲۶ و ۲۵).

همچنین در مطالعه حاضر در آزمون پلانتار در دقیقه ۳۰ و ۶۰ در گروه‌هایی که دیکلوفناک سدیم با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و آلفا پائین با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تجویز شده بود شدت درد در مقایسه با گروه کنترل بطور معنی‌داری کاهش یافت، اما در دقیقه ۹۰ اختلاف معنی‌داری بین هیچ‌کدام از گروه‌های مورد مطالعه دیده نشد. اثر ضد التهابی ترکیباتی مانند سسکویتیرپن لاکتون در گیاهان دارویی نظیر بابونه، خاراگوش و گل داودی به واسطه تغییر در سطح سیتوکین‌های التهابی، دارای اثرات ضد دردی می‌باشد (۲۸ و ۲۷، ۲۳). عصاره گیاهان رده مخروطیان می‌تواند در کاهش دردهای حاد و مزمن مؤثر باشند (۲۹). ترکیبات ترپنی از جمله آلفا پائین (۳۰) دارای اثرات ضدالتهابی قوی هستند که می‌تواند در کاهش درد در مدل‌های درد التهابی مؤثر باشد (۳۱-۳۲).

آلفا پائین می‌تواند در کاهش درد التهابی ناشی از تزریق اسید استیک در ناحیه صفاق و همچنین درد حاد ناشی از حرارت در آزمون پلانتار مؤثر باشد. بر اساس پژوهش‌های قبلی پژوهشگران مکانیسم احتمالی این اثر ناشی از خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی آلفا پائین باشد. محدودیت این مطالعه عدم

REFERENCES

1. Garland EL. Pain processing in the human nervous system: a selective review of nociceptive and biobehavioral pathways. *Prim Care* 2012; 39(3): 561-71.
2. Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*. 2009; 139(2): 267-84.
3. Ossipov MH. The perception and endogenous modulation of pain. *Scientifica (Cairo)* 2012; 5(6): 17-26.
4. Butera KA, Roff SR, Buford TW, Cruz-Almeida Y. The impact of multisite pain on functional outcomes in older adults: biopsychosocial considerations. *J Pain Res* 2019 15(12): 1115-25.
5. Fritzing DC, Benjamin DE. The complement system in neuropathic and postoperative pain. *Open Pain J* 2016; 9: 26-37.
6. Klein MM, Treister R, Raji T, Pascual-Leone A, Park L, Nurmikko T, et al. Transcranial magnetic stimulation of the brain: guidelines for pain treatment research. *Pain* 2015; 156(9): 1601-14.
7. Husebo BS, Achterberg W, Flo E. Identifying and Managing Pain in People with Alzheimer's Disease and Other Types of Dementia: A Systematic Review. *CNS Drugs* 2016; 30(6): 481-97.
8. Him A, Ozbek H, Turel I, Cihat Oner A. Antinociceptive activity of alpha-pinene and fenchone. *Pharmacologyonline* 2008; 3: 363-9.
9. Yang H, Woo J, Pae AN, Um MY, Cho NC, Park KD, et al. Alpha-Pinene, a Major Constituent of Pine Tree Oils, Enhances Non-Rapid Eye Movement Sleep in Mice through GABAA-benzodiazepine Receptors. *Molecular Pharmacology* 2016; 90(5): 530-9.
10. Porres-Martinez M, Gonzalez-Burgos E, Carretero ME, Gomez-Serranillos MP. In vitro neuroprotective potential of the monoterpenes alpha-pinene and 1,8-cineole against H₂O₂-induced oxidative stress in PC12 cells. *Zeitschrift fur Naturforschung C, Journal of Biosciences* 2016; 71(7-8): 191-9.
11. Goudarzi S, Rafieirad M. Evaluating the effect of α -pinene on motor activity, avoidance memory and lipid peroxidation in animal model of Parkinson disease in adult male rats. *Research Journal of Pharmacognosy* 2017; 4(2): 53-63.
12. Özbek H, Yilmaz B. Anti-inflammatory and hypoglycemic activities of alpha-pinene. *Acta Pharmaceutica Scientia* 2017; 55(4): 7-14.
13. Dzoyem JP, McGaw LJ, Kuete V, Bakowsky U. Chapter 9 - Anti-inflammatory and Antinociceptive Activities of African Medicinal Spices and Vegetables. In: Kuete V (editor). *Medicinal spices and vegetables from africa*: Academic Press; 2017; 239-70.
14. Jayaprakasha GK, Rao LJ. Chemistry, biogenesis, and biological activities of *Cinnamomum zeylanicum*. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2011; 51(6): 547-62.
15. Rahbar I, Abbasnejad M, Haghani J, Raoof M, Kooshki R, Esmaeili-Mahani S. The effect of central administration of alpha-pinene on capsaicin-induced dental pulp nociception. *International Endodontic Journal* 2019; 52(3): 307-17.
17. Lima DF, Brandão MS, Moura JB, Leitão JM, Carvalho FA, Miúra LM, et al. Antinociceptive activity of the monoterpene α -phellandrene in rodents: possible mechanisms of action. *J Pharm Pharmacol* 2012; 64(2): 283-92.
17. Nishijima CM, Ganey EG, Mazzardo-Martins L, Martins DF, Rocha LRM, Santos ARS, et al. Citral: A monoterpene with prophylactic and therapeutic anti-nociceptive effects in experimental models of acute and chronic pain. *European Journal of Pharmacology* 2014; 736: 16-25.
18. Pavao-de-Souza GF, Zarpelon AC, Tedeschi GC, Mizokami SS, Sanson JS, Cunha TM, et al. Acetic acid- and phenyl-p-benzoquinone-induced overt pain-like behavior depends on spinal activation of MAP kinases, PI³K and microglia in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2012; 101(3): 320-8.
19. Pezet S, Marchand F, D'Mello R, Grist J, Clark AK, Malcangio M, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase is a key mediator of central sensitization in painful inflammatory conditions. *Journal of Neuroscience* 2008; 28(16): 4261-70.
20. Verri Jr WA, Cunha TM, Parada CA, Poole S, Cunha FQ, Ferreira SH. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: targets for analgesic drug development? *Pharmacology & Therapeutics* 2006; 112(1): 116-38.

21. Xu K-d, Liang T, Wang K, Tian D-A. Effect of pre-electroacupuncture on p38 and c-Fos expression in the spinal dorsal horn of rats suffering from visceral pain. *Chinese Medical Journal* 2010; 123(09): 1176-81.
22. Verri WA, Cunha TM, Parada CA, Poole S, Cunha FQ, Ferreira SH. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: Targets for analgesic drug development? *Pharmacology & Therapeutics* 2006; 112(1): 116-38.
23. Verri WA, Cunha TM, Magro DA, Domingues AC, Vieira SM, Souza GR, et al. Role of IL-18 in overt pain-like behaviour in mice. *European Journal of Pharmacology* 2008; 588(2): 207-12.
24. Ribeiro RA, Vale ML, Thomazzi SM, Paschoalato ABP, Poole S, Ferreira SH, et al. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *European Journal of Pharmacology* 2000; 387(1): 111-8.
25. Valério DAR, Cunha TM, Arakawa NS, Lemos HP, Da Costa FB, Parada CA, et al. Anti-inflammatory and analgesic effects of the sesquiterpene lactone budlein A in mice: Inhibition of cytokine production-dependent mechanism. *European Journal of Pharmacology*. 2007; 562(1): 155-63.
26. Jain NK, Kulkarni SK, Singh A. Role of cysteinyl leukotrienes in nociceptive and inflammatory conditions in experimental animals. *European Journal of Pharmacology*. 2001; 423(1): 85-92.
27. de las Heras B, Hortelano S. Molecular basis of the anti-inflammatory effects of terpenoids. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2009; 8(1): 28-39.
28. Déciga-Campos M, Beltrán-Villalobos KL, Aguilar-Mariscal H, González-Trujano ME, Ángeles-López GE, Ventura-Martínez R. Synergistic herb-herb interaction of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of *syzygium aromaticum* and *rosmarinus officinalis* combination. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2021; 2021: 8916618.
29. Hajhashemi V, Zolfaghari B, Amin P. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract and essential oil of *Pinus eldarica* in animal models. *Avicenna J Phytomed* 2021; 11(5): 494-504.
30. Him AN, Özbek H, Türel I, Öner AC. Antinociceptive activity of alpha-pinene and fenchone. *Pharmacologyonline* 2008; 3(7): 363-9.
31. Del Prado-Audelo ML, Cortés H, Caballero-Florán IH, González-Torres M, Escutia-Guadarrama L, Bernal-Chávez SA, et al. Therapeutic Applications of Terpenes on Inflammatory Diseases. *Frontiers in Pharmacology* 2021; 12(13): 77-97.
32. Kim T, Song B, Cho KS, Lee IS. Therapeutic potential of volatile terpenes and terpenoids from forests for inflammatory diseases. *International Journal of Molecular Sciences* 2020; 21(6): 2187.
33. Gallily R, Yekhtin Z, Hanuš LO. The anti-inflammatory properties of terpenoids from cannabis. *Cannabis Cannabinoid Res* 2018; 3(1): 282-90.

Analgesic Effects of Alpha-Pinene on Pain Models of Writing and Plantar Tests in Rats

Rahimi K^{1*}, Ebrahimifar A², Izadpanah E², Rahmani H², Ahmadi A²

¹Cellular and Molecular Research Center, Health Development Research Institute, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran, ²Department of Physiology and Pharmacology, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

Received: 15 Oct 2022 Accepted: 06 Apr 2023

Abstract

Background & aim: Pain is an unpleasant sensation. Studying natural pain reliever compounds can be beneficial. The aim of the present study was to evaluate the analgesic effects of Alpha Pinene in writing and plantar pain tests in rats.

Methods: In the present experimental study conducted in 2019, 30 male Wistar rats (270±30 gr) were used as case subjects. The mice were randomly divided into 5 groups; the first group: normal saline administered intraperitoneally (IP), the second group: diclofenac sodium administered IP at a dose of 5 mg/kg, the third group: alpha pinene administered IP at a dose of 0.1 mg/kg. The fourth group: alpha pinene administered IP with a dose of 5 mg/kg, and the fifth group: alpha pinene administered IP with a dose of 10 mg/kg. Afterwards, the writing tests and plantar test (five groups for each test) were conducted. The collected data were analyzed using the SPSS version 16 statistical tests.

Results: The results indicated that in the writing test, the number of abdominal twists in the groups which received alpha pinene were significantly lower than the control group (P<0.05). Moreover, in the writing test, diclofenac sodium 5 mg decreased pain intensity compared to the control group (P<0.05). In the plantar test, the pain intensity in the groups that received alpha pinene 5 mg/kg and diclofenac sodium 5 mg was significantly lower than the control group (P<0.05).

Conclusion: Alpha-pinene in doses of 5 and 10 mg/kg of body weight could decrease the severity in the visceral pain model of writing test like diclofenac sodium with a dose of 5 mg. Furthermore, during 30 and 60 minutes in the plantar test, alpha pinene with a dose of 5 mg/kg was able to reduce the pain caused by heat compared to the control group, like diclofenac sodium with a dose of 5 mg.

Keywords: Alpha Pinene, Acetic acid, Writing test, Plantar test, Rat

*Corresponding author: Rahimi K, Cellular and Molecular Research Center, Health Development Research Institute, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

Email: kaveh_rahimi66a@yahoo.com

Please cite this article as follows: Rahimi K, Ebrahimifar A, Izadpanah E, Rahmani H, Ahmadi A. Analgesic Effects of Alpha-Pinene on Pain Models of Writing and Plantar Tests in Rats. Armaghane-danesh 2023; 28(3): 307-320.