

مقدمه

امروزه از مهمترین بحث‌های مطرح در جوامع پزشکی و بویژه در کشور ما اهمیت و نقش گیاهان دارویی و سنتی در درمان بیماری‌ها می‌باشد [۲،۱]. درد به عنوان یک هشدار از آسیب بافتی محسوب می‌شود. اما بدلیل احساس ناخوشایند ناشی از آن بشر همواره در پی راه‌های مقابله با آن است. درد به عنوان یکی از پنج نشان حیاتی توصیف می‌شود که بی‌توجهی به آن منجر به پیامدهای منفی زیادی می‌شود. تحریک برخی مناطق ساقه مغز می‌تواند حس درد را کاهش دهد یا مهار کند. این مناطق عبارتند از منطقه دور بطنی دیانسفال، ماده خاکستری دور قنات مغز میانی و هسته‌های خط وسط در ساقه مغز. به دلیل عوارض جانبی بالقوه و فقدان کارآیی درمان‌های استاندارد (استفاده از داروهای شیمیایی و سنتتیک)، کاربرد داروهای مکمل دیگر بویژه درمان‌های گیاهی برای کنترل درد، در حال افزایش است. گیاه مرزنجوش^۱ از جمله گیاهانی است که پراکنش وسیع جغرافیایی دارد [۳]. اورگانو گیاهی است معطر و بومی مدیترانه و معمولاً برای اهداف دارویی و درمانی کاربرد داشته است. در حال حاضر از این گیاه در کشور ما بصورت سنتی به عنوان چاشنی غذا استفاده می‌شود. همچنین از گیاه مرزنجوش جهت درمان آسم، آرتریت و دردهای عضلانی استفاده می‌شود. رزمارینگ اسید که قسمت عمده عصاره آبی گیاه مرزنجوش را تشکیل می‌دهد، به عنوان یک ضد درد بسیار مؤثر مطرح می‌باشد [۴].

گیاه مرزنجوش دارای اثرات ضدالتهابی و ضد میکروبی قابل توجهی می‌باشد، این گیاه در بعضی از کشورها از جمله مراکش بعنوان شل‌کننده عضلانی استفاده می‌شود. این گیاه در افراد مبتلا به بیماری قند شیرین اثرات درمانی قابل توجهی ایجاد می‌کند.

^۱ *Origanum Vulgare L.ssp. viride*

مشخص شده که اثرات آن قابل مقایسه با داروهای ضد قندی از جمله وانادیت سدیم می‌باشد [۵]. در بررسی قبلی ما مشخص شد که تجویز داخل بطنی عصاره آبی مرزنجوش سبب بهبود یادگیری فضایی موش‌های صحرایی در دستگاه ماز T-شکل می‌شود [۶].

طبق بررسی‌های انجام شده تاکنون در مورد اثرات ضددردی عصاره آبی مرزنجوش مطالعه‌ای صورت نگرفته است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثرات ضددردی تزریق داخل بطن مغزی عصاره آبی مرزنجوش بر آستانه درد در موش صحرایی نر می‌باشد.

روش کار

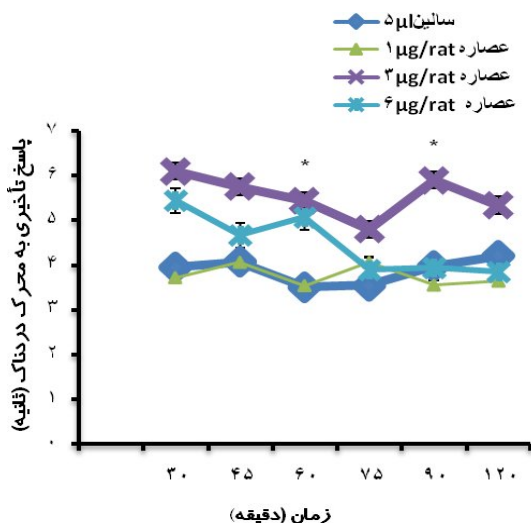
در این بررسی ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم از مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان تهیه شد. موش‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه (n=۷) تقسیم شدند. در این روش حیوانات ابتدا با تزریق زایلوزین (۱۰ mg/kg) و کتامین (۸۰ mg/kg) به صورت داخل صفاقی بی‌هوش شدند. سپس حیوان در دستگاه استریوتاکس قرار گرفته و با استفاده از اطلس پاکسینوس [۷] کانول گذاری بر روی مختصات بطن طرفی مغز (۳/۵ میلی‌متر به سمت عقب نسبت به بریگما، ۱/۲ میلی‌متر در سمت چپ خط وسط و عمق ۰/۹ میلی‌متر از سطح سخت شامه جمجمه) انجام گرفت. کانول با استفاده از خمیردندان پزشکی فیکس گردید. دهانه کانول برای جلوگیری از عفونت بوسیله مفتول فلزی مسدود گردید [۸].

یک هفته بعد از جراحی عصاره آبی مرزنجوش با دوزهای مختلف (۱۰۳ و ۶ μg/rat) و در گروه کنترل حجم معادلی از نرمال سالین (به عنوان حلال) به صورت داخل بطنی تزریق گردید و سپس سنجش درد با استفاده از دستگاه Tail-Flick به مدت ۱۲۰ دقیقه با فواصل زمانی هر ۱۵ دقیقه یکبار، در ۶

مقایسه گردید. همچنین $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد و داده‌ها در کلیه نمودارها به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین (Mean \pm SEM) نشان داده شده است.

یافته‌ها

بر اساس نتایج حاصل، عصاره آبی مرزنجوش دارای اثر ضددردی می‌باشد و این اثر وابسته به دوز است (شکل ۱). از آنجایی که آستانه درد با مصرف عصاره آبی مرزنجوش با دوز $3 \mu\text{g}/\text{rat}$ به صورت تجویز داخل بطنی، نسبت به گروه کنترل از سایر دوزها به صورت معنی‌داری بیشتر بود، لذا دوز $3 \mu\text{g}/\text{rat}$ از عصاره این گیاه به عنوان دوز ضددردی عصاره در نظر گرفته شد ($p < 0.05$) (شکل ۱).



شکل ۱. بررسی اثر تجویز داخل بطنی مقادیر مختلف عصاره آبی مرزنجوش بر آستانه درد در موش صحرایی در آزمون Tail-Flick. هر نقطه نمایانگر میانگین \pm خطای معیار میانگین (Mean \pm SEM) پاسخ تأخیری به محرک دردناک در نتیجه تزریق داخل بطنی عصاره آبی مرزنجوش با دوزهای ($1 \mu\text{g}/\text{rat}$ ، $3 \mu\text{g}/\text{rat}$ و $6 \mu\text{g}/\text{rat}$) در آزمون Tail-Flick می‌باشد ($n=7$). * = اثر ضددردی عصاره مرزنجوش در مقایسه با گروه کنترل (نرمال سالین) در زمان‌های مختلف در سطح $p < 0.05$ معنی‌دار است.

همچنین نتایج حاصل نشان داد که آستانه پاسخ به محرک دردناک به دنبال تزریق داخل بطنی عصاره‌ی

مرتبه در دقایق ۳۰ و ۴۵ و ۶۰ و ۷۵ و ۹۰ و ۱۲۰ برای هر حیوان انجام شد. داده‌های حاصل از این آزمون ثبت و تجزیه و تحلیل شدند. بر اساس نتایج آزمون‌های مذکور، مؤثرترین دوز و زمان تأثیر عصاره مرزنجوش انتخاب گردید [۸].

آزمون سنجش درد با استفاده از دستگاه Tail-Flick (ساخت کارخانه USE آلمان) انجام گرفت. در این روش شدت نور مورد استفاده برابر ۷ می‌باشد و از زمان ۱۰ ثانیه به عنوان قطع نوردهی استفاده می‌شود. یعنی چنانچه حیوان تا مدت ۱۰ ثانیه پس از شروع تابش نور سوزان، دم خود را نکشد به منظور جلوگیری از آسیب بافتی محرک قطع می‌شود. حیوان به صورت افقی داخل محفظه مخصوص نگهداری حیوان قرار می‌گیرد و دم آن آزاد می‌باشد. مدت زمان تأخیر در کشیدن دم سه مرتبه و با فواصل دو دقیقه قبل از تزریق دارو اندازه‌گیری می‌شود و میانگین آن به عنوان زمان تأخیر قبل از تزریق دارو^۱ محسوب می‌شود. حیواناتی که حداقل در دو آزمون از سه مورد فوق زمان تأخیر بیش از ۶ ثانیه داشته باشند از جریان آزمون حذف می‌شوند. در تمامی گروه‌ها ۳۰ دقیقه پس از آخرین تزریق دارو یا نرمال سالین تا مدت ۲ ساعت و در فواصل زمانی ۱۵ دقیقه‌ای زمان تأخیر پس کشیدن دم ثبت می‌گردد و میانگین آن با عنوان زمان تأخیر پس از تزریق دارو^۲ ثبت می‌گردد و با زمان قبل از تزریق دارو مقایسه می‌گردد [۹].

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ و روش Repeated Measurement مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به تفاوت معنی‌داری که در Repeated Measurement در دوزهای مختلف عصاره مرزنجوش دیده شد، به روش آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA تأثیرات در زمان‌های مختلف

¹ Pre-drug latency

² Post-drug latency

هر ستون نمایانگر میانگین \pm خطای معیار میانگین (Mean \pm SEM) پاسخ تأخیری به محرک دردناک در نتیجه تزریق داخل بطنی عصاره آبی مرزنجوش با دوزهای (۳ و ۶ $\mu\text{g}/\text{rat}$) در آزمون Tail-Flick می‌باشد (n=۷).

* اثر ضددردی عصاره مرزنجوش (۳ $\mu\text{g}/\text{rat}$) در مقایسه با گروه کنترل (نرمال سالین) در سطح $p < 0.05$ معنی‌دار است.

عصاره آبی مرزنجوش=ORG

لازم به ذکر است که بر اساس نتایج حاصل، در سایر زمان‌ها (۳۰، ۴۵، ۷۵ و ۱۲۰ دقیقه) بین دو گروه یعنی گروه تزریق داخل بطنی عصاره مرزنجوش (۳ $\mu\text{g}/\text{rat}$) و گروه کنترل، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

با توجه به اینکه دوزهای متفاوت عصاره آبی مرزنجوش (۱ و ۳ و ۶ $\mu\text{g}/\text{rat}$) در زمان‌های مختلف بعد از مداخله مورد بررسی قرار گرفت و تنها ارتباط معنی‌دار در دوز ۳ $\mu\text{g}/\text{rat}$ عصاره مرزنجوش و در زمان‌های ۶۰ و ۹۰ دقیقه بعد از مداخله مشاهده شد، می‌توان نتیجه گرفت که در دوز ۳ $\mu\text{g}/\text{rat}$ ، اثر ضددردی عصاره مرزنجوش وابسته به زمان نیز می‌باشد.

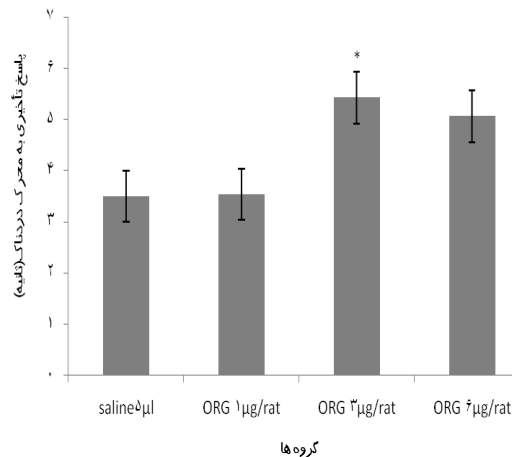
بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تجویز داخل بطنی عصاره مرزنجوش به صورت وابسته به دوز موجب بروز اثر ضددردی قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با گروه کنترل در مدت ۶۰ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق در مغز موش‌های صحرایی در مدل درد حاد حرارتی گردید.

بدین معنی که تجویز داخل بطنی عصاره مرزنجوش در مقادیر کمتر از ۳ $\mu\text{g}/\text{rat}$ فاقد اثر ضددردی بود، ولی تجویز ۳ $\mu\text{g}/\text{rat}$ از عصاره مذکور، موجب بروز اثر ضددردی معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل گردید.

ارضی و همکاران، در مطالعه‌ای با استفاده از تست فرمالین نشان دادند که گیاه مرزنجوش واجد اثر ضددردی است [۱۰]. این پژوهشگران تزریق

گیاه مرزنجوش با دوز ۳ $\mu\text{g}/\text{rat}$ در زمان‌های ۶۰ و ۹۰ دقیقه بعد از مداخله در مقایسه با گروه کنترل به صورت معنی‌داری افزایش می‌یابد ($p < 0.05$) (شکل های ۲ و ۳).

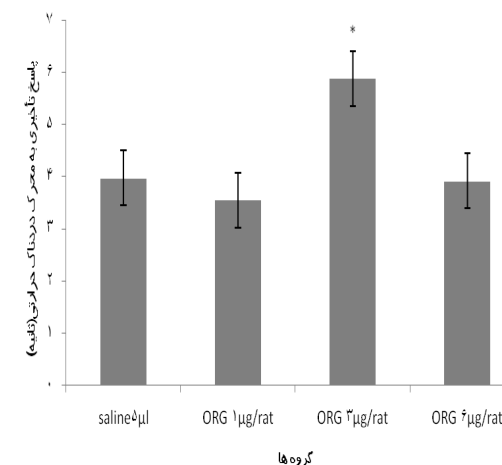


شکل ۲. مقایسه میانگین پاسخ تأخیری به محرک دردناک متعاقب تجویز داخل بطنی دوزهای مختلف عصاره آبی مرزنجوش با گروه کنترل در زمان ۶۰ دقیقه بعد از مداخله.

هر ستون نمایانگر میانگین \pm خطای معیار میانگین (Mean \pm SEM) پاسخ تأخیری به محرک دردناک در نتیجه تزریق داخل بطنی عصاره آبی مرزنجوش با دوزهای (۳ و ۶ $\mu\text{g}/\text{rat}$ و ۱ $\mu\text{g}/\text{rat}$) در آزمون Tail-Flick می‌باشد (n=۷).

* اثر ضد دردی عصاره مرزنجوش (۳ $\mu\text{g}/\text{rat}$) در مقایسه با گروه کنترل (نرمال سالین) در سطح $p < 0.05$ معنی‌دار است.

عصاره آبی مرزنجوش=ORG



شکل ۳. مقایسه میانگین پاسخ تأخیری به محرک دردناک متعاقب تجویز داخل بطنی دوزهای مختلف عصاره آبی مرزنجوش با گروه کنترل در زمان ۹۰ دقیقه بعد از مداخله.

کولیسی و همکاران گزارش نمودند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی مرزنجوش قابل مقایسه با آلفا توکفرول می‌باشد، اما اثر کمتری نسبت به اسید آسکوربیک دارد [۵]. این اثر به وجود تیمول و کارواکول (به ترتیب حدود ۳۲٪ و ۳۵٪) در محتوای آن مربوط است [۱۵]. اثرات ضددردی مرزنجوش احتمالاً ناشی از وجود ترکیبات فوق در عصاره آن است.

نتیجه گیری

به طور خلاصه نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده‌ی اثر ضددردی عصاره‌ی آبی مرزنجوش، به صورت وابسته به دوز، در آزمون Tail flick می‌باشد. مکانیسم این تداخل اثر به درستی مشخص نشده است. تحقیق حاضر می‌تواند زمینه‌ای جدید برای انجام مطالعات آینده ایجاد نماید.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از پرسنل محترم مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان و بخصوص ریاست مرکز جناب آقای دکتر وحید شیبانی به دلیل راهنمایی‌های ارزشمند و نیز در اختیار قرار دادن امکانات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می‌شود.

عصاره‌ی گیاه مرزنجوش را به صورت داخل صفاقی انجام داده بودند، ولی درباره اثر ضددردی تزریق داخل بطن مغزی عصاره مرزنجوش، با استفاده از دستگاه Tail flick تاکنون گزارشی منتشر نشده است. آیدین و همکاران وجود اثرات ضددردی در یکی از گونه‌های هم خانواده‌ی مرزنجوش (*Origanum onites*) را با استفاده از دستگاه Tail Flick در موش‌ها نشان دادند [۱۱]. همچنین این پژوهشگران اثر ضد دردی این گیاه را ناشی از کارواکول موجود در ترکیب آن دانستند [۱۱].

وگنر و همکاران نشان دادند که کارواکول دارای اثرات مهارکننده بر روی پروستاگلاندین‌ها می‌باشد [۱۲]. مطالعه نشان می‌دهد که پروستاگلاندین‌ها می‌توانند سیستم ضددردی وابسته به اپیوئیدهای اندوژن را بوسیله‌ی مهار جزء نورآدرنرژیک بولبواسپاینال در مسیر ضد دردی بلوکه کنند و مهار پروستاگلاندین‌ها موجب بیدردی می‌گردد [۱۳].

رودریگز و همکاران، نشان دادند که گیاه مرزنجوش سرشار از روزمارینگ اسید است [۱۴]. روکیتا و همکاران گزارش نموده‌اند که ترکیبات آنتی‌اکسیدان از جمله روزمارینگ اسید می‌توانند طیف وسیعی از اثرات از جمله اثر ضد دردی در مغز ایجاد نمایند [۴].

References

- 1- Gonzalez-Trujano ME, Pena EI, Martínez AL, Moreno J, Guevara L. Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol.* 2007 May; 111(3): 476-82.
- 2- Salah SM, Jager AK. Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. *J Ethnopharmacol.* 2005 Feb; 97(1): 145-49.
- 3- Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi MS, Ghorbani A. Labiatae family in folk medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *IJPR.* 2005 Oct; 2: 63-79.
- 4- Rokyta R, Holecek V, Pekarkova I. Free radicals after painful stimulation are influenced by antioxidants and analgesics. *Neuro Endocrinol Lett.* 2003 Oct; 24 (5): 304-9.
- 5- Kulisic T, RadonicA, Katalinic V, Milos M. Use of different methods for testing antioxidative activity of *oregano* essential oil. *Food Chem.* 2004 May; 85(4): 633-40.
- 6- Abbasnejad M, Mirtajadini M, Afarinesh MR, Hassibi N. Valuation of *Origanum vulgare* (leaves, stems and flowers) extract on spatial learning in male rats. *Physiol Pharmacol.* 2006 Summer; 10(2): 143-150.

- 7- Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 4th ed. San Diego: Academic Press; 1998.
- 8- Johnson MA, Tsutsui K, Fraley GS. Rat RFamide-related peptide-3 stimulates GH secretion, inhibits LH secretion, and has variable effects on sex behavior in the adult male rat. *Horm Behav*, 2007; 51(1): 171-80.
- 9- Bukovska A, Cikos S, Juhas S, Il'kova G, Rehak P, Koppel J. Effects of a combination of thyme and oregano essential oils on TNBS-induced colitis in mice. *Mediat, Inflamm*. 2007 Oct; 10: 23-29.
- 10- Arzi A, Nazari Khorasgani Z, Motahari M. The study of analgesic effect of *Origanum vulgare* hydroalcoholic extract of in rat by formalin test. 2009 may; 189. Available from: www.elsevier.com/locate/toxlet
- 11- Aydın S, Öztürk Y, Beis R, Baser KHC. Investigation of *Origanum onites*, *Sideritis congesta* and *Satureja cuneifolia* essential oils for analgesic activity. *Phytother Res*. 1996 Dec; 10(4): 342-44 .
- 12- Wagner H, Wierer M, Bauer R. In vitro hemmung der prostaglandin-biosynthese durch etherische ole und phenolische verbindungen. *Flanfa Med*. Full text in German. 1986; 53: 184-7.
- 13- Henman MC, Leach GDH, Naylor L. Production of prostaglandin-like materials by rat tail skin in response to injury. *Br J Pharmacol*. 1979 Jul; 66: 30-31.
- 14- Rodríguez-Meizoso FR, Marin M, Herrero FJ, Senoran S, Reglero A, Cifuentes E. Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano. Chemical and functional characterization. *J Pharm Biomed Anal*. 2006 Feb; 41(5): 1560-65.
- 15- Edris AE. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytother Res*. 2007 Apr; 21(4): 308-23.

Effect of Intracerebroventricular Injection of Aqueous Extract of *Origanum Vulgare L. ssp. viride* on Pain Threshold in Male Rats

Sepehri GR, PhD¹; Sheibani V, PhD²; Pahlavan Y, MSc³; Afarinesh Khaki MR, MSc⁴; Esmail Pour Bezenjani K, MSc⁵; Pahlavan B, MD⁶

¹ Prof. of Pharmacology Dept ² Associate Prof. of Physiology Dept., School of Medicine and Researcher of Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

³ Corresponding Author: MSc Student of Medical Physiology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. Email: Pahlavan2008@gmail.com E-mail:

⁴ PhD student of Medical Physiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran ⁵ MSc of Physiology, Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

⁶ Medicine Student, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

ABSTRACT

Background & objectives: *Origanum Vulgare* is an herbal plant which is widely distributed in the north and northwest parts of Iran and possesses therapeutic properties. The aim of this study was to evaluate the effect of intracerebroventricular (ICV) injection of aqueous extract of *Origanum Vulgare L. ssp. viride* on pain threshold in male rats.

Methods: In this study, 28 Male Wistar rats (200-250 g) were divided randomly into 4 groups (n=7). Rats were anaesthetized with a mixture of ketamine and xylazine and placed in stereotaxic apparatus. A guide cannula was inserted into ventricular area, according to the atlas of Paxinos and Watson. One week after surgery, three groups of rats received microinjection of *Origanum* extract (1, 3, 6µg/rat). Controls received the microinjection of the same volume of saline. Tail flick latency (TFL) was used to assess the nociceptive response each 15 min for 120 min, using tail flick test. The results were analyzed by repeated measurement test. One-way analysis of variance (ANOVA) was used to compare the mean values of quantitative variable among the groups. The data are expressed as mean ± SEM. $p < 0.05$ was considered significant.

Results: Intracerebroventricular administration of the *Origanum* extract resulted in significant and dose-dependent increase in TFL compared to controls ($p < 0.05$). *Origanum* extract at dose of 3µg/rat showed the highest analgesic response. The maximum analgesic response was observed at 60 min and 90 min post extract injection ($p < 0.05$).

Conclusion: These results suggest that the ICV injection of aqueous extract of *Origanum Vulgare* possesses dose-dependent antinociceptive activities in the tail flick test in rats.

Key words: *Origanum*; Intracerebroventricular Injection; Antinociceptive Activities; Tail-Flick Test