

بررسی اثر بی‌دردی تزریق درون بطن مغزی روغن سویا در موش سوری

دکتر محمد رضا جعفری^{*}، پوریا تبریزیان^{**}، فاطمه فکرمندی^{**}، سمانه عنصری^{**}

نویسنده‌ی مسئول: زنجان، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی Jafarimrj@yahoo.com

دریافت: ۸۵/۹/۲۱ پذیرش: ۸۵/۱۲/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: تحقیقات بسیاری در زمینه‌ی اثرات ضددرد حاصل از تجویز خوراکی یا تزریقی انواع روغن‌ها انجام شده است. یکی از این مطالعات نشان داده که تجویز خوراکی روغن سویا بر درد ناشی از سرطان استخوان اثر مفیدی داشته است. با توجه به گزارشات پیشین درمورد تأثیر بی‌دردی روغن سویا در تجویز محیطی و از آنجایی که در تحقیقات مختلف این روغن به عنوان حلال و یا در تهیه‌ی امولسیون برای مطالعه‌ی اثر ضددرد داروهای نامحلول در آب مورد استفاده قرار می‌گیرد، اثر ضددرد روغن سویا در تزریق درون بطن مغزی موش سوری مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: برای انجام این تحقیق از موش‌های سوری نر استفاده شده است. ابتدا موش‌ها استریوتاکس شده و یک کانال از جنس فولاد ضدزنگ در بطن راست مغزی حیوان قرار داده شد. پس از گذشت یک هفته از انجام جراحی بعد از تزریق سرم فیزیولوژی یا روغن سویا آزمایش درد با روش فرمالین در موش‌ها انجام گرفت و اثر ضددرد روغن سویا ارزیابی گردید. **یافته‌ها:** نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهند که تزریق روغن سویای خالص دارای اثر بی‌دردی است، اما در غلظت ۱۰ درصد فاقد اثر ضددرد می‌باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج مطالعات دیگر در رابطه با تأثیر ضددرد تجویز محیطی روغن سویا، همسو می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد برای تهیه‌ی امولسیون داروهای نامحلول در آب با روغن سویا و انجام مطالعات از حداقل غلظت این روغن استفاده شود.

واژگان کلیدی: روغن سویا، اثر بی‌دردی، اثر ضددرد، تست فرمالین، موش سوری

مقدمه

پیش از این تحقیقات بسیاری در زمینه‌ی اثرات حاصل از تجویز خوراکی یا تزریقی روغن‌ها صورت گرفته است. در این تحقیقات به اثر بی‌دردی تجویز خوراکی روغن‌های زیتون (*Evening primrose*) (۱)، سویا (*Glycine hispida*) (۲، ۳) و ذرت (*Zea mays*) (۴) اشاره شده است. هم‌چنین به اثر بی‌دردی روغن‌های

معطر، مانند روغن سیاه دانه (*Nigella sativa*) (۵)، نعناع (*Mentha piperata*) (۶)، کرچک هندی (*Croton sonderianus*) (۷)، زیره سیاه (*Carum carvi*) (۶)، زاتاریامولتی فلورا (*Zataria multiflora*) (۸)، ساتورجا هورتنسیس (*Satureja hortensis*) (۹، ۱۰) و آکوروس گرامینئوس (*Acorus gramineus*) (۱۱) اشاره گردیده است. اثرات دیگری

^{*} دکترای تخصصی فارماکولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان

^{**} دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

آزمایشات بر اساس روش‌های راهنمای پیشنهادی مؤسسه‌ی مراقبت و نگهداری حیوانات بود.

داروها: در این تحقیق برای بی‌هوش نمودن حیوان از مخلوط کتامین زایلازین استفاده شد. روغن سویا در دو غلظت ۱۰ و ۱۰۰ درصد تهیه گردید. برای تهیه‌ی غلظت ۱۰ درصد، از امولسیون روغن سویا و دی متیل سولفوکساید (DMSO) (۱ درصد) در نرمال سالین و نیز در گروه کنترل از محلول نرمال سالین استفاده گردید. روغن سویا، امولسیون روغن سویا و نرمال سالین در حجم ۵ میکرولیتر به صورت درون بطن مغزی تجویز شدند.

روش کانال‌گذاری و تزریق داخل بطن مغزی: موش‌ها با تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین (۱۰۰ میلی گرم برای هر کیلوگرم) و زایلازین (۲۰ میلی گرم برای هر کیلوگرم) بی‌هوش شدند و کانال استریل (سرسرنگ شماره‌ی ۲۳)، با استفاده از جراحی مغزی به روش استریوتاکس در بطن راست مغز موش‌ها قرار داده شد. برای پیدا کردن محل بطن جانبی از راهنمای استریوتاکس با مشخصات ۰/۹ میلی متر پشت نقطه‌ی برگما و ۱/۴ میلی متر به طرف راست از خط وسط و ۲ میلی متر به پایین از سطح جمجمه در حالی که جمجمه در حالت مسطح قرار گرفته بود، استفاده شد. کانال‌ها به وسیله‌ی سیمان دندانپزشکی بر روی جمجمه جایگذاری و محکم شدند. موش‌ها حداقل برای یک هفته، جهت استراحت و بازگشت به حالت اولیه و رفع تأثیر جراحی انجام شده و داروی مورد استفاده در جراحی نگهداری شدند. داروها از طریق سرنگ هاملتون همراه با لوله‌ی منعطف پلی اتیلنی و یک کانال تزریق از جنس استیل زنگ نزن (سرسرنگ دندانپزشکی شماره‌ی ۳۰)، که در زمان تزریق به میزان ۱ میلی متر پایین تر از کانال راهنما قرار می گرفت، تزریق شدند. **ثبت اثر ضد درد:** حیوانات برای مأنوس شدن با محیط آزمایشگاه حداقل ۳۰ دقیقه قبل از تزریق در شرایط آزمایشگاه قرار می گرفتند. ۲۵ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد به صورت

هم‌چون اثرات ضدالتهابی در روغن‌های سیاه دانه (*Nigella sativa*) (۵، ۲)، کرچک هندی (*Croton sonderianus*) (۹، ۸)، ساتورجا هورتنسیس (*Satureja hortensis*) (۱۰، ۹)، زیره‌ی سیاه (*Acorus gramineus*) (۱۱)، لاواندولا آنگوستی فولیسا (*Lavandula angustifolia*) (۱۲) و کارپوتروچه برازیلیانسیس (*Carpotroche brasiliensis*) (۱۳) مشاهده شده است. هم‌چنین، مطالعات نشان داده‌اند که مصرف روغن سویا به صورت خوراکی در ترکیب با روغن آفتابگردان و چربی خوک از طریق افزایش آستانه‌ی درد، اثر ضددرد داشته است (۲). از طرف دیگر تجویز خوراکی روغن سویا بر کاهش درد ناشی از سرطان استخوان مؤثر بوده و در مقالات به عنوان جایگزین مناسب برای اپیوئیدها پیشنهاد شده است (۳).

با توجه به شباهت ساختاری روغن سویا با دیگر روغن‌های ثابت و از آنجایی که این روغن به عنوان حلال و یا جهت تهیه‌ی امولسیون برای مطالعه‌ی اثر ضددرد داروهای نامحلول در آب مورد استفاده قرار می گیرد، بر آن شدیم تا اثر بی‌دردی روغن سویا را در تزریق درون بطن مغزی موش سوری بررسی نماییم. هدف ما از این پژوهش که برای اولین بار صورت گرفته، پاسخ به این سؤال بود که آیا تزریق درون بطن مغزی روغن سویا بی‌اثر یا واجد اثر بی‌دردی است.

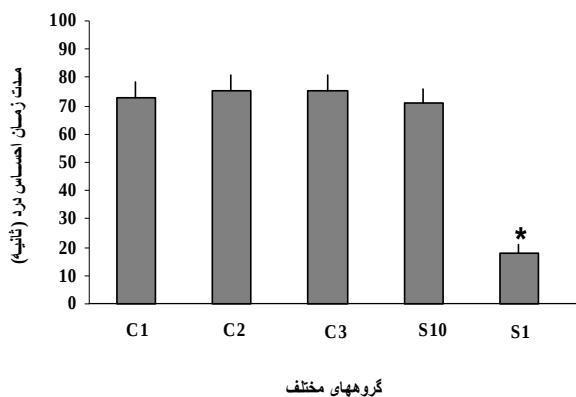
روش بررسی

در این تحقیق تجربی که در دانشگاه علوم پزشکی زنجان در سال ۱۳۸۵ انجام شد، از موش‌های سوری نر آلبینوزاد ان - ماری (Naval Medical Research Institute [NMRI]) با وزن بین ۲۰/۸ تا ۲۹/۶ گرم استفاده شد. حیوانات در گروه‌های ۷ تایی در قفس‌های پلکسی‌گلاس (plexiglass) در سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی، دمای متوسط 20 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شده و خوراک استاندارد دریافت می کردند. از هر حیوان یک بار در آزمایش استفاده شد و تمام

استفاده گردید. $P < 0/05$ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از این تحقیق در دو شکل ۱ و ۲ آمده است. شکل ۱ نشان دهنده‌ی تأثیر ضددرد در مرحله‌ی اول (فاصله‌ی زمانی بعد از تزریق فرمالین تا دقیقه‌ی ۵) و شکل ۲ نمایشگر تأثیر ضددرد در مرحله‌ی دوم (فاصله‌ی زمانی دقیقه‌ی ۱۵ بعد از تزریق فرمالین تا دقیقه‌ی ۵۰) می‌باشد. شکل‌های ۱ و ۲ نشان می‌دهند که انجام عمل جراحی استریوتاکس و کانون‌گذاری در بطن مغزی حیوان تأثیری بر درد و احساس درد به روش فرمالین نداشته است ($P > 0/05$). هم‌چنین تزریق سرم فیزیولوژی در بطن مغز موش‌ها نیز هیچ‌گونه تأثیر ضددرد نشان نداده است ($P > 0/05$). تزریق روغن سویای ۱۰ درصد موجب اثر ضددرد نشده است ($P > 0/05$), اما تزریق روغن سویای خالص موجب ایجاد اثر ضددرد در موش شده است ($P < 0/05$).



شکل ۱: تأثیر تزریق درون بطن مغزی روغن سویا در مرحله‌ی ۱ (۵ دقیقه‌ی اول پس از تزریق فرمالین به کف پای موش) ثبت اثر ضددرد. هر ستون بیان‌گر میانگین و خطای استاندارد حاصل از داده‌های ۷ حیوان در هر گروه می‌باشد.

زیرپوستی در کف پای راست موش‌ها با سرنگ انسولین (سرسوزن شماره‌ی ۲۶) تزریق گردید. بلافاصله بعد از تزریق فرمالین، حیوانات تک‌تک در محفظه‌های استوانه‌ای از جنس پلاستیک (۲۰ سانتی‌متر قطر و ۲۵ سانتی‌متر ارتفاع) روی سطح شیشه‌ای تخت قرار گرفتند. در زیر شیشه‌ی ذکر شده آینه‌ای با زاویه‌ی ۴۵ درجه برای مشاهده‌ی واضح پاسخ به درد حیوان قرار گرفته بود. پاسخ به درد بلافاصله پس از تزریق فرمالین برای مدت ۵۰ دقیقه ثبت گردید. لیسیدن یا جوییدن پا نشانه‌ی پاسخ به درد در حیوان در نظر گرفته شد. بررسی پاسخ به درد در ۵ دقیقه‌ی اول بعد از تزریق (مرحله‌ی ۱) و فاصله‌ی بین ۱۵ دقیقه‌ی بعد از تزریق تا ۵۰ دقیقه‌ی بعد از آن (مرحله‌ی ۲) صورت گرفت.

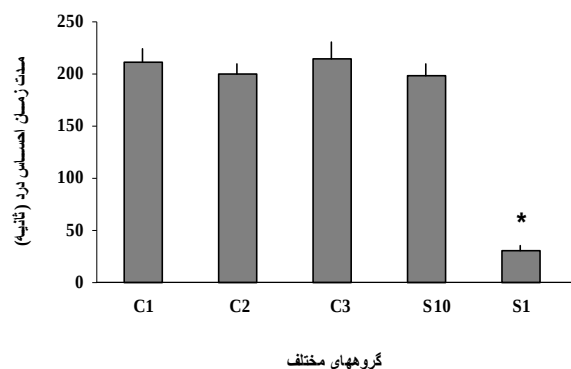
برنامه‌ی تجویز روغن سویا در گروه‌های مختلف: در گروه C1 (گروه شاهد شماره‌ی ۱)، هیچ‌گونه عمل جراحی و تزریقی انجام نشد. فقط تست فرمالین بر روی کف پای حیوان انجام شد. در گروه C2، حیوانات تحت عمل جراحی به روش استاندارد قرار گرفتند ولی هیچ تزریقی صورت نگرفت. این آزمایش جهت رد تأثیر درد القایی توسط جراحی و اثرات جانبی ناشی از آن در نتایج انجام گردید و سپس تست فرمالین بر روی کف پای حیوان انجام شد. در گروه C3، موش‌ها به روش استاندارد و تحت شرایط تعریف شده جراحی شدند. میزان ۵ میکرولیتر نرمال سالین تزریق گردید و ده دقیقه بعد، تست فرمالین بر روی کف پای حیوان انجام شد. در گروه‌های S10 و S100 روغن سویا با دو غلظت ۱۰ و ۱۰۰ درصد به صورت داخل بطن مغزی با حجم ۵ میکرولیتر تزریق گردید و ده دقیقه بعد تست فرمالین بر روی کف پای حیوان انجام شد.

روش‌های آماری: برای بررسی اثر ضددرد از آنالیز واریانس یک‌طرفه‌ی آنووا (ANOVA) و آزمون Newman-keuls

(فرار) نظیر روغن های فرار سیاه دانه (*Nigella sativa*) (۵)، نعناع (*Mentha piperata*) (۶)، کرچک هندی (*Croton sonderianus*) (۸، ۹)، زیره سیاه (*Carum carvi*) (۶)، زاتاریا مولتی فلورا (*Zataria multiflora*) (۸)، مرزه (*Satureia hortensis*) و آکورووس گرامینثوس (*Acorus gramineus*) (۱۱) اشاره شده است. هم چنین در یک مطالعه به اثر ضد درد ناشی از روغن های امگا ۳ از طریق کاهش دفعات ایجاد ترومبوسیتوز و درد در بیماران آنمی داسی شکل اشاره گردیده است (۱۵). در مطالعات دیگری به اثرات کاهش درد ناشی از مصرف روغن های حاوی امگا ۳ و کاهش سفتی صبحگاهی مفاصل در بیماران مبتلا به آرتريت روماتوئید اشاره شده است (۱۶، ۱۷). مکانیسم احتمالی اثر روغن های امگا ۳ مهار متابولیت های آراشیدونیک اسید به ویژه مسیر ۵ لیپواکسیژناز و تولید لکوترین B4 پیشنهاد شده است. روغن های امگا ۶ موجود در ذرت (*Zea mays*) اثراتی مشابه روغن های حاوی امگا ۳ نشان داده اند (۱۷). هم چنین در مطالعه ای به اثر ضد دودی حاصل از الانتولیک اسید با مکانیسم احتمالی مشابه اپیوئیدها اشاره شده است (۱۸). با توجه به نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر و مطالعات ذکر شده می توان احتمال داد که روغن سویا نیز با مکانیسمی مشابه با دیگر روغن ها عمل کرده و به علت ساختار لیپیدی و سهولت عبور از سد خونی- مغزی و غشاهای سلولی و تبدیل به متابولیت های مهاری، اثر ضد درد ایجاد نماید. البته بحث در مورد سایر مکانیسم های احتمالی نیازمند مطالعات بیشتری در این زمینه است.

نتیجه گیری

با توجه به این که تزریق درون بطن مغزی روغن سویای خالص، در موش سوری سبب ایجاد اثر ضد درد می شود و هم چنین با توجه به این که روغن سویا به عنوان حلال در برخی مطالعات ضد درد به کار می رود،



شکل ۲: تأثیر تزریق درون بطن مغزی روغن سویا در مرحله ۲ (دقیقه ۱۵ تا دقیقه ۵۰ پس از تزریق فرمالین به کف پای موش) ثبت اثر ضد درد. هر ستون بیان گر میانگین و خطای استاندارد حاصل از داده های ۷ حیوان در هر گروه می باشد.

بحث

نتایج این پژوهش نشان می دهد که تزریق روغن سویای خالص در بطن مغزی موش سوری دارای اثر ضد درد است، اما تزریق داخل بطن مغزی روغن سویای ۱۰ درصد فاقد هر گونه اثر بی ددی می باشد. بررسی نتایج دیگر مقالات نشان می دهد که تجویز خوراکی روغن سویا در ترکیب با روغن آفتابگردان (*Helianthus annuus*) و چربی خوک دارای اثر ضد درد با مکانیسم افزایش آستانه ی درد بوده است (۲). هم چنین روغن سویا به عنوان جایگزین مناسب برای اپیوئیدها در کاربردهای بالینی پیشنهاد شده است (۳). در مطالعه ی دیگری بر اثر ضد درد حاصل از روغن زیتون (*Olea europaea*) اشاره شده است. مقادیر زیاد اسید الئیک (روغن اشباع امگا ۹) موجود در روغن زیتون، می تواند به ایکوزاتریوتیک اسید تبدیل شود که خود به لکوترین A3 تبدیل می شود که این ماده به عنوان یک مهارکننده ی قوی سنتز لکوترین به حساب می آید (۱۹). هم چنین در مطالعه ای دیگر بر اثر ضد درد روغن ذرت (*Zea mays*) اشاره گردیده است (۴). از طرف دیگر در مطالعات متعدد دیگری به اثرات ضد درد روغن های معطر

علوم پزشکی زنجان می‌باشد که هزینه‌ی آن توسط معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تأمین گردیده است. در پایان لازم می‌دانیم مراتب قدردانی خود را از آن معاونت محترم به جهت فراهم آوردن شرایط لازم برای انجام این پژوهش اعلام داریم.

باید این نکته را در نظر گرفت که روغن سویا در غلظت‌های بالای خود واجد اثرات ضددرد است و به عنوان حلال بی‌اثر عمل نمی‌کند. اما امولسیون‌هایی از این روغن با درصد پایین‌تر از روغن سویا اثر ضددردی القا نمی‌کنند.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه

منابع

- 1- Brzeski M, Madhok R, Capell HA. Evening primrose oil in patients with rheumatoid arthritis and side-effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Br J Rheumatol.** 1991; 30: 370- 2.
- 2- Yehuda S, Carasso RL. Effects of dietary fats on learning, pain threshold, thermoregulation and motor activity in rats: interaction with the length of feeding period. **Int J Neurosci.** 1987; 32: 919- 25.
- 3- Zhao C, Wacnik PW, Tall JM, et al. Analgesic effects of a soy-containing diet in three murine bone cancer pain models. **J Pain.** 2004; 5: 104- 10.
- 4- Frye CA, Cuevas CA, Kanarek RB. Diet and estrous cycle influence pain sensitivity in rats. **Pharmacol Biochem Behav.** 1993; 45: 255- 60.
- 5- Ghannadi A, Hajhashemi V, Jafarabadi H. An investigation of the analgesic and anti-inflammatory effects of Nigella sativa seed polyphenols. **J Med Food.** 2005; 8: 488- 93.
- 6- Adam B, Liebrechts T, Best J, et al. Combination of peppermint oil and caraway oil attenuates the post-inflammatory visceral hyperalgesia in a rat model. **Scand J Gastroenterol.** 2006; 41: 155-60.
- 7- Santos FA, Jeferson FA, Santos CC, Silveira ER, Rao VS. Antinociceptive effect of leaf essential oil from croton sonderianus in mice. **Life Sci.** 2005; 77: 2953- 63.
- 8- Jaffary F, Ghannadi A, Siahpoush A. Antinociceptive effects of hydroalcoholic extract and essential oil of Zataria multiflora. **Fitoterapia.** 2004; 75: 217- 20.
- 9- Hajhashemi V, Ghannadi A, Pezeshkian SK. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Satureia hortensis L. extracts and essential oil. **J Ethnopharmacol.** 2002; 82: 83- 7.
- 10- Hajhashemi V, Ghannadi A, Pezeshkian SK. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Satureia hortensis L. extracts and essential oil. **J Ethnopharmacol.** 2002; 82: 83- 7.
- 11- Cho J, Kong JY, Jeong DY, Lee KD, Lee DU, Kang BS. NMDA receptor-mediated neuroprotection by essential oils from the rhizomes of Acorus gramineus. **Life Sci.** 2001; 68: 1567- 73.

- 12- Hajhashemi V, Ghannadi A, Sharif B. Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. *J Ethnopharmacol.* 2003; 89: 67- 71.
- 13- Lima JA, Oliveira AS, de Miranda AL, Rezende CM, Pinto AC. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of an acid fraction of the seeds of *Carpotroche brasiliensis* (Raddi) (Flacourtiaceae). *Braz J Med Biol Res.* 2005; 38: 1095- 103.
- 14- Berbert AA, Kondo CR, Almendra CL, Matsuo T, Dichi I. Supplementation of fish oil and olive oil in patients with rheumatoid arthritis. *Nutrition.* 2005; 21: 131- 6.
- 15- Tomer A, Kasey S, Connor WE, Clark S, Harker LA, Eckman JR. Reduction of pain episodes and prothrombotic activity in sickle cell disease by dietary n-3 fatty acids. *Thromb Haemost.* 2001; 85: 966- 74.
- 16- Geusens P, Wouters C, Nijs J, Jiang Y, Dequeker J. Long-term effect of omega-3 fatty acid supplementation in active rheumatoid arthritis. A 12-month, double-blind, controlled study. *Arthritis Rheum.* 1994; 37: 824- 9.
- 17- Perez J, Ware MA, Chevalier S, Gougeon R, Shir Y. Dietary omega-3 fatty acids may be associated with increased neuropathic pain in nerve-injured rats. *Anesth Analg.* 2005; 101: 444- 8.
- 18- Maia JL, Lima-Junior RC, David JP, David JM, Santos FA, Rao VS. Oleanolic Acid, a pentacyclic triterpene attenuates the mustard oil-induced colonic nociception in mice. *Biol Pharm Bull.* 2006; 29: 82- 5