تداخل اثر سیستم هیستامینرژیک و عصاره آبی زرشک بر درد ناشی از فرمالین در موش‌های صحرایی نر

- **علی مجتهدین***: بخش فیزیولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
- **میترا قلی‌زاده‌نیک‌پی**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
- **شاهین حاجی‌قهرمانی**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: آذر ١٣٩٦ تاریخ پذیرش: اسفند ١٣٩٦

چکیده

میوه زرشک (*Berberis vulgaris* L.) در طب سنتی ایران به‌عنوان یک ماده تسکین دهنده درد معرفی شده است. این پژوهش با هدف بررسی تداخل اثر سیستم هیستامینرژیک و عصارهٔ آبی گیاه زرشک بر درد ناشی از فرمالین در موش‌های صحرایی انجام شد. تعداد ٤٨ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ٢٥٠-٢٢٠ گرم و در گروه‌های ٦ تایی شامل: گروه شاهد (سالین نرمال+ تزریق کف‌پایی فرمالین ١٪)، ٣ گروه تیمار با عصاره آبی زرشک (٧٥، ١٥٠ و ٣٠٠ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن)، گروه تیمار با پیریلامین، آنتاگونیست H1 هیستامینی، (١٠ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن) به‌تنهایی، گروه پیش تیمار با پیریلامین (١٠ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن) + عصاره آبی زرشک (٣٠٠ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن)، گروه تیمار با فاموتیدین، آنتاگونیست H2 هیستامینی (٢٠میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن) به‌تنهایی، گروه پیش تیمار با فاموتیدین (٢٠میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن) + عصاره آبی زرشک (٣٠٠ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن) استفاده شدند. برای ارزیابی درد از آزمون فرمالین و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه و سپس آزمون تکمیلی دانکن استفاده شد. تزریق داخل صفاقی عصاره آبی زرشک موجب کاهش معنی‌دار ($p<0/05$) پاسخ درد در مرحله دوم درد فرمالینی گردید. پیش تزریق پیریلامین و فاموتیدین و سپس عصاره آبی زرشک موجب تقویت پاسخ ضد دردی عصاره آبی زرشک در مرحله دوم درد فرمالینی گردید ($p<0/05$). نتایج نشان داد که عصاره آبی زرشک احتمالاً با تقویت قدرت کاهش دهندگی درد توسط آنتاگونیست‌های هیستامینی به‌ویژه آنتاگونیست گیرنده H1، اثرات ضددردی خود را اعمال نموده است.

کلمات کلیدی: درد فرمالینی، عصاره آبی زرشک، سیستم هیستامینرژیک (گیرنده H1 و H2)، موش صحرایی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: a_mojtahedin@uma.ac.ir

مقدمه

درد یک حس نامطلوب است که تحت تأثیر دامنه وسیعی از عوامل به‌وجود می‌آید. این حس مکانیسم دفاعی بدن است که هر زمان بافتی دچار آسیب شود فرد را وادار می‌سازد که از خود واکنش نشان دهد و محرک مولد درد را از میان بردارد (طاهریانفرد و همکاران، ۱۳۸۸). درد به‌دلایل گوناگون، مثلاً تحت تأثیر حرارت آسیب‌رسان، ضربه، پارگی، کشیدگی، جریان الکتریکی، نکروز، التهاب و اسپاسم به‌وجود می‌آید (نصری، ۱۳۹۱). به‌طورکلی درد به دو نوع عمده دسته‌بندی شده است: درد تند و درد کند. درد تند، حدود یک‌دهم ثانیه بعد از اثر محرک درد حس می‌شود، درحالی‌که درد کند بعد از یک ثانیه حس می‌گردد و سپس به آهستگی طی چند ثانیه و گاهی حتی دقایقی بعد افزایش می‌یابد. درد با انواع متعددی از محرک‌ها ایجاد می‌شود که به‌عنوان محرک‌های درد مکانیکی، حرارتی و شیمیایی دسته‌بندی می‌شوند. به‌طورکلی درد تند با محرک‌های مکانیکی و حرارتی برانگیخته می‌شود، درحالی‌که درد کند را هر سه محرک می‌توانند برانگیزند. برخی از محرک‌های شیمیایی که نوع شیمیایی درد را تحریک می‌کنند عبارتند از: برادی‌کینین، سروتونین، هیستامین، پتاسیم، یون‌ها، اسیدها، استیل‌کولین و پروتئولیتیک‌ها که حساسیت انتهاهای فیبرهای درد را افزایش می‌دهند ولی به‌طور مستقیم آن‌ها را تحریک نمی‌کنند (گایتون، ۲۰۱۶). هیستامین توسط انواع مختلف سلول‌های بدن شامل سلول‌های ماست، بازوفیل‌ها، پلاکت‌ها، سلول‌های شبه آنتروکرومافین، سلول‌های آندوتلیال و نورون‌ها ساخته می‌شود و در اعمال فیزیولوژیک و پاتولوژیک مختلف مثل انقباض عضله صاف، افزایش نفوذپذیری عروق، تحریک ترشح اسید از معده، انتقال عصبی، آلرژی و واکنش‌های التهابی شرکت می‌کند. هیستامین فیبرهای عصبی منتقل‌کننده درد را تحریک می‌کند و موجب آزاد شدن نوروپپتیدهای مربوط به درد می‌شود و در هنگام تزریق به پوست خارش و درد ایجاد می‌کند (تمدن‌فرد و عرفان پرست، ۱۳۸۸). تاکنون ۴ گیرنده متفاوت برای هیستامین شناسایی شده، که به‌نام‌های گیرنده‌های H_1، H_2، H_3 و H_4 هیستامینی نامیده شده‌اند. تعداد گیرنده‌های هیستامین در سیستم عصبی تنوع زیادی دارند و مکانیسم اثر آن نیز متفاوت است، امّا هیستامین در سطح سلول‌های هدف بافت مغز پستانداران بیش‌تر از طریق تحریک دو نوع گیرنده‌های (H_1 و H_2) که به‌ترتیب از cAMP و یون کلسیم به‌عنوان پیام‌بر ثانویه استفاده می‌کند، عمل می‌نماید. هم‌چنین مشخص شده است که هیستامین میزان آزاد شدن خود را در بافت مغز کنترل می‌کند و این عمل را از طریق گیرندهای H_3 هیستامینی نشان می‌دهد، که از نظر فارماکولوژیکی با دو نوع رسپتور H_1 و H_2 متفاوت است (قوجق و صفری، ۱۳۸۱). تاکنون مطالعات مختلف، مسیرهای انتقال درد در دستگاه عصبی را تا حدود زیادی روشن کرده است و امروزه این مسیرها و نیز نوروترنس‌میترهای دخیل در آن‌ها نسبتاً شناخته شده هستند. از نظر تشریحی، مسیر انتقال درد به سه بخش محیطی، نخاعی و مسیرهای فوق نخاعی تقسیم می‌شوند. داروهای مورد استفاده در کاهش درد معمولاً یک یا چند بخش از این مسیرها را هدف قرار داده و آن‌ها را مهار می‌کنند (اربابیان و همکاران، ۱۳۸۸). در حال حاضر داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی (NSAIDs: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs)، اوپیوئیدها، گاباپنتینوئیدها (پره گابالین و گاباپنتین) هم‌چنان خط اول درمانی دردها هستند. متأسفانه این داروهای مرسوم اغلب منجر به عوارض جانبی نامطلوب می‌شوند که در نهایت استفاده از آن‌ها را محدود می‌کند (Zhou و همکاران، ۲۰۱۷). ازجمله این عوارض می‌توان تحمل و کاهش اثر دارو، اعتیاد، افزایش حساسیت به درد، اختلالات شناختی، تغییرات هورمونی و اختلال در سیستم ایمنی را ذکر کرد. این عوارض جدی و قابل‌توجه باعث شده تا در بسیاری از بخش‌های جامعه تمرکز بر درد در حال افزایش باشد (Sjogren و همکاران، ۲۰۰۰؛ Sjogren و Hojsted، ۲۰۰۷). با توجه به این عوارض، همواره محققان در پی یافتن داروهای جدید در زمینه کاهش درد هستند تا عوارض کم‌تری نسبت به داروهای موجود داشته باشند. بنابراین امروزه توجه محققان بسیاری به گیاهان دارویی معطوف شده است. در این ارتباط طب سنتی و گیاهان دارویی منبع مناسبی جهت یافتن داروهای ضددرد می‌باشد (روغنی و همکاران، ۱۳۸۹). ایران با توجه به تنوع آب و هوایی و پوشش گیاهی غنی، به‌ویژه گیاهان دارویی، تاریخ طولانی در استفاده از طب سنتی را به‌خود اختصاص داده است (Changizi-Ashtiyani و همکاران، ۲۰۱۳). بسیاری از گیاهان علفی علاوه بر خواص‌دارویی‌دارای یک‌سری اثرات بیولوژیکی هستند. آن‌ها ترکیباتی با خواص متعدد از قبیل کاهش دهندگی چربی خون، کاهش دهندگی قند خون، آنتی‌اکسیدان و خصوصیات محافظت کبدی را دارا می‌باشند که در سطوح مختلف مورد آنالیز قرار گرفته‌اند. یکی از این گیاهان زرشک نام دارد. زرشک از خانواده Berberidacea در اروپا و آسیا رشد می‌کند و نقش برجسته‌ای را به‌عنوان داروی گیاهی در طب سنتی ایفا کرده و در طب سنتی شرق و غرب استفاده زیادی از آن شده است (Abd El-Wahab و همکاران، ۲۰۱۳؛ Zarei و همکاران، ۲۰۱۵). میوه زرشک هم‌چنین به‌عنوان غذا استفاده می‌شود (Khosrokhavar و همکاران، ۲۰۱۰). مصریان باستان از زرشک برای درمان تب استفاده می‌کرده‌اند. اروپاییان از آن در درمان بیماری‌های کبد و کیسه صفرا استفاده می کردند. در روسیه از آن به‌عنوان داروی گیاهی در بیماری‌های التهابی، فشار خون بالا و خونریزی

غیرطبیعی رحم استفاده می‌کنند. در ایران و هند استفاده از آن به ۳۰۰۰ سال قبل برمی‌گردد (Souri و همکاران، ۲۰۰۴). امروزه عموماً از پوست، ساقه و ریشه زرشک به‌عنوان دارو به‌طور گسترده‌ای برای مبارزه با عفونت گلو، مجاری ادراری، دستگاه گوارش، ریه‌ها، عفونت قارچی و اسهال استفاده می‌شود (Arayne و همکاران، ۲۰۰۷). درتحقیقات اخیر به اثرات ضد دردی زرشک اشاره شده است (Hosseini و Mirazi، ۲۰۱۳؛ Mohebali و همکاران، ۲۰۱۱). با توجه به تحقیقات صورت گرفته در رابطه با اثرات مختلف زرشک و بررسی اندک اثرات ضد دردی زرشک در این مطالعات به‌خصوص در ارتباط با سیستم نوروترنسمیتری هیستامینرژیک، هدف از تحقیق حاضر بررسی تداخل اثر سیستم هیستامینرژیک و عصارهٔ آبی گیاه زرشک بر درد ناشی از فرمالین در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در این مطالعه تجربی از ۴۸ سر موش صحرایی نر بالغ و سالم نژاد ویستار و با وزن بین ۲۵۰-۲۰۰ گرم و محدوده سنی ۱۶ تا ۱۸ هفته استفاده گردید. حیوانات در اتاق پرورش و نگه‌داری مخصوص حیوانات آزمایشگاهی در شرایط استاندارد در قفس‌های مخصوص در گروه‌های ۶ تایی و با درجه حرارت ۲۳-۲۰ درجه سانتی‌گراد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعت (زمان شروع روشنایی ۷ صبح و زمان خاموشی ۷ شب) قرار گرفتند. غذای پلتی استاندارد و آب به‌صورت آزادانه در اختیار حیوانات قرار گرفت. کلیه آزمایش‌ها روی حیوانات با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

داروها: ۱- سالین نرمال که به‌عنوان حلال و رقیق‌کننده داروها و عصاره مورد استفاده قرار گرفت. ۲- فرمالین ۳۷٪ (مرک-آلمان)، ۳- میوه زرشک (تهیه شده از بازار همدان). ۴-پیریلامین (آنتاگونیست گیرنده H_1 هیستامینی) تهیه‌شده از شرکت سیگما آلدریچ آلمان، ۵- فاموتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2 هیستامینی) تهیه‌شده از شرکت سیگما آلدریچ آلمان.

عصاره‌گیری: میوه زرشک پس از تهیه از بازار همدان و شناسایی تاکسونومیکی توسط آزمایشگاه گیاه شناسی سازمان جهاد کشاورزی استان همدان، خشک شده و آسیاب گردید. سپس از پودر به‌دست آمده به‌روش جوشاندن، عصاره آبی گرفته شد (اربابیان و همکاران، ۱۳۸۸). برای این منظور ۱۰۰ گرم از پودر خشک شده در بالن شیشه‌ای به حجم ۲ لیتر ریخته شد و به آن ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه‌شده و برای مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه‌سانتی‌گراد جوشانده شد. سپس محلول رویی از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد. محلول به‌دست آمده در پلیت‌های شیشه‌ای گسترده شده و اجازه داده شد در دمای آزمایشگاه به‌آرامی خشک گردد. عصاره به‌جا مانده جمع‌آوری شده و تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگه‌داری شد. از سالین نرمال برای حل نمودن عصاره استفاده گردید.

گروه‌های آزمایشی: در این پژوهش گروه‌های آزمایشی در ۸ گروه قرار گرفتند که شامل:

۱) گروه ۱ (گروه شاهد) دریافت‌کننده سالین نرمال به‌صورت تزریق داخل صفاقی و ۳۰ دقیقه بعد تزریق کف‌پایی فرمالین ۱٪ (Mojtahedin و همکاران، ۲۰۰۸).

۲) گروه ۲ دریافت‌کننده پیریلامین (آنتاگونیست گیرنده H_1 هیستامینی) به‌مقدار ۱۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت تزریق داخل صفاقی و ۳۰ دقیقه بعد تزریق کف‌پایی فرمالین ۱٪ (Mojtahedin و همکاران، ۲۰۰۸).

۳) گروه ۳ دریافت‌کننده فاموتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2 هیستامینی) به مقدار ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و به‌صورت تزریق داخل صفاقی و ۳۰ دقیقه تزریق کف‌پایی فرمالین ۱٪ (Mojtahedin و همکاران، ۲۰۰۸).

۴) گروه‌های ۴ و ۵ و ۶ به‌ترتیب دریافت‌کننده مقادیر مختلف عصاره آبی زرشک به‌مقدار (۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت تزریق داخل صفاقی و ۳۰ دقیقه بعد تزریق کف‌پایی فرمالین ۱٪ .

۵) گروه ۷ دریافت‌کننده پیش تزریق پیریلامین (۱۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت تزریق داخل صفاقی و ۲۰ دقیقه بعد تزریق داخل صفاقی عصاره آبی زرشک به مقدار (۳۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن) و ۲۰دقیقه بعد تزریق کف‌پایی فرمالین ۱ ٪ .

۶) گروه ۸ دریافت‌کننده پیش تزریق فاموتیدین (۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت تزریق داخل صفاقی و ۲۰ دقیقه بعد تزریق داخل صفاقی عصاره آبی زرشک (۳۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن) و ۲۰ دقیقه بعد تزریق کف‌پایی فرمالین ۱٪ .

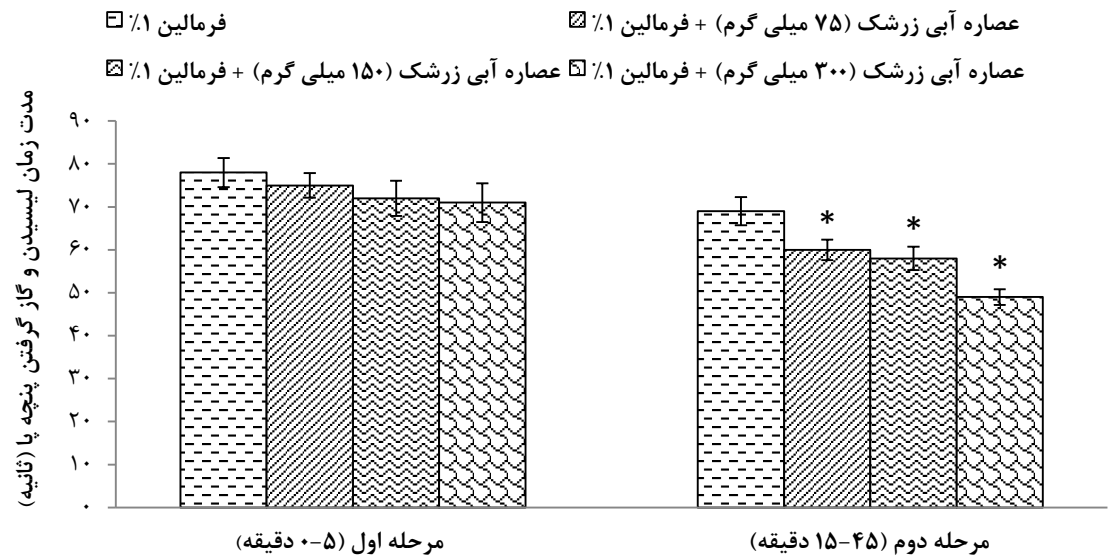
روش بررسی و ایجاد درد فرمالینی: آزمون فرمالین یک روش ارزشمند و مدل مناسب برای سنجش و ارزیابی درد مداوم و پایدار ناشی از یک محرک شیمیایی می‌باشد و از سوی دیگر می‌توان اثرات درد حاد را نیز در طی مرحله اول این آزمون بررسی کرد. در این آزمون به‌منظور مشاهده و بررسی رفتارهای حیوان، از یک محفظه شفاف با کف مسطح، به ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ و از جنس پلاکسی گلاس استفاده شد (اژدری‌زرمهری و همکاران، ۱۳۹۱). در داخل محفظه برای مشاهده پنجه پای حیوان یک آیینه با زاویه ۴۵ درجه قرار داده شد. طرز قرارگرفتن آینه باعث مشاهده رفتارهای حیوان، متعاقب

تزریق کف‌پایی فرمالین، از آینه می‌شود. حیوانات سه روز متوالی و هر روز ۳۰ دقیقه در دستگاه آینه درد قرار داده شدند. این عمل به منظور سازگاری حیوانات با روش کار و کاهش عوامل استرس‌زا انجام شد. در روز سوم پس از سازگاری، ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۱٪ به‌صورت زیرجلدی به کف پای راست حیوان تزریق شد. تزریق فرمالین باعث ایجاد رفتار درد به‌صورت لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده می‌گردد (Mojtahedin، ۲۰۱۶). مدت‌زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه‌ی پای تزریق‌شده توسط حیوان در فواصل زمانی ۵ دقیقه‌ای به‌صورت مشاهده‌ای به‌مدت یک ساعت به‌وسیله کرونومتر محاسبه شد. تزریق داروها نیم الی یک ساعت قبل از تزریق کف‌پایی فرمالین، به‌صورت داخل صفاقی صورت گرفت.

داده‌های حاصل از این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی، با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال $P< ۰/۰۵$ انجام شد. نمودارها با نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۰ رسم شدند و داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان گردید.

نتایج

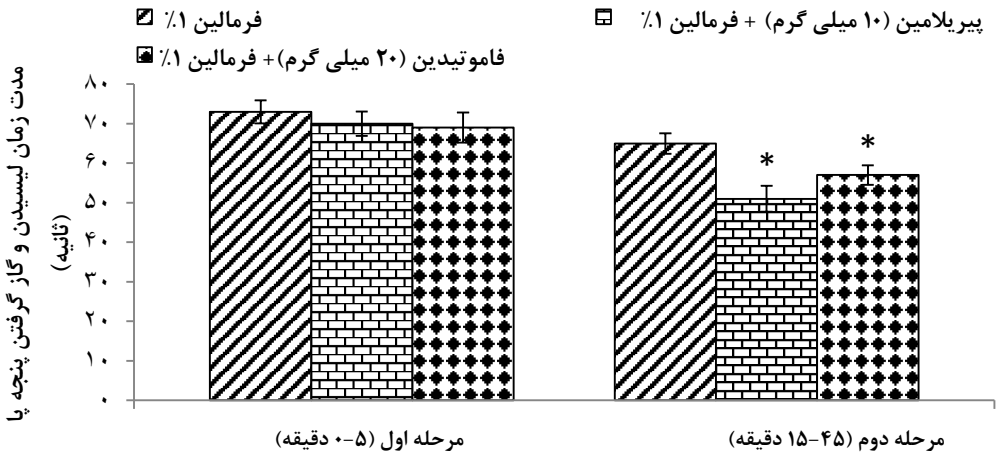
در تحقیق حاضر تزریق کف‌پایی فرمالین ۱٪ باعث بروز پاسخ درد دو مرحله‌ای، مرحله اول (۰-۵ دقیقه) و مرحله دوم (۴۵-۱۵ دقیقه) پس از تزریق در حیوانات گردید. تزریق داخل صفاقی عصاره آبی زرشک در مقادیر ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم به‌ازای کیلوگرم وزن بدن بدون تأثیر بر مرحله اول، به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) موجب کاهش پاسخ درد در مرحله دوم درد فرمالینی گردید به‌طوری‌که مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم به‌ازای کیلوگرم وزن بدن از عصاره آبی زرشک نسبت به سایر مقادیر بیش‌ترین تأثیر را بر کاهش پاسخ درد در مرحله دوم درد فرمالینی داشت (شکل ۱).



شکل ۱: مقایسه اثرات تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف عصاره آبی زرشک بر مراحل اول و دوم درد فرمالینی

*) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) نسبت به گروه فرمالین ۱٪. تعداد حیوانات در هر گروه = ۶ سر

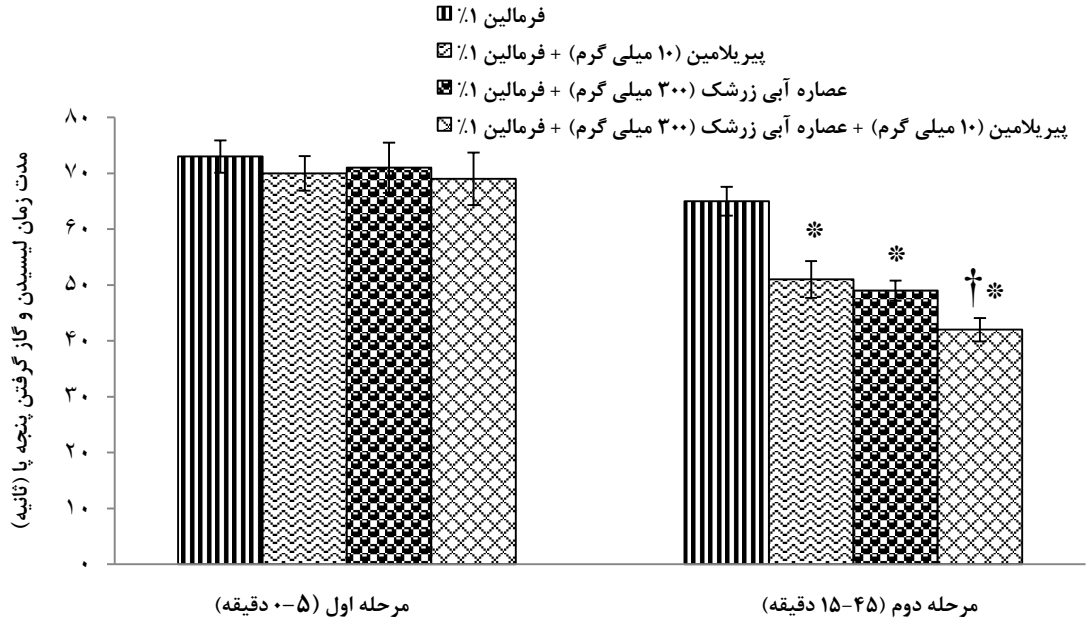
تزریق داخل صفاقی پیریلامین (آنتاگونیست گیرنده H_1) به مقدار ۱۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن، بدون تأثیر بر مرحله اول، موجب کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) پاسخ درد در مرحله دوم درد فرمالینی گردید. هم‌چنین تزریق داخل صفاقی فاموتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2) به‌مقدار ۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن نیز موجب کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) پاسخ درد در مرحله دوم درد فرمالینی گردید و بر مرحله اول تأثیر معنی‌داری نداشت. پیریلامین ۱۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن نسبت به فاموتیدین ۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن، تأثیر بیش‌تری در کاهش پاسخ درد فرمالینی در مرحله دوم درد داشت (شکل ۲).



شکل ۲: مقایسه اثرات تزریق داخل صفاقی پیریلامین و فاموتیدین بر مراحل اول و دوم درد فرمالینی

*) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p<0/05$) نسبت به گروه فرمالین ٪۱. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر

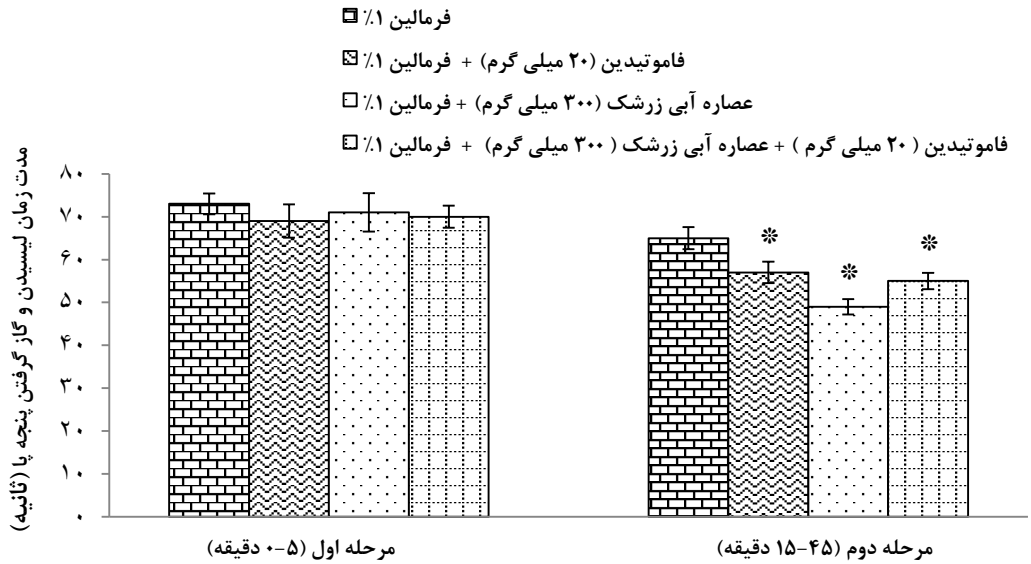
پیش تزریق با پیریلامین به مقدار ۱۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن و سپس تزریق داخل صفاقی عصاره آبی زرشک به‌مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن، موجب کاهش معنی‌دار ($p<0/05$) پاسخ درد در مرحله دوم درد فرمالینی نسبت به گروه عصاره به تنهایی گردید. هم‌چنین در مرحله دوم درد فرمالینی این کاهش پاسخ نسبت به گروه پیریلامین به‌تنهایی، بیش‌ترین تأثیر را نشان داد (شکل۳).



شکل ۳: مقایسه تداخل عمل بین پیریلامین و عصاره آبی زرشک بر مرحله اول و دوم درد فرمالینی

*) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p<0/05$) نسبت به گروه فرمالین ٪۱، †) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p<0/05$) نسبت به گروه پیریلامین به‌تنهایی. تعداد حیوانات در هر گروه = ۶ سر

پیش تزریق با فاموتیدین به‌مقدار ۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن و سپس تزریق داخل صفاقی عصاره آبی زرشک به‌مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن، موجب کاهش معنی‌دار ($p<0/05$) پاسخ درد در مرحله دوم درد فرمالینی نسبت به گروه عصاره به تنهایی گردید (شکل ۴).



شکل ۴: مقایسه تداخل عمل بین فاموتیدین و عصاره آبی زرشک بر مرحله اول و دوم درد فرمالینی

*) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه فرمالین ۱٪ . تعداد حیوانات در هر گروه = ۶ سر

بحث

در مطالعه حاضر تزریق فرمالین ۱٪ باعث بروز پاسخ‌های درد دو مرحله‌ای گردید. تزریق کف‌پایی فرمالین ۱٪ پاسخ‌های رفتاری لیسیدن و گاز گرفتن را در پای تزریق‌شده در فواصل زمانی (۵-۰ دقیقه) و (۱۵-۴۵ دقیقه) از کل زمان، پس از تزریق فرمالین ایجاد کرد. با توجه به این واقعیت که پاسخ درد در این ۵ دقیقه بسیار شدیدتر از ۵ دقیقه‌های دیگر بود می‌توان نتیجه گرفت که درد در دو مرحله (مرحله اول ۵-۰ و مرحله دوم ۴۵-۱۵ دقیقه پس از تزریق) ایجاد شد و پاسخ درد بین دو مرحله ذکرشده کاهش یافت. آزمون فرمالین یک روش استاندارد جهت اندازه‌گیری پاسخ‌های ایجادشده به محرک‌های دردزای شیمیایی می‌باشد که اولین‌بار توسط Dubussion و Dennis (۱۹۷۷)، معرفی گردید (تمتاجی و همکاران، ۱۳۹۳). در این آزمون برای بررسی مکانیسم‌های درد از فرمالین به‌عنوان یک ماده درد زا در غلظت‌های مختلف و با تزریق در نواحی مختلف بدن استفاده می‌گردد. با تزریق فرمالین به‌روش زیرجلدی در کف پا، پاسخ‌های درد شامل لیسیدن، گاز گرفتن، بالا نگه‌داشتن و گذاشتن و بلند کردن پنجه پا، ایجاد می‌شود. علاوه بر بروز پاسخ درد به‌دنبال تزریق کف‌پایی فرمالین، واکنش‌های التهابی نظیر درد، گرما، سرخی و تورم ایجاد می‌شود. در این التهاب انواع مختلف واسطه‌های التهابی شامل برادی‌کینین، ماده p، پروستاگلاندین‌ها، نیتریک اکساید، سروتونین و هیستامین شرکت می‌کنند (تمدن‌فرد و عرفان‌پرست، ۱۳۸۸). تزریق زیرجلدی محلول فرمالین به کف پای حیوان یک الگوی دو مرحله‌ای از رفتارهای درد را به‌صورت مرحله اول یا نوروژنیک یا مرحله کوتاه مدت و مرحله دوم یا مرحله التهابی یا طولانی مدت را ایجاد می‌کند (Vidal-cantu و همکاران، ۲۰۱۶؛ مجتهدین، ۱۳۹۵). مرحله اول، مرحله درد حاد است که در اثر تحریک مستقیم گیرنده‌های درد در پای حیوان بوده که در چند دقیقه اول پس از تزریق کف‌پایی فرمالین رخ می‌دهد و نسبتاً زودگذر است، به‌علت اثر مستقیم ماده محرک فرمالین بر فیبرهای حسی نوع C است و مرحله طولانی‌تر و مزمن (ثانویه) این آزمون به‌علت ایجاد تغییرات التهابی ناشی از آزاد شدن واسطه‌های دردزا است که با التهاب و تورم در موضع همراه است. نتایج تحقیقات جدید نشان می‌دهد که در مرحله اولیه آزمون فرمالین ماده p و برادی‌کینین و در مرحله ثانویه آن هیستامین، سروتونین، پروستاگلاندین و برادی‌کینین نقش دارد. این آزمون علاوه بر سنجش درد، تا حدودی مکانیسم اثر مواد با پتانسیل ضد دردی را نیز مشخص می‌نماید (مقدم‌نیا و همکاران، ۱۳۸۳؛ روغنی و همکاران، ۱۳۸۹). در هر حال درد دو مرحله‌ای ایجاد شده در مطالعه حاضر با مطالعات قبلی بر روی حیوانات آزمایشگاهی هم‌خوانی دارد.

در تحقیق حاضر تزریق داخل صفاقی پیریلامین (آنتاگونیست گیرنده H_1) به‌مقدار ۱۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن و فاموتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2) به‌مقدار ۲۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن

موجب کاهش معنی‌دار ($p<0/05$) پاسخ درد فرمالینی بدون تأثیر بر مرحله اول، در مرحله دوم درد فرمالینی گردید.

نتایج مطالعه‌ای نشان داد که کلرفنیرآمین (آنتاگونیست گیرنده H_1) موجب کاهش درد التهابی (مرحله دوم درد فرمالینی) گردید در حالی‌که بر درد نوروژنیک اثری نداشت(تمدن‌فردو مجتهدین، ۱۳۸۴). در موش‌های صحرایی تزریق داخل صفاقی مپیرامین که آنتاگونیست H_1 است، موجب کاهش درد ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین شده است(Ashmaviوهمکاران،۲۰۰۳).تزریق‌داخل‌صفاقی‌آنتاگونیست‌های گیرنده H_1 هیستامینی، دکس‌کلرفنیرآمین و دیفن هیدرامین، موجب یک اثر ضد دردی وابسته به دوز در هر دو تست صفحه داغ و رایتینگ گردید (فرزین و همکاران، ۱۳۷۹). آلوپاتادین (آنتاگونیست گیرنده H_1) به‌صورت وابسته به دوز به‌طور قابل‌توجهی پاسخ‌های درد ناشی از آزمون فرمالین را در مرحله اول و دوم درد فرمالینی کاهش داد (بهوندی، ۱۳۹۵). پیریلامین (آنتاگونیست گیرنده H_1) درروش وابسته به دوز پاسخ‌های ضد دردی را در تست فرمالین ایجاد کرد (Rosa و Fantozzi، ۲۰۱۳). در پژوهش دیگری گزارش‌شده است که مکلیزین (آنتاگونیست گیرنده H_1) پاسخ درد را در هر دو مرحله اول و دوم آزمون فرمالین کاهش داده است (مجتهدین، ۱۳۹۵). از نقش آنتاگونیست‌های گیرنده H_2 در پاسخ‌های درد گزارش‌های مختلفی ارائه‌شده است. تزریق داخل صفاقی سایمتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2) موجب کاهش درد التهابی (مرحله دوم) و نه درد نوروژنیک (مرحله اول) گردید (تمدن‌فرد و مجتهدین، ۱۳۸۳). در یک پژوهش تزریق داخل صفاقی وراپامیل، نیفدیپین و دیلتیازم بر رفتار درد ناشی از فرمالین اثر مهاری ایجاد کرد. به‌طوری‌که وراپامیل رفتار درد مرحله اول (۰-۵ دقیقه) و مرحله دوم (۲۰-۴۵ دقیقه) را کاهش داد ولی نیفدیپین و دیلتیازم فقط بر مرحله دوم درد اثر داشته و رفتار درد مرحله اول را کاهش نداد(خیاط‌نوری و همکاران،۱۳۸۸).در مطالعه‌ای در آزمون فرمالین تزریق داخل صفاقی کلرفنیرآمین و سایمتیدین، پاسخ درد ناشی از فرمالین را در موش‌های کوچک کاهش داد. هم‌چنین در مطالعه‌ای دیگر، تزریق زیر جلدی دکس‌کلرفنیرآمین و رانیتیدین باعث کاهش رفتارهای دردی القا شده توسط فرمالین در موش‌های کوچک‌شد(Mojtahedin،۲۰۱۶).تزریق‌زیرجلدی‌پیریلامین (آنتاگونیست گیرنده H_1) و فاموتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2) اثرات ضد دردی ناشی از اسیداستیک را در موش‌های صحرایی در تست رایتینگ نشان داد (Zanboori و همکاران، ۲۰۰۸). متعاقب تزریق زیر جلدی تری‌پلنامین، کلرفنیرآمین، دیفن‌هیدرامین و سیکلیزین (آنتاگونیست‌های گیرنده H_1) و سایمتیدین و رانیتیدین (آنتاگونیست‌های گیرنده H_2)، تری‌پلنامین، کلرفنیرآمین و سایمتیدین در مقادیر بالا موجب کاهش پاسخ درد در آزمون صفحه داغ در موش‌های سوری شدند (تمدن‌فرد و مجتهدین، ۱۳۸۴). در سال‌های اخیر مشخص کرده‌اند که هیستامین مغزی نیز در درک درد نقش دارد، چون تزریق داخل بطن مغزی هیستامین موجب کاهش درد در آزمون‌های مکانیکی و حرارتی درد در موش‌های سوری و رت شده است. تزریق داخل بطن مغزی هیستامین یک اثر مهاری در کنترل درد ناشی از تزریق کف‌پایی کاراجینان ایجاد کرده است. به‌علاوه تزریق داخل بطن مغزی هیستامین موجب کاهش درد ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین در موش‌های سوری شده است (تمدن‌فرد و همکاران، ۱۳۸۳). در مطالعه دیگر هیستامین تزریق‌شده به‌داخل بطن مغز، موجب کاهش تورم پنجه پا، درد و غلظت پروتئین در مایع تورم ناشی از تزریق فرمالین در موش‌های رت شد (تمدن‌فرد و همکاران، ۱۳۸۳). ریز تزریق (Microinjection) هیستامین به گریوس دندانه‌دار، درد ایجاد شده توسط فرمالین را سرکوب نمود (Hamzeh-Ghooshchi و همکاران، ۲۰۱۵). پژوهش‌ها نشان داده که تزریق مرکزی هیستامین، مپیرامین (آنتاگونیست گیرنده H_1) و فاموتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2) به‌طور معنی‌داری باعث کاهش مرحله دوم درد فرمالینی شده است (مجتهدین، ۱۳۹۵). ریزتزریق مپرامین (آنتاگونیست گیرنده H_1) و رانیتیدین به هیپوکامپ پشتی اثرات سرکوب‌گر هیستامین بر درد را مهار کرد. ریز تزریق هیستامین به قشر حسی- پیکری اولیه (Primary somatosensory cortex) اثرات ضد دردی را در مرحله اول و دوم درد فرمالینی ایجاد کرد، درحالی‌که پیش تیمار با کلرفنیرآمین و رانیتیدین، اثرات ضد دردی ناشی از هیستامین را مهار کردند و این نشان می‌دهد که در قشر حسی پیکری اولیه، هیستامین از طریق گیرنده‌های H_1 و H_2 پس سیناپسی، درد ناشی از فرمالین را تعدیل می‌کند. در سطح فوق نخاعی، تزریق توأم تملاستین و تیوتیدین، همراه با هیستامین به قشر دور قناتی خاکستری، آنالژزی ناشی از هیستامین را در تست صفحه داغ در موش‌ها مهار می‌کند (Tamaddonfard و Hamzeh-Gooshchi، ۲۰۱۳). پیش تزریق رانیتیدین و نه کلرفنیرآمین، اثرات ضددردی ناشی از تزریق داخل بطن مغزی هیستامین را در درد سه‌گانه حاد در موش‌ها مهار می‌کند (Hamzeh-Gooshchi و همکاران، ۲۰۱۵). تزریق هیستامین به هسته رافه پشتی و نواحی دور قناتی خاکستری (Periaqueductal gray) ایجاد اثر ضددردی می‌کند، درصورتی‌که تزریق آن به هسته رافه میانی آستانه درد را پایین می‌آورد (فرزین و همکاران، ۱۳۷۹). این نتایج نشان می‌دهد که هیستامین در سطح محیطی باعث افزایش درد و در سطح مرکزی موجب اثرات ضد دردی می‌گردد (مجتهدین، ۱۳۹۵). با توجه به نتایج حاصل از کاربرد پیریلامین و فاموتیدین به‌تنهایی در آزمون فرمالین و اثرات ضد دردی ناشی از این آنتاگونیست‌ها در پژوهش حاضر، این نتایج با یافته‌های قبلی ذکرشده

هم‌خوانی دارد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد مقادیر مختلف عصاره آبی زرشک بدون تأثیر بر مرحله اول درد فرمالینی، موجب کاهش معنی‌دار پاسخ درد در مرحله دوم گردید، به‌طوری که مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن از عصاره آبی زرشک بیش‌ترین کاهش پاسخ درد را نسبت به سایر مقادیر نشان داد. مطالعات انجام گرفته با عصاره الکلی زرشک نشان داد که عصاره این گیاه فعالیت ضددرد قابل توجهی دارد، به‌طوری که باعث افزایش مدت زمان شروع پاسخ درد در آزمون تلنگر دم گردید و هم‌چنین اثرات ضددرد معنی‌داری در آزمون اسیداستیک (درد احشایی) نشان داد (Hosseini و Mirazi، ۲۰۱۳). مطالعات نشان داده است مهم‌ترین ترکیبات شناسایی شده در گیاه زرشک شامل بربرین، اکسی‌کوتین، پالماتین، برولیکا، بربامین، کلومبامین، یاترویزین و کوپتیزین است. شش آلکالوئید ایزوکوئینولین با نام‌های بربرین، بربامین، پالماتین، اگزاکانتین و مگنوفلورین و کلومبامین به‌عنوان اجزاء اصلی آلکالوئیدی از ریشه زرشک جدا سازی شده‌اند (Kupeli و همکاران، ۲۰۰۲). بربرین آلکالوئید فعال اصلی می‌تواند در تمام بخش‌های گیاه به‌ویژه ریشه یافت شود. میزان بربرین موجود در میوه حدود ۷/۷- ۵/۵ درصد بوده و هیچ‌گونه اثرات سمی در دوز کلینیکی نداشته و هیچ‌گونه اثرات جهش‌زا و یا واکنش‌های جانبی از آن مشاهده نشده است (Shidfar و همکاران، ۲۰۱۲). مطالعات انجام گرفته در شرایط in vivo در موش‌های سوری نشان داد که آلکالوئیدهای بربرین، بربامین و پالماتین اثرات ضدالتهابی معنی‌دار وابسته به دوز در مدل ادم پنجه پا ایجاد کرد. هم‌چنین مطالعات مشخص نمود که این سه آلکالوئید اثرات ضددردی و ضد تب در مدل تب تحت حاد FCA نشان داده است (Kupeli و همکاران، ۲۰۰۲). نتایج پژوهش دیگری مشخص کرد که اثرات ضددردی و ضد التهابی عصاره ریشه گیاه زرشک احتمالاً از طریق گیرنده‌های اوپیوئیدی صورت می‌پذیرد (Mohebali و همکاران، ۲۰۱۱). در مطالعات انجام شده توسط Kiasalari و همکاران (۲۰۱۱) بر روی التهاب نوع حاد (ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین، تزریق داخل صفاقی اسید استیک) و التهاب نوع مزمن (گاز گذاشته شده در کشاله ران) در موش‌های صحرایی، نشان داده شد که عصاره الکلی میوه زرشک قادر به کاهش التهاب حاد و مزمن می‌باشد. با توجه به مطالب ذکر شده، اثرات ضد دردی حاصل از عصاره آبی زرشک در این پژوهش با یافته‌های دیگران مطابقت دارد.

طبق پژوهش حاضر مشخص شد که پیش تزریق پیریلامین (آنتاگونیست گیرنده H_1) قبل از عصاره آبی زرشک موجب کاهش معنی‌دار پاسخ درد در مرحله دوم درد فرمالینی گردید، به‌طوری‌که این کاهش پاسخ نسبت به گروه پیریلامین به‌تنهایی بیش‌تر بود. از طرف دیگر پیش تزریق فاموتیدین (آنتاگونیست گیرنده H_2) قبل از عصاره آبی زرشک، اثرات کاهش‌دهنده درد در مرحله دوم درد فرمالینی نشان داد. مطالعات ثابت کرده‌اند که مرحله دوم درد فرمالینی یک درد التهابی است و با دخالت انواع واسطه‌های التهابی مثل پروستاگلاندین‌ها، برادی‌کینین، هیستامین و سایر آنزیم‌ها ایجاد می‌شود(تمدن‌فرد و همکاران، ۱۳۸۳). پژوهش‌ها مشخص نموده است که حضور سه آلکالوئید بربرین، بربامین و پالماتین در فعالیت آنتی هیستامینی و آنتی‌کولینرژیک زرشک تاثیر دارد (Khosrokhavar و همکاران، ۲۰۱۰). مطالعات نشان داده است که بربرین و باربامین موجود در زرشک به‌عنوان عامل ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی مورد توجه قرار گرفته‌اند (Eshragi و همکاران، ۲۰۱۱). بربرین و باربامین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان با مهار آنزیم‌های مختلف مثل توپوایزومراز II، cAMP، فسفو دی استراز، پروتئین کیناز B و پروتئین تیروزین کیناز، می‌توانند بر فرآیندهای داخل سلولی اثر کرده و واکنش‌های التهابی را مهار کنند. هم‌چنین بربرین و باربامین با استفاده از مکانیسم‌های دیگری نظیر کاهش بیان سیکلواکسیژناز II، کاهش بیان ماتریکس متالوپروتئیناز‌ها، مهار دگرانولاسیون ماست‌سل‌ها و بازوفیل‌ها و سرکوب سلول‌های دندریتی از آزادسازی هیستامین جلوگیری نموده و بدین ترتیب منجر به مهار التهاب می‌گردند (Owen و همکاران، ۲۰۰۸). مشخص شده است که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در موش‌های صحرایی تغذیه شده با زرشک بیشتر بوده است. هم‌چنین نشان داده شده است که بربرین می‌تواند پروتئین فعال‌کننده ۱(Activating protein 1) را به‌عنوان عامل مهم ایجادکننده التهاب و سرطان مهار کند. از طرفی بربرین قادر به مهار انتقال لنفوسیت‌ها بوده و تأثیر مستقیم در بسیاری از مراحل فرآیند التهاب دارد. هم‌چنین بربرین اثرات وابسته به دوز در رابطه با مهار ترشح اسیدآراشیدونیک از فسفولیپیدهای غشای سلول دارد (Fukuda و همکاران، ۱۹۹۹). Shamsa و همکاران (۱۹۹۹) اثرات ضدالتهابی میوه زرشک را بر روی خوکچه هندی مورد مطالعه قرار داده و نشان دادند که اضافه نمودن عصاره میوه زرشک سیاه به انتهای ایلئوم جدا شده از خوکچه هندی همانند دکس‌کلرفنیرآمین (آنتاگونیست گیرنده H_1) باعث کاهش وابسته به دوز در ترشح هیستامین شده و همانند آتروپین باعث کاهش وابسته به دوز در ترشح استیل کولین نیز می‌شود. هیستامین باعث آزادسازی اینترلوکین-۶ و اینترلوکین-۸ ذخیره شده در سلول‌های T می‌گردد و نیز موجب انبساط موضعی مویرگ‌های خونی و افزایش تراوایی و نفوذپذیری مقدار زیادی مایع به فضای بینابینی و ایجاد التهاب می‌شود. بنابراین این احتمال وجود دارد که استفاده از عصاره میوه زرشک سیاه موجب کاهش غلظت اینترلوکین-۶ و اینترلوکین-۸، از طریق کاهش ترشح هیستامین شده و از این‌رو منجر به کاهش التهاب می‌گردد. پژوهشگران

فعالیت ضدالتهابی و ضددردی متعددی برای ترکیبات فلاونوئیدی و پلی فنولیک موجود در گیاهان گزارش کرده‌اند. اثرات ضددردی و ضدالتهابی فلاونوئیدها و پلی‌فنولیک‌ها ممکن است مربوط به فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها و مهار ترشح هیستامین از ماست‌سل‌ها و نیز مهار متابولیسم اسیدآراشیدونیک باشد (Amresh و همکاران، ۲۰۰۷). با مهار متابولیسم اسیدآراشیدونیک تولید پروستاگلاندین که یکی از واسطه‌های فرآیند التهاب است متوقف شده، لذا التهاب کاهش می‌یابد. از آن‌جایی‌که آسیب و التهاب، سبب فعال شدن انتهای عصب حسی به‌طور مستقیم و یا آزادشدن هیستامین از مجاورت ماست‌سل‌ها می‌شود و هیستامین نیز موجب آزادسازی ماده P و CGRP می‌گردد، در نتیجه فلاونوئیدها با مهار ترشح هیستامین منجر به جلوگیری از ترشح موادی از قبیل مادهP و CGRP گردیده و از این طریق موجب سرکوب درد و کاهش تداوم آن می‌شوند (Roza و Fantozzi، ۲۰۱۳). با توجه به این‌که زرشک دارای ترکیبات فلاونوئیدی نیز می‌باشد، به‌نظر می‌رسد که اثرات ضددردی مشاهده شده در این مطالعه تا حدودی به‌دلیل ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنولیکی موجود در این گیاه باشد. به‌طورکلی در پژوهش حاضر، تداخل عمل عصاره آبی زرشک با آنتاگونیست‌های هیستامینی نشان داد که استفاده توأم از این داروها باعث کاهش معنی‌دار پاسخ درد ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین گردیده است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که عصاره آبی زرشک احتمالاً با تقویت قدرت کاهش‌دهندگی درد توسط آنتاگونیست‌های هیستامینی به‌ویژه آنتاگونیست گیرنده H_1 از طریق مهار ترشح واسطه‌های التهابی از قبیل پروستاگلاندین‌ها و هیستامین، اثرات ضددردی خود را اعمال نموده است. در مجموع نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد اثرات کاهش دهندگی درد ناشی از عصاره آبی زرشک احتمالاً با واسطه‌گری سیستم هیستامینرژیک به‌انجام می‌رسد. در کل با توجه به نتایج مشابه و گاها متناقض در پژوهش‌های ذکرشده قبلی، تفاوت در نتایج را می‌توان به نوع تجربه انجام‌گرفته، ویژگی‌های گونه‌ای، آزمون‌های رفتاری، نوع آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های به‌کار رفته نسبت داد. برای دستیابی به نتایج دقیق‌تر می‌توان در تحقیقات بعدی از سایر آنتاگونیست‌های هیستامینی و مدل‌های مختلف درد استفاده کرد.

منابع

۱. **اربابیان، ص.؛ ایزدی، ح.ر.؛ قشونی، ح.؛ شمس، ج.؛ زردوز، ح.؛ کمالی‌نژاد، م.؛ صحرایی، ه. و نوروززاده، ع.، ۱۳۸۸.** تأثیر عصاره آبی گیاه زعفران (*Crocus Sativus*) بر درد مزمن ناشی از آزمون فرمالین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی ماده. مجله پزشکی کوثر. دوره ۱۴، شماره ۱، صفحات ۱۱ تا ۱۸.

۲. **اژدری‌زرمهری، ح.؛ ارمی، ا.؛ قاسمی، ا. و دادی‌سلمانی، م.، ۱۳۹۱.** استرس مزمن ناهماهنگ ترتیبی رفتارهای دردی ناشی از آزمون فرمالین را در موش صحرایی نر افزایش می‌دهد. انجمن فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران. دوره ۱۶، شماره ۴، صفحات ۳۷۲ تا ۳۷۹.

۳. **ایمانی، ف.، ۱۳۹۲.** فصلنامه علمی و پژوهشی بی‌هوشی و درد. دوره ۳، شماره۳، صفحات ۱۳۳ تا ۱۳۴.

۴. **بهوندی، ف.، ۱۳۹۵.** بررسی اثر ضددرد آلوپاتادین در موش صحرایی با روش آزمون فرمالین. پایان‌نامه دکتری عمومی رشته داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز.

۵. **تمتاجی، ا.ر.؛ طلائی، ع.؛ تخت‌فیروزه، م.؛ حمیدی، غ. و تقی زاده، م.، ۱۳۹۳.** بررسی اثر ضد دردی عصاره آبی میوه سنجد در موش‌های صحرایی. دو ماه نامه علمی-پژوهشی فیض. دوره ۱۸، شماره ۴، صفحات ۳۰۸ تا ۳۱۶.

۶. **تمدن‌فرد، ا. و عرفان‌پرست، ا.، ۱۳۸۸.** اثر تزریق داخل صفاقی ویتامین C بر درد و خیز ناشی از فرمالین و هیستامین در موش‌های صحرایی. مجله دامپزشکی ایران. دوره ۵، شماره ۱، صفحات ۱۵ تا ۲۴.

۷. **تمدن‌فرد، ا.؛ عظیم‌پوران، ا. و بهجت، ب.، ۱۳۸۳.** تاثیر مرکزی هیستامین بر درد فرمالینی در خرگوش: نقش سیستم اپیوئیدی، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۶۱، شماره ۱، صفحات ۸۳ تا ۹۰.

۸. **تمدن‌فرد، ا. و مجتهدین، ع.، ۱۳۸۳.** اثر تزریق داخل صفاقی سایمتیدین بر پاسخ درد ناشی از فرمالین در موش‌های سوری. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۹، شماره ۴، صفحات ۳۷۳ تا ۳۷۸.

۹. **تمدن‌فرد، ا. و مجتهدین، ع.، ۱۳۸۴.** مطالعه اثر کلرفنیرآمین داخل صفاقی بر پاسخ درد ناشی از فرمالین و ارتباط آن با سیستم اپیوئیدی در موش‌های سوری. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۶۰، شماره ۴، صفحات ۳۶۳ تا ۳۶۸.

۱۰. **خیاط‌نوری، م.ه.؛ محمودی، ج. و حسینچی‌قره‌آقاجی، م.، ۱۳۸۸.** اثر وراپامیل، نیفدپین و دیلتیازم بر پاسخ درد ناشی از فرمالین در موش سوری. مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دوره ۳، شماره ۳، صفحات ۵۵۵ تا ۶۱۲..

۱۱. **روغنی، م.؛ بلوچ‌نژادمجرد، ت. و امیری، خ.، ۱۳۸۹.** بررسی اثر ضد دردی تجویز دراز مدت فلاونوئید هسپرتین در موش صحرایی دیابتی: شواهد رفتاری. مجله علوم پزشکی مدرس. دوره ۱۳، شماره ۲، صفحات ۱۱ تا ۲۱.

۱۲. **طاهریانفرد، م.؛ گودرزی، ص. و فاضلی، م.، ۱۳۸۸.** بررسی اثر تزریق داخل بطن مغزی موسیمول و پیکروتوسین بر شدت درد در طی سیکل استروس. مجله دامپزشکی ایران، دوره ۵، شماره ۲، صفحات ۴۰ تا ۴۹.

۱۳. **فرزین، د.؛ اصغری، ل. و نوروزی، م.، ۱۳۷۹.** اثر آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های مختلف گیرنده هیستامینی بر آستانه درد ایجاد

شده با صفحه داغ و Writhing شکمی در موش‌ها. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران. جلد ۱۰، شماره ۲۸، صفحات ۴۰ تا ۵۴.

۱۴. **قوجق، د. و صفری، ی.، ۱۳۸۱.** یک روش ساده برای اندازه‌گیری هیستامین و فعالیت آنزیم هیستسدین دکربوکسیلاز در مغز موش آزمایشگاهی، مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان. سال ۹، شماره ۲، شماره مسلسل ۲۴، صفحات ۲۹ تا ۳۴.

۱۵. **گایتون، آرتورسی.، ۲۰۱۶.** فیزیولوژی پزشکی گایتون/هال. ترجمه ابوالفضل ارجمند، ۱۳۹۴، چاپ اول، تهران: نشر بشری. جلد ۲، صفحات ۷۴۱ تا ۸۰۸.

۱۶. **مجتهدین، ع.، ۱۳۹۵.** بررسی اثرات محیطی اسانس لیموترش (*Citrus limon*) بر درد پیکری در رت‌های نر نژاد ویستار: نقش سیستم هیستامینرژیک. مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا. سال ۶، شماره ۳، صفحات ۳۹۹ تا ۴۰۸.

۱۷. **مقدم‌نیا، ع.ا.؛ حسینی‌مطلق، ل. و جندقی‌جعفری، م.، ۱۳۸۳.** بررسی اثرات ضد دردی پی پرین با استفاده از Hote-Plate و تست فرمالین در موش. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان. سال ۶، شماره ۱۳، صفحات ۸ تا ۱۶.

۱۸. **نصری، س.، ۱۳۹۱.** مروری بر کاربرد ضد دردی گیاهان دارویی در ایران. مجله طب سنتی اسلام و ایران. سال ۳، شماره ۳، صفحات ۲۹۳ تا ۳۱۰.

۱۹. **Abd El-Wahab, A.E.; Ghareeb, D.A.; Sarhan, E.E. and Abu-Serie, M.M., 2013.** In vitro biological assessment of Berberis vulgaris and its active constituent, berberine: antioxidants, anti-acetyl cholinesterase, anti-diabetic and anticancer effects. BMC Complement Altern Med. Vol. 13, pp: 218-229.

۲۰. **Amresh, G.; Reddy, G.D.; Rao, C. and Singh, P.N., 2007.** Evaluation of anti-inflammatory activity of Cissampelos pareira root in rats. J Ethnopharmacol. Vol. 110, pp: 526-531.

۲۱. **Arayne, M.S.; Sultana, N. and Bahadur, S., 2007.** The berberis story: Berberis vulgaris in therapeutics. Pakistan journal of pharmaceutical sciences. Vol. 20, No. 1, pp: 83-92.

۲۲. **Ashmavi, H.A.; Chambergo, F.S.; Araujo palmeira, C.C. and Paula posso, I.D., 2003.** The effect of pyrilamine and cimetidine on mRNA C-fos expression and nociceptive flinching behavior in rats. Anesth Analg. Vol. 97, No. 2, pp: 541-546.

۲۳. **Changizi-Ashtiyani, S.; Najafi, H.; Jalalvandi, S. and Hosseinei, F., 2013.** Protective effects of Rosa canina fruit extracts on renal disturbances induced by reperfusion injury in rats. IJKD. Vol. 7, pp: 290-298.

۲۴. **Eshraghi, A.; Movahedian Ataar, A.; Asgari, S. and Naderi, G.A., 2011.** Antioxidant effect of ziziphus vulgaris, portulacaoleracea, Berberis integerima and gundeliatourne fortti on lipid peroxidation, hb glycosylation and red blood cell hemolysis. JMP. Vol. 10, pp: 80-88.

۲۵. **Fukuda, K.; Hibiya, Y. and Mutoh, M., 1999.** Inhibition of activator protein 1 activity by berberine in human hepatoma cells. Planta Med. Vol. 65, pp :381-383.

۲۶. **Hamzeh-ghooshchi, N.; Tamaddonfard, E. and Farshid, A.A., 2015.** Effect of microinjection of histamine into the anterior cingulate cortex on pain-related behaviors induced by formalin in rats. Pharmacological reports. Vol. 67, No. 3, pp: 593-599.

۲۷. **Hojsted, J. and Sjogren, P., 2007.** Addiction to opioids in chronic pain patient: A literature review. Eur J Pain. Vol. 11, No. 5, pp: 490-518.

۲۸. **Khosrokhavar, R.; Ahmadiani, A. and Shamsa, F., 2010.** Antihistaminic and Anticholinergic Activity of Methanolic Extract of Barberry Fruit (*Berberis vulgaris*) in the Guinea Pig Ileum. Journal of Medicinal Plants. Vol. 9, No. 35, pp: 99-105.

۲۹. **Kiasalari, Z.; Khalili, M. and Ahmadi, P., 2011.** Effect of alcoholic extract of Berberis Vulgaris fruit on acute and chronic inflammation in male rats. JBMUS. Vol. 3, No. 13, pp: 28-35.

۳۰. **Kupelia, E.; Kos arb, M.; Yes iladaa, E.; Husnu, K. and Bas erb, C., 2002.** A comparative study on the anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of isoquinoline alkaloids from the roots of Turkish Berberis species. Life Sciences. Vol. 72, pp: 645-657.

۳۱. **Mirazi, N. and Hosseini, A., 2013.** Evaluation of Antinociceptive Activity of Berberis Vulgaris L. Fruit's Hydroethanolic Extract in Male Mice. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences. Vol. 9, No. 4, pp: 13- 20.

۳۲. **Mohebali, S.H.; Nasri, S.; Kamalinejhad, M. and Noori, A., 2011.** Antinociceptive & anti-inflammatory effects of Berberis vulgaris L. root's hydroalcoholic extract and determination of it's possible antinociceptive mechanism in male mice. Journal of Paramedical Sciences. Vol. 2, No. 4, pp: 451-461.

۳۳. **Mojtahedin, A., Tamaddonfard, E. and Zanbouri, A., 2008.** Effects of mepyramine and famotidine on the physostigmine-induced antinociception in the formalin testin rats. Pakistan Journal of Biological Sciences. Vol. 11, No. 22, pp: 2573-2578.

۳۴. **Mojtahedin, A., 2016.** Effect of cholinergic system in antinociception induced by H_1 and H_2 receptor antagonists on somatic pain in rats. International Journal of Medical Research & Health Sciences. Vol. 5, No. 9, pp: 378-383.

۳۵. **Owen, J.L.; Torroella-Kouri, M. and Iragavarapu Charyulu, V., 2008.** Molecular events involved in the increased expression of matrix metalloproteinase-9 by T lymphocytes of mammary tumor-bearing mice. Int J Mol Med. Vol. 21, No. 1, pp: 125-134.

۳۶. **Rosa, A.C. and Fantozzi, R., 2013.** Histamine in the neurogenic inflammation. Pharmacol. Vol. 170, No. 1, pp: 38-45.

۳۷. **Shamsa, F.; Ahmadiani, A. and Khosrokhavar, R., 1999.** Antihistaminic and anticholinergic activity of barberry fruit (*Berberis vulgaris*) in the guinea-pig ileum. J Ethnopharmacol. Vol. 64, pp: 161-166.

۳۸. **Shidfar, F.; Ebrahimi, S.S.; Hosseini, S. and Heydari, I., 2012.** The effects of Berberis vulgaris fruit extract on serum lipoproteins, apoB, apoA-I, homocysteine, glycemic control and total antioxidant capacity in type 2 diabetic patients. Iran J Pharm Res. Vol. 11, pp: 643-652.

۳۹. **Souri, E.A.G.; Dehmobed-Sharifabadi, A.; Nazifi, A. and Farsam, H., 2004.** Antioxidant activity of sixty plants from Iran. Iran J Pharm Res. Vol. 3, pp: 55-59.

۴۰. **Sjogren, P.; Thomsen, A.B. and Olsen, A.K., 2000.** Impaired neuropychological performance in chronic nonmalignant pain patient receiving long-term oral opioid therapy. Journal of Pain and Symptom Management. Vol. 19, No. 2, pp: 100-108.

۴۱. **Tamaddonfard, E. and Hamzeh-Gooshchi, N., 2013.** Effect of administration of histamine and it′s H1, H2 and H3 receptor antagonists in to the primary somatosensory cortex on inflammatory pain in rats. Iran J Basic Med Sci. Vol. 17, No. 1, pp: 55-61.

۴۲. **Vidal-cantu, G.C.; Jimenez-Hernandez, M.; Rocha Gonzalez, H.I.; Villalon, C.M.; Granados-Soto, V. and Munoz-Islas, E., 2016.** Role of 5-HT_{5A} and 5-$HT_{1B/1D}$ receptors in the antinociception produced by ergotamine and valerenic acid in the rat formalin test. European Journal of Pharmacology. Vol. 781, pp: 109-116.

۴۳. **Zanboori, A.; Tamaddonfard, E. and Mojtahedin, A., 2008.** Effect of chlorpheniramine and Ranitidine on the visceral nociception induced by Acetic Acid in rats: Role of opioids system. Pakistan Journal of biological sciences. Vol. 11, No. 20, pp: 2428-2432.

۴۴. **Zarei, A.; Changizi-Ashtiyani, S.; Taheri, S. and Ramezani, M., 2015.** A quick overview on some aspects of endocrinological and therapeutic effects of *Berberis vulgaris* L. Vol. 5, No. 6, pp: 485-497.

۴۵. **Zhou, Q.; Feng, Ch. and Ruan, Zh., 2017.** Inhibitory effect of a genistein derivative on pigmentation of guinea pig skin, RSC Adv. Vol. 7, No. 13, pp: 7914-7919.