



## بررسی اثر التهاب بر عملکرد فیزیولوژیکی قلبی عروقی در موش صحرایی نر

مسعود دینداری پاریزی: گروه قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران، (\* نویسنده مسئول) MD\_parizi@yahoo.com

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

عصاره آبی الکلی گیاه شقایق وحشی، استئوآرتریت، التهاب، بیماری قلبی عروقی، سلکوکیسیب

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۰

تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۰۵/۳۰

**زمینه و هدف:** این مطالعه به بررسی اثر التهاب در استئوآرتریت القا شده با MIA بر عملکرد فیزیولوژیکی قلبی عروقی در موش صحرایی نر با دو فرضیه تأیید استئوآرتریت و دوز موثر عصاره تزریقی و خوراکی شقایق وحشی و اثر قلبی عروقی دوز موثر عصاره تزریقی شقایق وحشی می‌پردازد.

**روش کار:** داده‌ها به کمک نرم افزار SPSS و با استفاده از آزمون Independent T-test برای بررسی تفاوت‌های بین گروه‌ها و آزمون Paired sample T-test برای بررسی تفاوت‌های بین مراحل مختلف یک گروه با در نظر گرفتن  $p < 0.05$  به عنوان سطح معنی‌داری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

**یافته‌ها:** استئوآرتریت (OA)، شایع‌ترین بیماری مفصلی بزرگسالان در سرتاسر جهان می‌باشد و استئوآرتریت زانو، شایع‌ترین نوع آن است. شایع‌ترین علامت استئوآرتریت، درد مفصل است. استئوآرتریت یک اختلال دژنراتیو شایع غضروف مفصل، است همراه با تغییرات هیپرتروفیک در استخوان ساب‌کندرال، که باعث التهاب بافت‌های اطراف می‌گردد.

**نتیجه‌گیری:** مطالعات نشان داده‌اند که التهاب سیستمیک و مزمن می‌تواند خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی را افزایش دهد. از آنجایی که التهاب سینوویال در ایجاد مراحل اولیه OA نقش دارد، بنابراین از عوارض جانبی OA، بروز CVD می‌باشد. OA با علائم درد خفیف تا متوسط همراه است و خط اول درمان این بیماری استفاده از داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی (NSAIDs) مانند سلکوکیسیب می‌باشد. با این حال، عوارض جانبی خطرناک NSAIDs در بروز بیماری قلبی عروقی در این افراد، استفاده طولانی مدت از NSAIDs را محدود می‌کند. به کار بردن روش‌های جایگزین از جمله استفاده از گیاهان دارویی می‌تواند باعث پیشگیری از عوارض جانبی ناشی از آن گردد. از جمله این گیاهان شقایق وحشی با نام علمی (Papaver rhoeas L.) می‌باشد که خاصیت ضدالتهابی دارد و در گرفتگی‌های عروقی موثر می‌باشد.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منع حمایت‌کننده:** حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Dindari Parizi M. The Effect of Inflammation on Physiological Cardiovascular function in Male Rats. Razi J Med Sci. 2022;29(5): 172-181.

\*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با 3.0 CC BY-NC-SA صورت گرفته است.

## The Effect of Inflammation on Physiological Cardiovascular function in Male Rats

**Masood Dindari Parizi:** Department of Cardiovascular Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran. (\* Corresponding author) MD\_parizi@yahoo.com

### Abstract

**Background & Aims:** To date, much has been reported about the cardiovascular toxicity of NSAIDs, and often conflicting results have been obtained, particularly for aspirin and naproxen, as well as similar results for patients taking ibuprofen. To date, clinical research on the effect of NSAIDs in cardiovascular patients has been limited to pilot studies of flurbiprofen, meloxicam, and parecoxib/valdecoxib. The mechanism of cardiovascular action of aspirin, naproxen, and other non-selective NSAIDs and COX-2 inhibitors is still debated. Although non-selective NSAIDs inhibit both COX-1 and COX-2 enzymes, selective COX-2 inhibitors, including lumiracoxib, have no effect on COX-1 at therapeutic concentrations. The primary hypothesis explaining the increased risk of cardiovascular disease with COX-2 inhibitors is that the inhibitor of this enzyme causes an imbalance and consequently the accumulation of platelets due to COX-1, while the production of COX-2-dependent prostacyclin is inhibited by endothelial cells, which can act on blood vessels. Inhibition of COX by NSAIDs leads to a reduction in the systemic vasodilation effect of prostaglandins such as PG I<sub>2</sub>, PG E<sub>2</sub>, and group (CINOD), which are prescribed for the treatment of patients with OA and are more useful in order to reduce CVD complications compared to NSAIDs. A lot of clinical and experimental evidence shows that NSAIDs and COX-2 inhibitors may cause vasoconstriction. Considering the tendency of people to use herbal medicines and also in order to reduce the cardiovascular side effects of chemical drugs for the treatment of OA, it seems necessary to use alternative methods, including the use of medicinal plants, among these plants is wild anemone. This study examines the effect of inflammation in MIA-induced osteoarthritis on physiological cardiovascular performance in male rats with two hypotheses to confirm osteoarthritis and the effective dose of injectable and oral wild anemone extract and the cardiovascular effect of the effective dose of injectable wild anemone extract.

**Methods:** The data were analyzed using SPSS software and using the Independent T-test to check the differences between groups and the Paired sample T-test to check the differences between the different stages of a group, considering  $p < 0.05$ . The significance level title was analyzed.

**Results:** Osteoarthritis (OA) is the most common joint disease in adults worldwide, and knee osteoarthritis is the most common type. The most common symptom of osteoarthritis is joint pain. Osteoarthritis is a common degenerative joint cartilage disorder, with hypertrophic changes in the subchondral bone, which causes inflammation of the surrounding tissues.

**Conclusion:** The results of this research showed that wild anemone extract can significantly inhibit the process of OA in rats suffering from arthritis with monosodium iodoacetate (especially at a dose of 200 mg/kg) and reduce the edema and weight of the affected rats with consumption. The oral extract of wild anemone showed that anthocyanin (an active substance in wild anemone) had an anti-inflammatory effect through the mechanism of inhibiting the activity of inflammatory cells and pro-inflammatory cytokines in monosodium iodoacetate model mice. Also, the decrease in the level of the creatine kinase-MB enzyme in the coronary fluid in the group receiving wild anemone confirms the fact that the presence of anthocyanin can reduce the risk of CVD and cause endothelial dysplasia by increasing the phosphorylation of protein kinase C hypertrophy and the activation of protein kinase B Akt. It improves vascular stiffness, which has a protective effect on the heart. And since the wild anemone was used in this study, according to previous studies, it has been shown that it caused a significant decrease in the proliferation of monkey kidney cancer cells ( $IC_{50} = 7.80 \mu\text{g/ml}$ ) and the inhibitory effect

### Keywords

Papaver rhoeas,  
Osteoarthritis,  
Inflammation,  
Cardiovascular Disease,  
Celecoxib

Received: 10/05/2022

Published: 21/08/2022

of the extract on DPPH radical (74/ 5  $\mu\text{g/ml}$ ) also reported that the extract had a phenolic content more than the flavonoid content, which makes its use relatively safe. On the other hand, the increase in blood pressure (mean arterial pressure, systolic and diastolic pressure) can be related to the activity of the vagus nerve, which causes There is a significant decrease in the heart rate and contraction power of the heart. Also, in the serological findings of the present study, it has been shown that the level of troponin has decreased with the consumption of wild anemones. On the other hand, acetylcholine released from nerve endings through M2 muscarinic receptors causes the opening of a group of potassium channels and increases potassium release and hyperpolarization of action potential generating nodes in the heart. Also, nicotinic receptor ( $\alpha 7$ ( $\alpha 7$ nAChR) is present in synovial tissue. This has been shown for the synovial tissue of the knee joint of patients with OA, which can produce local acetylcholine in joint inflammation, which is attributed to the cholinergic system. Which inhibits the production of inflammatory cytokines. Also, stimulation of articular chondrocytes by IL-1 $\beta$  or TNF- $\alpha$  for p65 NF- $\kappa$ B nuclear transfer involves a wide range of catabolic genes such as nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in chondrocytes, which leads to the production of proteases. It destroys and weakens the extracellular matrix. Wild anemone decreased TNF- $\alpha$  in the rat knee joint, which is in line with the study. On the other hand, it has been shown in epidemiological studies that there is a relationship between the increase in the level of inflammatory markers and the high prevalence of CVD. Studies have shown that systemic and chronic inflammation can increase the risk of cardiovascular diseases. Since synovial inflammation plays a role in the early stages of OA, CVD is one of the side effects of OA. OA is associated with mild to moderate pain symptoms, and the first line of treatment for this disease is the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) such as celecoxib. However, the dangerous side effects of NSAIDs in the occurrence of cardiovascular disease in these people limit the long-term use of NSAIDs. Using alternative methods, including the use of medicinal plants, can prevent side effects. Among these plants is the wild anemone with the scientific name (*Papaver rhoeas* L.), which has anti-inflammatory properties and is effective in spasms.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

#### Cite this article as:

Dindari Parizi M. The Effect of Inflammation on Physiological Cardiovascular function in Male Rats. Razi J Med Sci. 2022;29(5): 172-181.

**\*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.**

## مقدمه

شواهد جدید مبنی بر این است که التهاب واسطه اصلی آسیب‌شناسی مفصلی در استئوآرتریت می‌باشد و اختلال در تنظیم مسیر سیگنالینگ NF- $\kappa$ -B نقش مهمی در ایجاد این التهاب دارد (۱). سیتوکین‌های پیش‌التهابی درگیر در استئوآرتریت، TNF- $\alpha$  و  $\beta$  1 هستند که به عنوان مشکل اصلی در نظر گرفته می‌شوند. همچنین TNF- $\alpha$  که از سلولهای آندوتلیال آسیب دیده منشأ می‌گیرد، موجب التهاب در دیواره رگهای خونی شده و فعالیت لکوسیت‌ها را تنظیم کرده و موجب بلوغ و آزادسازی سیتوکین‌ها و کموکین‌ها می‌شود (۲). از طرفی شواهد زیادی وجود دارد مبنی بر اینکه مارکرهای التهابی نقش مهمی در تشکیل آتروژنز و ترومبوز شریانی دارند. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که التهاب سیستمیک می‌تواند خطر ابتلا به CVD را افزایش دهد. التهاب مزمن نیز یکی دیگر از عوامل خطر بروز CVD می‌باشد (۳). از آنجایی که التهاب سینوویال در ایجاد مراحل اولیه OA نقش دارد بنابراین از عوارض جانبی OA، بروز CVD می‌باشد (۴). بیماری‌های قلبی عروقی شامل بیماری‌های ایسکمی قلبی، نارسایی احتقانی قلب، حملات ایسکمیک گذرا و سکته مغزی می‌باشد. در چندین مطالعه نشان داده شده است که رفلکس التهابی با خطر آترواسکلروز مرتبط است (۵). همچنین در مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان داده شده است که بین افزایش سطح مارکرهای التهابی و شیوع بالای CVD ارتباط وجود دارد (۶). داروهای ضد التهابی استروئیدی شامل مهارکننده‌های سیکلواکسیژناز 2 (سلکوکسیب یا سلبرکس)، که به عنوان خط اول درمان OA توصیه می‌شوند، با افزایش خطر ابتلا به CVD همراه هستند. در پژوهشی در سال ۲۰۱۴ مشخص شد که مصرف NSAIDs موجب افزایش خطر انفارکتوس میوکارد، سکته مغزی، پرفشاری خون، نارسایی قلبی و فیبریلاسیون دهلیزی می‌شود (۷). تا به امروز، اطلاعات زیادی در مورد سمیت قلبی عروقی NSAIDs حاصل شده و اغلب نتایج متضادی بخصوص برای آسپیرین و ناپروکسن بدست آمده است، همچنین نتایج مشابهی در مورد بیماری که ایبوبروفن مصرف کرده‌اند حاصل شده است (۸). تا به امروز، تحقیقات بالینی بروی اثر NSAIDs در

بیماران مبتلا به قلب و عروق، محدود به مطالعات آزمایشی داروهای flurbiprofen، meloxicam و parecoxib/valdecoxib بوده است. مکانیسم اثر قلبی عروقی آسپیرین، ناپروکسن و دیگر NSAID های غیر انتخابی و مهارکننده‌های COX-2 هنوز مورد بحث می‌باشد. اگرچه NSAID های غیر انتخابی هر دو آنزیم COX-1 و COX-2 را مهار می‌کنند، مهارکننده‌های انتخابی COX-2 از جمله lumiracoxib اثری بر روی COX-1 در غلظت‌های درمانی ندارد. فرضیه اولیه توضیح دهنده‌ی افزایش خطر ابتلا به بیماری قلبی عروقی همراه با مهارکننده‌های COX-2 این است که مهارکننده‌ی این آنزیم باعث ایجاد عدم تعادل و در نتیجه تجمع پلاکت‌ها در اثر COX-1 می‌شود، درحالی که از تولید پروستاگلندین وابسته به COX-2 توسط سلولهای آندوتلیال جلوگیری می‌کند که می‌تواند روی رگهای خونی اثر بگذارند (۹). مهار COX توسط NSAID ها منجر به کاهش اثر واژودیلیشن سیستمیک در پروستاگلندین‌هایی مانند PG E2, PG I2 و گروه (CINOD) می‌شود که برای درمان بیماران مبتلا به OA تجویز می‌گردند و به منظور کاهش عوارض CVD درمقایسه با NSAID ها کاربرد بیشتری دارند (۱۰). شواهد کلینیکی و تجربی زیادی نشان می‌دهد که NSAID ها و مهارکننده‌های COX-2 ممکن است موجب انقباض عروقی شوند (۱۱). با توجه به گرایش مردم به استفاده از داروهای گیاهی و همچنین به منظور کاهش عوارض قلبی عروقی داروهای شیمیایی درمان OA، لذا به کار بردن روش‌های جایگزین از جمله استفاده از گیاهان دارویی ضروری به نظر می‌رسد از جمله این گیاهان شقایق وحشی می‌باشد. شقایق وحشی بانام علمی (Papaver rhoeas L.) از گیاهان تیره خشخاش ۷۷ است و دارای انواعی از آلکالوئیدها بوده و با خشخاش قرابت خانوادگی و اثرات مشابه دارد (۱۲). به دلیل مقادیر بسیار اندک مورفین در عصاره این گیاه آن را "تریاک بی زیان" می‌نامند. تاکنون خواص دارویی گوناگونی از این گیاه گزارش شده است. ترکیبات فعال موجود در شقایق وحشی شامل: پاپاورین، رآدین، اسید رآدیک، اسید پاپاوریک (۱۳)، روآزنین و آنتوسیانین می‌باشند. پاپاورین یکی از آلکالوئیدهای تریاک است که از آن در درمان

اعصاب واگ اعمال می‌شود که موجب کاهش قابل توجه در سرعت ضربان قلب و کاهش قدرت انقباضی قلب می‌شود (۱۱). استیل کولین آزاد شده از پایانه‌های عصبی با واسطه‌ی رسپتورهای موسکارینی M2 باعث باز شدن یک دسته از کانال‌های پتاسیمی و افزایش خروج پتاسیم و هیپرپلاریزاسیون گره‌های مولد پتانسیل عمل در قلب می‌شود. سیستم کولینرژیک در عروق گسترش چندانی ندارد و در عروق عضلات اسکلتی و عروق کرونر قلبی عروق غدد درون ریز موجب اثر شل‌کنندگی وابسته به نیتریک اکسید می‌گردد (۱۴).

### روش کار

به منظور آماده سازی عصاره درگروه‌های خوراکی و تزریقی ابتدا دوز لازم برای هر موش با توجه به وزن آن محاسبه گردید. سپس مقدار محاسبه شده توسط ترازو وزن شد، بعد به آن ۳۰۰ میکرولیتر حلال اضافه و روی دستگاه ورتکس حل شد. در گروه‌های خوراکی عصاره با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت گاوژ طی ۲ هفته به حیوان داده شد و درگروه‌های تزریقی در روز جراحی تزریق عصاره از طریق کانول سیاهرگی انجام شد. در ابتدا حیوان با تزریق داخل صفاقی یورتان (۱/۲ میلی گرم بر کیلو گرم) بی‌هوش شد و در مفصل زانوی ۳۵ موش صحرایی ۳۰ روزه‌ی مورد آزمایش با تزریق مونوسدیم یدوآستات (MIA; sigma-ALDRICH, USA) استوآتریت ایجاد شد. برای این منظور ابتدا مفصل زانوی راست حیوان را با اتانول ۱۰۰٪ استریل کرده و بعد از القای نقص غضروفی با تزریق دوز ۱ mg مونوسدیم یدوآستات به مقدار ۵۰ μL (به صورت تک دوز حاوی ۱ میلی گرم MIA در سالین ۰/۹٪) توسط یک سوزن استریل G 27 درشیا طولی مفصل زانوی راست که در حداکثر فلکشن بود انجام شد. البته درشرایطی که هیچ آسیبی به استخوان ساب کندرال وارد نشد. ۳۰ روز پس از تزریق MIA، حیواناتی که ۱۲ ساعت قبل از شروع آزمایش دسترسی آن‌ها به غذا قطع شده ولی به آب دسترسی آزاد دارند، درمطالعه وارد شدند. مراحل جراحی به صورت زیر می‌باشد: هریک از حیوانات

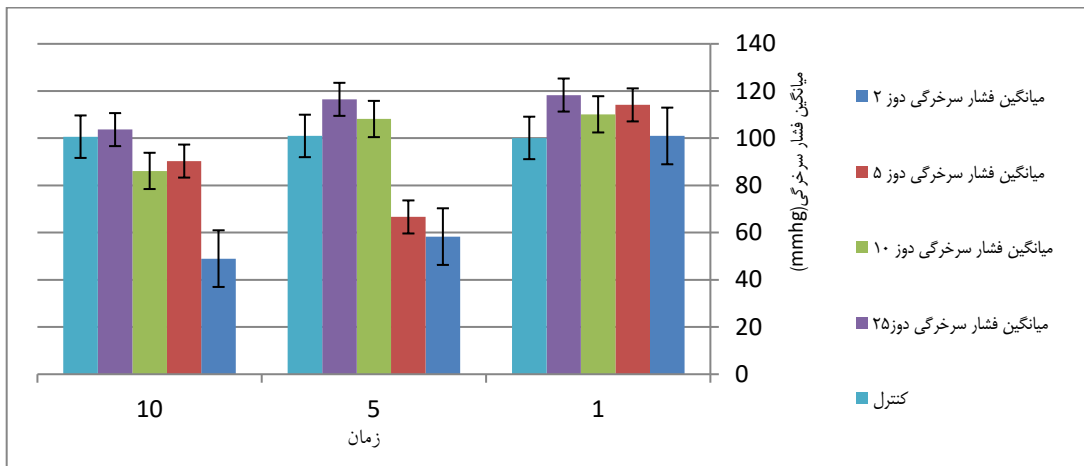
گرفتگی‌های رگی به ویژه رگهای قلب استفاده می‌شود. همچنین در درمان‌های گسترده‌ای از بیماری‌ها از جمله التهاب، درد زایمان و کاهش درد و به عنوان مسکن و آرام بخش مورد استفاده قرار گرفته است. علاوه براین، در درمان سوزش ادرار و تب خارش‌دار مفید می‌باشد (۱۴). یکی دیگر از مواد اصلی گیاه شقایق آنتوسیانین می‌باشد که توانایی کاهش خطر CVD را دارد و به منظور ارتقای عملکرد پلاکت و اثرات آنتی‌ترومبوتیک، انبساط آندوتلیوم، بهبود سفتی شریانی و اثر محافظتی بر قلب با سرکوب افزایش هیپرتروفی فسفریلاسیون در پروتئین کیناز C و فعال شدن Akt پروتئین کیناز B، شناخته شده است (۱۵). همچنین در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۷ نشان داده شده که آنتوسیانین خاصیت ضد التهابی دارد و مصرف آنتوسیانین بالا با کاهش سطح سیتوکین‌های پیش التهابی همراه است مانند: پروتئین واکنشی C (CRP) و تنظیم بیان واسطه‌های التهابی از دیگر اثرات آنتوسیانین بروی التهاب می‌باشد (۱۶). از آنجا که استیل کولین (Ach)، نوروترانسمیتر اصلی عصب واگ، از واسطه‌های اصلی مسیر ضدالتهابی کولینرژیک می‌باشد و گیرنده نیکوتینی  $\alpha 7$  ( $\alpha 7nAChR$ ) در بافت سینوویال مفصل زانوی بیماران مبتلا به OA وجود دارد، می‌توان تولید استیل کولین موضعی در تنظیم التهاب مفاصل را به مسیر ضدالتهابی کولینرژیک نسبت داد (۱۷) که باعث مهار تولید سیتوکین‌های التهابی، مانند TNF- $\alpha$ ، IL-6 و ماتریکس متالوپروتئیناز ۹ می‌شود (۹). همچنین تحریک کندروسیت‌های مفصلی توسط IL-1 $\beta$  یا TNF- $\alpha$  برای انتقال هسته NF- $\kappa$ B p65، دامنه وسیعی از ژن‌های کاتابولیک مانند: نیتریک اکسید سنتاز (iNOS) و COX-2 در کندروسیت‌ها را شامل می‌شود که منجر به تولید پروتئازهای مخرب تضعیف ماتریکس خارج سلولی می‌شود (۷). این درحالی است که در مطالعات نشان داده شده است که درمان سیستمیک با آگونیست نیکوتینی شدت و شیوع آرتروز در موش‌ها را کاهش می‌دهد. مهمترین اثر سیستم کولینرژیک در سیستم گردش خون تنظیم ضربان قلب است که از طریق رشته‌های پاراسمپاتیکی موجود در

میلی گرم بر کیلو گرم) در ۳۰۰ میکرولیتر حلال (آب و الکلی) حل شده و به صورت گاوژ به حیوانات داده شد و در روز ۳۰ مشابه گروه تزریقی ثبت فشار خون انجام گردید. بدین منظور برای دسترسی به عروق فمورال، کانول گذاری انجام شد. از کانول سیاهرگی برای انجام تزریقات در حین آزمایش استفاده شد و کانول سرخرگی به دستگاه پاورلب وصل شد که از این طریق فشار میانگین سرخرگی، سیستولی، دیاستولی و ضربان قلب ثبت گردید. این دستگاه مجهز به سیستم A-to-D بوده که داده‌های آنالوگ را به اعداد تبدیل و ثبت می‌نماید. اندازه‌گیری حجم آدم با قراردادن پای راست (مبتلا به OA با تزریق MIA و پای چپ (سالم) حیوان تا مچ (به منظور سنجش اختلاف وزن دو پا) در داخل ظرف آبی که بروی ترازو قرار داده شده و ثبت میزان وزن پای رت در روزهای (۱،۷،۱۴،۲۱،۲۸) انجام شده و میزان توزیع وزن رت‌ها محاسبه شد. داده‌ها به کمک نرم افزار SPSS از طریق آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون‌های مقایسه دو به دو به روش LSD به بررسی اختلاف بین گروه‌های آزمایشی پرداخته‌ایم. همچنین با استفاده از آزمون تی مستقل برای بررسی تفاوت‌های بین گروه‌ها و آزمون تی همبسته برای بررسی تفاوت‌های بین مراحل مختلف یک گروه با در نظر گرفتن  $p < 0/05$  به عنوان سطح معنی‌داری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. کلیه روش‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ انجام شده است.

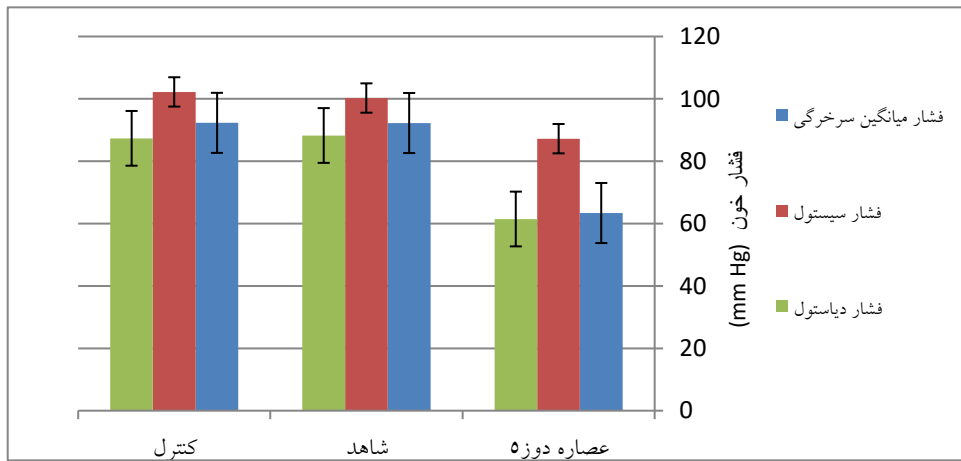
### یافته‌ها

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود در بین دوزهای مختلف تست شده، در پاسخ به عصاره تزریقی با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم سریع‌ترین افت فشار میانگین سرخرگی مشاهده می‌شود که با گذشت زمان به وضعیت مطلوب نسبت به گروه کنترل بازگشته است. با توجه به شکل ۲ و ۳، در گروه دریافت‌کننده عصاره شقایق وحشی فشار سیستولی، دیاستولی و فشار میانگین سرخرگی در حالت آزمایش در مقایسه با حالت شاهد و حالت کنترل کاهش معنی‌داری پیدا کرده است.

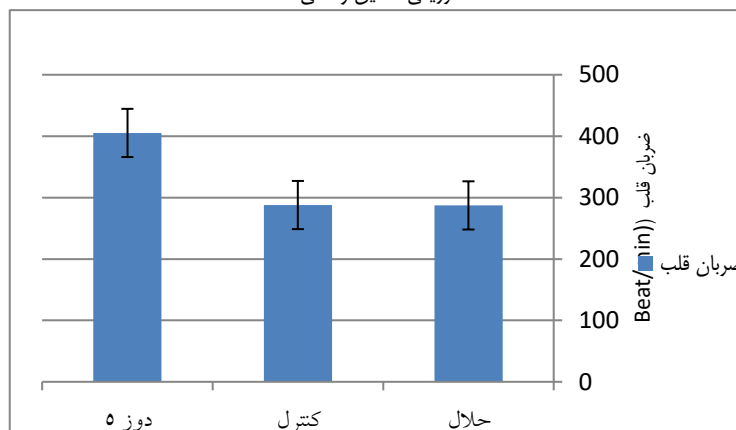
گروه‌های آزمایشی، با تزریق داخل صفاقی یورتان (۱/۲ میلی گرم بر کیلو گرم) بی‌هوش شده سپس برای جلوگیری از آسیب‌رشدن و خفگی در زمان بی‌هوشی تراکتوستومی انجام شد. برای دسترسی به عروق فمورال، کانول گذاری انجام شد. از کانول سیاهرگی برای انجام تزریقات در حین آزمایش استفاده شده و کانول سرخرگی به دستگاه پاورلب وصل شد که از این طریق فشار میانگین سرخرگی، فشار سیستولی، فشار دیاستولی و ضربان قلب به شرح زیر ثبت گردید. پس از اتمام جراحی، یک ساعت به حیوان استراحت داده می‌شد تا عوارض ناشی از استرس جراحی برطرف شده و حیوان در وضعیتی پایدار قرار گیرد. تعداد ۷۰ سر موش صحرائی نر بالغ از نژاد ویستار به طور تصادفی در ۱۴ گروه ۵ تایی با محدوده وزنی ۱۰۰-۱۵۰ گرم تقسیم شدند و در همه گروه‌ها، ثبت پارامترهای قلبی انجام شد و سپس پلاسمای خون همه نمونه‌ها جهت سنجش تروپونین،  $TNF-\alpha$  و CK جمع آوری شد. در گروه تزریقی در ابتدا فشار خون حیوانات در این گروه بدون دریافت هیچ گونه تیماری به مدت ۳۰ دقیقه ثبت شد. سپس ۳۰۰ میکرولیتر حلال عصاره از طریق کانول وریدی طی ۱۵ ثانیه تزریق شده و فشار خون ثبت گردید. پس از برگشت فشار خون به حالت نرمال، ۳۰۰ میکرولیتر عصاره شقایق وحشی دوز ۲ میلی گرم بر کیلو گرم (معادل ۰/۰۵ گرم بر کیلو گرم پودر عصاره)، دوز ۵ میلی گرم بر کیلو گرم (معادل ۰/۰۱ مگرم بر کیلو گرم پودر عصاره)، دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلو گرم (معادل ۰/۰۲۵ گرم بر کیلو گرم پودر عصاره) و دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلو گرم (معادل ۰/۰۷ گرم بر کیلو گرم پودر عصاره) تزریق شد و فشار خون ثبت گردید. در گروه خوراکی بعد از ایجاد مدل OA (با تزریق MIA)، به مدت دو هفته گاوژ عصاره‌ی شقایق وحشی انجام شد به طوری که در گروه‌های آزمایشی دوزهای مختلف عصاره شقایق وحشی دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم (معادل ۰/۲۳ گرم بر کیلو گرم پودر عصاره)، دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم (معادل ۰/۴۶ گرم بر کیلو گرم پودر عصاره)، دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم (معادل ۰/۱ گرم بر کیلو گرم پودر عصاره) و در گروه کنترل مثبت، سلبرکس (۱۰



شکل ۱- مقایسه میزان تغییرات فشار میانگین سرخرگی (Beat/min) در پاسخ به دوزهای مختلف عصاره شقایق وحشی در گروه‌های تحقیق



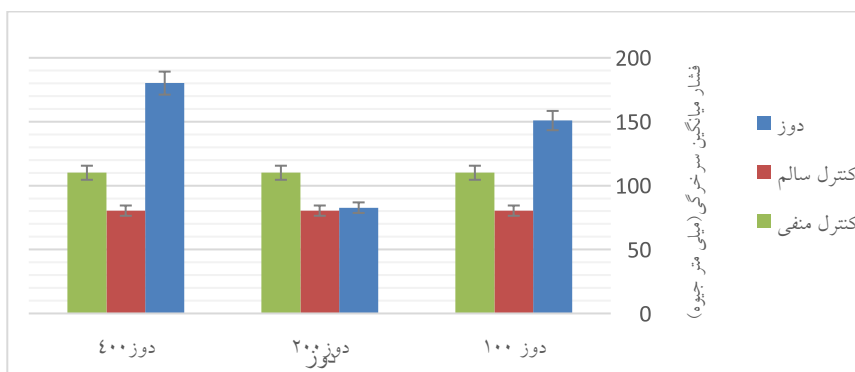
شکل ۲- مقایسه‌ی فشار خون سیستولی، دیاستولی و فشار میانگین سرخرگی (mmHg) گروه‌های کنترل، حلال و دریافت کننده دوز ۵ mg/kg عصاره تزریقی شقایق وحشی



شکل ۳- مقایسه‌ی ضربان قلب در گروه‌های کنترل، حلال و دریافت کننده دوز ۵ mg/kg عصاره تزریقی شقایق وحشی

همان طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود در بین دوزهای مختلف تست شده، فشار میانگین سرخرگی در پاسخ به عصاره خوراکی با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معناداری را نسبت به گروه کنترل منفی و دوز ۱۰۰ و ۴۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) داشته است.





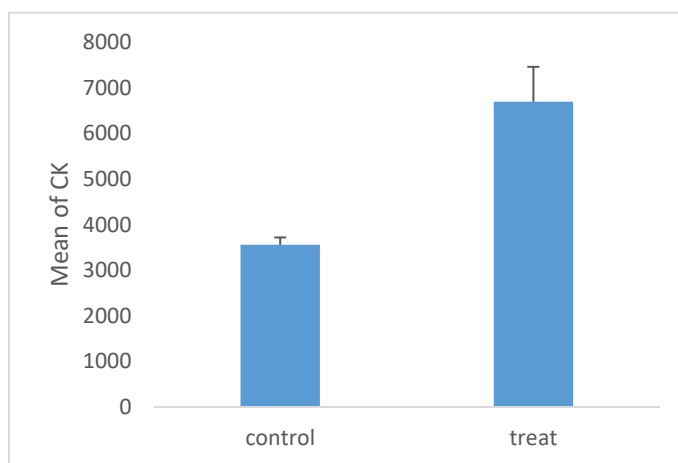
شکل ۴- میزان تغییرات فشارخون در پاسخ به دوزهای مختلف عصاره شقایق وحشی در گروه خوراکی در مقایسه با گروه کنترل و کنترل منفی

استاندارد و میزان جذبشان، نمودار استاندارد رسم و سپس با استفاده از نمودار استاندارد (شکل ۵)، میزان غلظت (CK) مربوط به هر نمونه با استفاده از میزان جذب آن، مشخص شد. میانگین گروه کنترل ۳۳۱/۱۶۲ ± ۰۲۵/۷۶۶ و میانگین گروه آزمایش ۸/۶۶۹۱ ± ۱۷/۳۵۵۵ می باشد و آزمون آماری تی مستقل در شرایط واریانس نابرابر مشخص کرد که اختلاف میانگین مشاهده شده بین دو گروه معنادار می باشد (p < ۰/۰۰۰۱) و میزان CK در گروه آزمایش به طور معناداری افزایش پیدا کرده است.

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می کنید میانگین فشار میانگین سرخرگی، فشار سیستولی و فشار دیاستولی در گروه دوز ۲۰۰ در مقایسه با گروه مبتلا به ارترز یا OA (کنترل منفی) کاهش معنی داری دارد. همچنین همه پارامترهای میانگین فشار میانگین سرخرگی، فشار سیستولی و فشار دیاستولی و ضربان قلب در گروه کنترل منفی در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته است. جهت اندازه گیری میزان کراتین کیناز (CK) در سرم خون رت با توجه به غلظت های مختلف محلول های

جدول ۱- مقایسه فشار خون سیستولی، دیاستولی و فشار میانگین سرخرگی (mmHg)، ضربان قلب (Beat/min) در گروه های کنترل (سالم)، مبتلا به ارترز (کنترل منفی) و رت مبتلا به ارترز دریافت کننده دوز ۲۰۰ عصاره خوراکی شقایق وحشی (۵ = تعداد)

گروه	ضربان قلب	فشار میانگین سرخرگی	فشار سیستولی	فشار دیاستولی
کنترل	۳۶۴/۳۹ ± ۲۵/۸۱	۱۱۰/۰۷ ± ۵/۷۵	۱۳۱/۰۹ ± ۴/۷۶	۱۰۰/۱۰ ± ۳/۸۸
مبتلا به ارترز (کنترل منفی)	۳۶۴/۳۹ ± ۱۲/۴۱	۱۱۰/۰۷ ± ۵/۴۶	۱۳۱/۰۹ ± ۵/۵۵	۱۰۰/۱۰ ± ۴/۸۸
دوز ۲۰۰	۳۱۶/۹۷ ± ۲۷/۲۱	۸۲/۷۵ ± ۷/۳۶	۹۲/۰۹ ± ۵/۴۴	۷۸/۰۹ ± ۳/۸۸



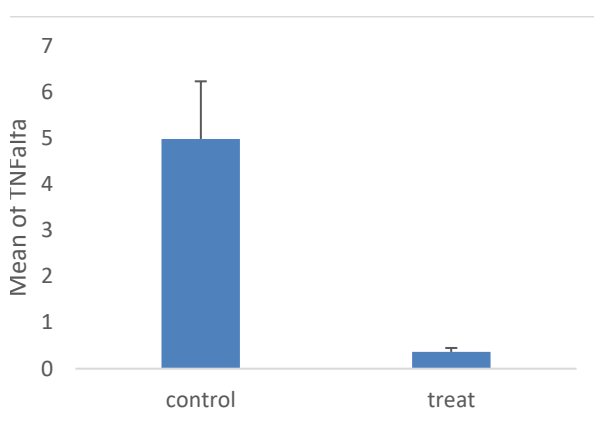
شکل ۵- منحنی استاندارد کراتین کیناز



دیسه‌پلازی آندوتلیال شود و با افزایش فسفوریلاسیون هیپرتروفی پروتئین کیناز C و فعال شدن پروتئین کیناز Akt B موجب بهبود سفتی عروقی می‌شود که اثر محافظتی بر قلب دارد (۱۲). نتایج مطالعه نشان داد از آن جایی که شقایق وحشی مورد استفاده در این مطالعه بنا بر مطالعات قبلی نشان داده شده است که باعث کاهش قابل توجهی در تکثیر در رده سلول‌های سرطانی کلیه میمون شده و اثر مهار عصاره بر رادیکال DPPH (۵/۷۴ میکروگرم در میلی لیتر) گزارش شده (۱۵).

همچنین عصاره دارای محتوای فنلی بیش از محتوای فلاونوئید بود که استفاده از آن را نسبتاً ایمن می‌کند از طرفی افزایش فشارخون (فشار متوسط شریانی، فشار سیستولیک و دیاستولیک) را می‌توان با فعالیت عصب واگ مرتبط دانست که موجب کاهش قابل توجه در سرعت ضربان قلب و کاهش قدرت انقباضی قلب می‌شود. همچنین در یافته سرولوژیک مطالعه حاضر نشان داده شده که سطح تروپونین با مصرف شقایق وحشی کاهش یافته است. از طرفی استیل کولین آزاد شده از پایانه‌های عصبی با واسطه رسپتورهای موسکارینی M2 باعث باز شدن یک دسته از کانال‌های پتاسیمی و افزایش خروج پتاسیم و هیپرپلاریزاسیون گره‌های مولد پتانسیل عمل در قلب می‌شود. نتایج پژوهش با نتایج لدر (Leder) و همکاران (۲۰۱۱) (۹)، میلر (Miller) و همکاران (۲۰۱۶) (۱۳) و کای (Kay) و همکاران (۲۰۱۹) (۸) همراستا بود. همچنین گیرنده نیکوتینی  $\alpha 7(\alpha 7nAChR)$  در بافت سینوویال وجود دارد. این امر برای بافت سینوویال مفصل زانوی بیماران مبتلا به OA نشان داده شده است که می‌تواند استیل کولین موضعی در التهاب مفاصل تولید کند که به سیستم کولینرژیک نسبت داده می‌شود. که تولید سیتوکین‌های التهابی را مهار می‌کند. همچنین تحریک کندروسیت‌های مفصلی توسط  $IL-1\beta$  یا  $TNF-\alpha$  برای انتقال هسته  $p65 NF-\kappa B$ ، دامنه وسیعی از ژن‌های کاتابولیک مانند: نیتریک اکسید سنتاز و سیکلواکسیژناز-۲ در کندروسیت‌ها را شامل می‌شود که منجر به تولید پروتئازهای مخرب و تضعیف ماتریکس خارج سلولی می‌شود. که در این مطالعه شقایق وحشی موجب

جهت اندازه‌گیری میزان  $TNF\alpha$  در مفصل زانوی رت با توجه به غلظت‌های مختلف محلول‌های استاندارد و میزان جذب‌شان، نمودار استاندارد رسم و سپس با استفاده از نمودار استاندارد (شکل ۶)، میزان غلظت  $TNF\alpha$  مربوط به هر نمونه با استفاده از میزان جذب آن، مشخص شد. میانگین گروه کنترل  $98/4 \pm 25/1$  و میانگین گروه آزمایش  $364/0 \pm 085/0$  می‌باشد و آزمون آماری تی مستقل در شرایط واریانس نابرابر مشخص کرد که اختلاف میانگین مشاهده شده بین دو گروه معنادار می‌باشد ( $p \leq 0/0001$ ) و میزان  $TNF\alpha$  در گروه آزمایش به طور معناداری کاهش پیدا کرده است.



شکل ۶- نتایج سنجش  $TNF\alpha$

## بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که عصاره شقایق وحشی می‌تواند روند OA را به طور معنی‌داری در موش‌های صحرایی مبتلا به آرتروز مدل مونسدیم یدواستات (به ویژه در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) را مهار کند. کاهش آرم و وزن پای رت‌های مبتلا با مصرف عصاره خوراکی شقایق وحشی نشان داد که آنتوسیانین (ماده موثره در شقایق وحشی) از طریق مکانیسم اثر در مهار فعالیت سلول‌های التهابی و سیتوکین‌های پیش التهابی در موش مدل مونسدیم یدواستات اثر ضد التهابی داشت (۷). همچنین کاهش سطح آنزیم کراتین کیناز MB در مایع کرونری در گروه دریافت کننده شقایق وحشی تأییدکننده این مطلب می‌باشد که وجود آنتوسیانین می‌تواند خطر CVD را کاهش دهد و باعث

H, Neer RM, Burnett-Bowie SA. Denosumab and teriparatide transitions in postmenopausal osteoporosis (the DATA-Switch study): extension of a randomised controlled trial. *Lancet*. 2011;386(9999):1147-55.

10. Karatasakis A, Danek BA, Karacsonyi J, Rangan BV, Roesle MK, Knickelbine T, Miedema MD, Khalili H, Ahmad Z, Abdullah S, Banerjee S, Brilakis ES. Effect of PCSK9 Inhibitors on Clinical Outcomes in Patients With Hypercholesterolemia: A Meta-Analysis of 35 Randomized Controlled Trials. *J Am Heart Assoc*. 2017;6(12):e006910.

11. Gazzola L, Bellistri GM, Tincati C, Ierardi V, Savoldi A, Del Sole A, Tagliabue L, d'Arminio Monforte A, Marchetti G. Association between peripheral T-Lymphocyte activation and impaired bone mineral density in HIV-infected patients. *J Transl Med*. 2013;11:51.

12. Aweid O, Haider Z, Saed A, Kalairajah Y. Treatment modalities for hip and knee osteoarthritis: A systematic review of safety. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2018;26(3):2309499018808669.

13. Miller PD. Management of severe osteoporosis. *Expert Opin Pharmacother*. 2016;17(4):473-88.

14. Saeed-Abadi S, Ranjbaran M, Jafari F, Najafi-Abedi A, Rahmani B, Esfandiari B, Delfan B, Mojabi N, Ghahramani M, Sahraei H. Effects of Papaver rhoeas (L.) extract on formalin-induced pain and inflammation in mice. *Pak J Biol Sci*. 2012;15(21):1041-4.

15. Qigliaccio S, Brama M, Malavolta N. Management of glucocorticoids-induced osteoporosis: role of teriparatide. *Ther Clin Risk Manag*. 2009. 5(2):305-10.

16. Abusnina A, Lugnier C. Therapeutic potentials of natural compounds acting on cyclic nucleotide phosphodiesterase families. *Cell Signal*. 2017;39:55-65.

17. Jing Fu, Zuping Zeng, Lu Zhang, 4'-O- $\beta$ -D-glucosyl-5-O-methylvisamminol ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis and inhibits inflammatory cytokines production by suppressing the NF- $\kappa$ B and MAPK signaling pathways, *Braz J Med Biol Res*. 2020; 53(12): e10109.

کاهش TNF- $\alpha$  در مفصل زانوی رت می باشد. از طرفی در مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان داده شده است که بین افزایش سطح مارکرهای التهابی و شیوع بالای CVD ارتباط وجود دارد.

### نتیجه گیری

با استناد به نتایج بدست آمده می توان گفت در رت های دریافت کننده دوز موثر کمترین آسیب مفصلی و بهترین عملکرد فیزیولوژیک قلبی مشاهده شده است.

### References

1. Bayazeid O, Eylem CC, Reçber T, Yalçın FN, Kır S, Nemutlu E. An LC-ESI-MS/MS method for the simultaneous determination of pronuciferine and roemerine in some Papaver species. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2018;1096:223-227.

2. Oh JH, Yun M, Park D, Ha JJ, Kim CK, Kim DW, Kim EO, Lee SG. Papaver nudicaule (Iceland poppy) alleviates lipopolysaccharide-induced inflammation through inactivating NF- $\kappa$ B and STAT3. *BMC Complement Altern Med*. 2019;19(1):90.

3. Gary T, Pichler M, Belaj K, Hafner F, Gerger A, Froehlich H, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio: a novel marker for critical limb ischemia in peripheral arterial occlusive disease patients. *PLoS One*. 2013;8:e67688.

4. Węgrzyn P, Lis G, Rudzinski P, Piatek J, Pyka-Fosciak G, Vasodilatory Efficacy and Impact of Papaverine on Endothelium in Radial Artery Predilatation for CABG Surgery: in Search for Optimal Concentration, *Braz J Cardiovasc Surg*. 2018;33(6):553-558.

5. Vchnatz PF, Marakovits KA, Dubois M, O'Sullivan DM. Osteoporosis screening and treatment guidelines: are they being followed?. *Menopause*. 2011. 18(10):1072-8.

6. Eduardo D Costa, Josiane F Silva, Rosária D Aires, Daniela C Garcia, Milhem J Kansaon, Alberto J Wainstein Neuronal nitric oxide synthase contributes to the normalization of blood pressure in medicated hypertensive patients. 2018;80:98-107.

7. Arulselvan P, Fard MT, Tan WS, Gothai S, Fakurazi S, Norhaizan ME, Kumar SS. Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:5276130.

8. Kay J, Thadhani E, Samson L, Engelward B. Inflammation-induced DNA damage, mutations and cancer. *DNA Repair (Amst)*. 2019;83:102673.

9. Leder BZ, Tsai JN, Uihlein AV, Wallace PM, Lee