

اثر روغن زیتون بکر خوراکی بر احساس درد و بروز بی‌دردی ناشی از مورفین با استفاده از تست فرمالین در موش کوچک نر

شهین شبرندی¹، نامدار یوسف وند²، فاطمه زارعی³

- 1- دانشجوی کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، ایران
- 2- نویسنده مسئول: استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. پست الکترونیکی: yousofnam@yahoo.com
- 3- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، کرمانشاه

تاریخ دریافت: 93/10/30

تاریخ پذیرش: 94/2/5

چکیده

سابقه و هدف: یکی از مهم‌ترین موضوعات در تحقیقات فیزیولوژیکی تلاش برای یافتن موادی است که باعث تسکین درد می‌شوند، لذا هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر مطلوب احتمالی روغن زیتون خوراکی بر درد حاد و مزمن و بی‌دردی ناشی از مورفین با استفاده از تست فرمالین بود.

مواد و روش‌ها: تعداد 24 سر موش سوری NMRI جنس نر به 4 گروه تقسیم شدند ($n=6$). گروه‌ها شامل: 1- گروه شم: با مصرف غذای استاندارد معمولی به همراه تزریق نرمال سالین 2- گروه تجربی (1): با مصرف روغن زیتون خوراکی بکر و بدون تزریق مورفین، 3- گروه کنترل مثبت: با مصرف غذای استاندارد معمولی به همراه تزریق مورفین، 4- گروه تجربی (2): با مصرف روغن زیتون خوراکی بکر و تزریق مورفین. زمان تیمار خوراکی 4 هفته بود. روغن زیتون بکر به مقدار 10% به خوراک حیوانات گروه‌های تیمار اضافه شد، مورفین در دوز 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت زیرجلدی تزریق گردید. درد با استفاده از آزمون فرمالین ارزیابی شد.

یافته‌ها: روغن زیتون بکر خوراکی موجب کاهش درد حاد (فاز اولیه تست فرمالین) ($p<0/001$) و درد مزمن (فاز ثانویه تست فرمالین) شد ($p<0/001$). از طرفی روغن زیتون خوراکی اثر ضد دردی مورفین را در مرحله درد مزمن تا حد زیادی افزایش داد که این کاهش درد در این مرحله از درد معنی‌دار بود ($p<0/001$).

نتیجه‌گیری: روغن زیتون بکر خوراکی دارای خاصیت ضددردی بوده و خاصیت ضددردی مورفین را افزایش می‌دهد. در واقع تجویز مورفین در حیواناتی که روغن زیتون بکر خوراکی را در رژیم غذایی مصرف کرده‌اند اثر ضد درد بیشتری دارد.

واژگان کلیدی: درد، روغن زیتون خوراکی، احساس درد، مورفین، تست فرمالین

• مقدمه

درد یک سازوکار حفاظتی در بدن است که در زمان آسیب بافتی بدن ایجاد می‌شود و شخص را وادار به درمان می‌کند. از آنجا که این حس در افراد بسیار زجرآور است، لذا انسان‌ها از گذشته به دنبال موادی برای تسکین دردهای خود بوده‌اند (1). درد غالباً به صورت درد فیزیولوژیک یا حاد و درد پاتولوژیک یا مزمن که شامل درد التهابی و درد نوروپاتی می‌باشد طبقه‌بندی می‌شود. درد حاد معمولاً شروع ناگهانی داشته و در طول فرآیند بهبود کاهش می‌یابد. درد حاد تحت عنوان «درد خوب» در نظر گرفته می‌شود، زیرا به عنوان یک مکانیسم محافظتی مهم عمل می‌کند (2). درد مزمن به عنوان «درد بد» در نظر گرفته می‌شود، زیرا بعد از بهبودی از یک آسیب، به مدت طولانی ادامه داشته و اغلب به داروهای ضد درد رایج نظیر داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی و مواد مخدر مقاوم است (3). داروهای ضد درد به دو دسته مخدر و غیرمخدر تقسیم می‌شوند. داروهای مخدر اثر ضد دردی خود را به صورت مرکزی نشان می‌دهد. از این دسته داروها می‌توان به مورفین، کدئین و هروئین اشاره کرد. استفاده طولانی مدت از داروهای مخدر منجر به

درد یک سازوکار حفاظتی در بدن است که در زمان آسیب بافتی بدن ایجاد می‌شود و شخص را وادار به درمان می‌کند. از آنجا که این حس در افراد بسیار زجرآور است، لذا انسان‌ها از گذشته به دنبال موادی برای تسکین دردهای خود بوده‌اند (1). درد غالباً به صورت درد فیزیولوژیک یا حاد و درد پاتولوژیک یا مزمن که شامل درد التهابی و درد نوروپاتی می‌باشد طبقه‌بندی می‌شود. درد حاد معمولاً شروع ناگهانی داشته و در طول فرآیند بهبود کاهش می‌یابد. درد حاد تحت عنوان «درد خوب» در نظر گرفته می‌شود، زیرا به عنوان یک مکانیسم محافظتی مهم عمل می‌کند (2). درد مزمن به عنوان «درد بد» در نظر گرفته می‌شود، زیرا بعد از بهبودی از یک آسیب، به مدت طولانی ادامه داشته و اغلب به داروهای ضد درد رایج نظیر داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی و مواد مخدر مقاوم است (3). داروهای ضد درد به دو دسته مخدر و غیرمخدر تقسیم می‌شوند. داروهای مخدر اثر ضد دردی خود را به صورت مرکزی نشان می‌دهد. از این دسته داروها می‌توان به مورفین، کدئین و هروئین اشاره کرد. استفاده طولانی مدت از داروهای مخدر منجر به

روغن زیتون به روش خوراکی بر درد و بر بی دردی ناشی از مورفین صورت نگرفته لذا هدف از این مطالعه، بررسی و مقایسه اثر روغن زیتون تازه خوراکی بر درد حاد و مزمن و همچنین پیگیری این بررسی در حضور مورفین می باشد تا روشن شود که روغن زیتون تازه خوراکی بر بی دردی حاصل از مورفین در دو مرحله حاد و مزمن چه تأثیری دارد.

• مواد و روش ها

برای انجام این تحقیق از تعداد 24 سر موش سفید نژاد NMRI نر در محدوده وزنی 20-30 گرم که از موسسه رازی ایران تهیه شده بودند، استفاده شد. حیوانات در قفس های استاندارد و در دمای 22-24 درجه سلسیوس و با سیکل تاریکی و روشنایی 12 ساعته نگهداری شدند و به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. در تست فرمالین، موش یک مدل حیوانی معتبر برای بررسی دردهای التهابی و مزمن است که تزریق فرمالین در کف پای حیوان، ایجاد یک دوره درد دو مرحله ای می کند که مرحله اول آن مربوط به تحریک مستقیم گیرنده های حس درد توسط فرمالین بوده و ظرف پنج دقیقه اول پس از تزریق فرمالین ظاهر می شود. این درد به دنبال فعال شدن مسیرهای عصبی ضد درد فیزیولوژیک، تضعیف شده و ظرف 10 تا 15 دقیقه پس از تزریق به حداقل خود می رسد. پس از این مرحله درد ناشی از واکنش های التهابی ظاهر شده و 30 تا 40 دقیقه پس از تزریق فرمالین به حداکثر خود رسیده و حدود 40 تا 60 دقیقه ادامه می یابد (16).

حیوانات پس از خو گرفتن با محیط جدید، به صورت تصادفی به 4 گروه مساوی تقسیم شدند.

- 1- گروه شم: مصرف کننده غذای استاندارد معمولی به مدت 4 هفته به همراه تزریق نرمال سالین
 - 2- گروه تجربی (1): با مصرف غذای حاوی 10% روغن زیتون خوراکی بکر به مدت 4 هفته بدون تزریق مورفین و با تزریق نرمال سالین
 - 3- گروه کنترل مثبت: مصرف کننده غذای استاندارد معمولی به مدت 4 هفته به همراه تزریق مورفین
 - 4- گروه تجربی (2): با مصرف غذای حاوی 10% روغن زیتون خوراکی بکر به مدت 4 هفته به همراه تزریق مورفین
- مورفین با دُز 10 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت زیرجلدی تزریق شد. برای تهیه غذای حاوی 10% روغن زیتون

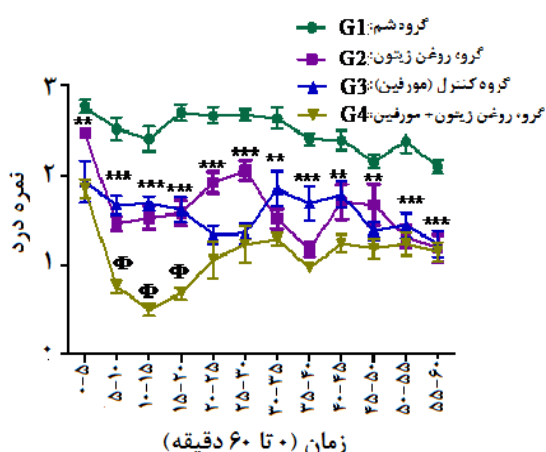
تحمل و وابستگی فیزیکی و همچنین افزایش حساسیت به درد یا هیپرآلجی می شوند (4). داروهای غیرمخدر فاقد عملکرد مرکزی بوده و اثرات ضد دردی خود را به صورت محیطی نشان می دهند. مثال عمده از این گروه داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی است که اثر خود را از طریق جلوگیری از سنتز ایکوزانوئیدها توسط مهار آنزیم سیکلواکسیژناز (Cyclo-oxygenase- COX) نشان می دهند. استفاده مکرر این داروها منجر به ایجاد تحمل یا وابستگی نمی شود، اما مهار COX-1 باعث ناراحتی های معده ای - روده ای می شود (5). استفاده از گیاهان دارویی از زمان های قدیم متداول بوده است و به دلیل در دسترس بودن و ارزان بودن این داروها استفاده از آنها رو به افزایش است. به دلیل طبیعی بودن، گیاهان دارویی عوارض کمتری دارند و جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی گردیده و به طور وسیعی در نقاط مختلف جهان به کار برده می شوند (6، 7). یکی از این گیاهان دارویی گیاه زیتون و روغن آن است. این روغن بر درد مؤثر بوده و حاوی آنتی اکسیدان هایی است که می توانند به آهستگی پروسه هایی را که در بدن درد را ایجاد می کنند کاهش دهند (8). تحقیقات اخیر نشان داده است که عصاره برگ زیتون سبب مهار جریان کلسیم به داخل سلول می گردد و احتمالاً از این طریق موجب مهار رهاسازی نوروترانسمیترها از پایانه های فیبرهای درد در شاخ خلفی نخاع می شود و در نهایت باعث کاهش درد در مرحله ی مزمن تست فرمالین می گردد (9).

روغن زیتون خالص دارای یک ماده شیمیایی طبیعی است که مانند یک داروی مسکن عمل می کند. این ماده که آن را اوله آکانتال (Oleocanthal) نامگذاری کرده اند و اثری مشابه اثر قرص های ضد درد ایبوپروفن (Ibuprofen) دارد (10). روغن زیتون در طب سنتی به صورت موضعی و خوراکی کاربرد دارد و به صورت موضعی جهت تسکین درد استفاده می شود (11). با مصرف روزانه حدود 50 گرم روغن زیتون، بدن نزدیک به 9 میلی گرم اوله کانتال دریافت می کند این مقدار یک دهم یک دُز داروی ایبوپروفن است که برای کاهش درد در یک بزرگسال تجویز می شود (10). اولئوروپین ترکیب تلخ اصلی و جزء ترکیبات فنلی در زیتون است که دارای اثرات ضد دردی می باشد (12-13). با وجود مطالعات قبلی در خصوص بررسی اثر ضد دردی روغن و اجزای دیگر زیتون (14، 15، 10) تاکنون گزارشی در خصوص بررسی اثرات ضد دردی

انحراف از معیار داده‌ها با فرمت آمار ستونی هر گروه محاسبه شد و سپس نتایج حاصل از آمار ستونی با روش آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون متعاقب توکی (Tukey) تحلیل آماری شدند (همچنین داده‌ها از روش آنالیز واریانس دو طرفه با یک عامل تکرار شونده تحلیل آماری شدند که نتیجه مشابه بود). در صورت مقایسه دو گروه با هم از روش آماری استیودنت تی تست استفاده شد. کلیه مقادیر با $p < 0/05$ معنی‌دار تلقی گردید.

• یافته‌ها

میزان واکنش به محرک دردزا (فرمالین) در کل طول زمان 60 دقیقه (نمودار 1) در گروه‌های 1-4 نشان داد که روغن زیتون خوراکی باعث کاهش معنی‌دار در پاسخ به محرک دردزا در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه شم شده است ($p < 0/001$).



نمودار 1. مقایسه کلی میزان واکنش به محرک دردزا (نمره درد) در کل طول زمان 60 دقیقه‌ای آزمون فرمالین در گروه‌های 1 تا 4 $p < 0/001$ و $p < 0/001$ ***= اختلاف معنی‌دار گروه‌ها را با گروه شم نشان می‌دهد $p < 0/001$ Φ = اختلاف معنی‌دار گروه مصرف کننده روغن زیتون* به همراه مورفین با گروه دریافت کننده مورفین (کنترل مثبت) را نشان می‌دهد. (گروه G=).

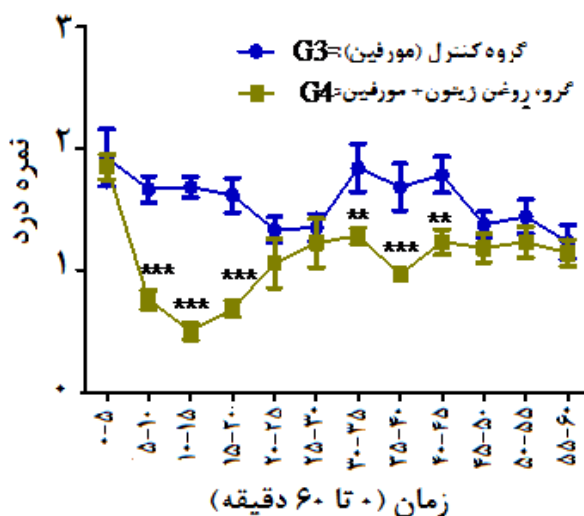
میزان واکنش به محرک دردزا طی 60 دقیقه در گروه شم در مقایسه با گروهی که روغن زیتون خوراکی مصرف کرده بودند نشان داد که روغن زیتون خوراکی باعث کاهش معنی‌دار در پاسخ به محرک دردزا در طی کل مراحل درد (زمان 60 دقیقه) در مقایسه با گروه شم شده است ($p < 0/001$) (نمودار 2).

بکر خوراکی ابتدا 90 گرم غذای استاندارد معمولی را وزن کرده، سپس 10 گرم روغن زیتون را به مدت 10 دقیقه به غذا اضافه کرده تا کاملاً روغن جذب غذا شود. گروه‌های دریافت کننده روغن زیتون تازه خوراکی و شاهد آنها در روز آزمایش، در ساعت 2 بعد از ظهر به وسیله تست فرمالین مورد ارزیابی پاسخ درد قرار می‌گرفتند. به گروه‌های تحت آزمایش تغییرات بی‌دردی حاصل از مورفین، 10 میلی گرم بر کیلوگرم مورفین و برای دیگر گروه‌ها حجم مساوی سالین به صورت زیر جلدی تزریق می‌شد. حیوانات 15 دقیقه قبل از تزریق فرمالین در جعبه شفاف قرار می‌گرفتند. جعبه شفاف دارای کف صاف و از جنس پلکسی گلاس (Plexiglass) مخصوص تست فرمالین با ابعاد 30×30×30 سانتی متر می‌باشد و به منظور مشاهده بهتر پنجه پا و حرکات حیوان، آینه‌ای با زاویه 45 درجه زیر آن و روبروی مشاهده کننده قرار گرفته است. پس از گذشت زمان 15 دقیقه، برای بررسی رفتار درد 2/2 میلی لیتر یا 20 میکرولیتر فرمالین 2/5 درصد به زیر پوست کف پای راست حیوان به صورت زیر جلدی با سرنگ انسولینی تزریق می‌شد. بلافاصله حیوان مجدداً به داخل جعبه مخصوص تست برگردانده می‌شد. حیوان بر اثر تزریق فرمالین مجموعه‌ای از رفتارها را نشان می‌داد که به آنها بر اساس روش Hunskaar و Hole نمره صفر تا 3 داده می‌شد (16). در نهایت نمره درد (Pain Score) به صورت 12 بلوک 5 دقیقه‌ای در نظر گرفته شده و میانگین نمره درد در هر بلوک 5 دقیقه‌ای بر اساس فرمول مربوطه محاسبه شد. دقایق 0-5، 10-30 و 30-60 طبق روش جلسن و همکاران به ترتیب به عنوان مراحل درد حاد، محیطی شدن درد و درد مزمن در نظر گرفته شد (17).

نمره صفر یعنی پای حیوان به طور طبیعی بر زمین است، نمره 1 یعنی حیوان پای خود را مختصری بر روی زمین قرار می‌دهد، نمره 2 یعنی پای حیوان بر زمین نیست و از آن جدا است و نمره 3 یعنی حیوان پایش را گاز می‌گیرد یا می‌لیسد. هنگامی که حیوان پا را لیسیده، جویده و یا به شدت تکان می‌داد به عنوان زمان لیسیدن در نظر گرفته می‌شد. علاوه بر روش محاسباتی ذکر شده میانگین زمان لیسیدن در فاصله زمانی بین 0-5 به عنوان فاز اول درد یا درد حاد و میانگین دقایق 16-60 به عنوان فاز درد مزمن در تست فرمالین در نظر گرفته شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار Graphpad prism نسخه 5 انجام شد، ابتدا میانگین $\pm$ متوسط

میزان واکنش به محرک دردزا در کل طول زمان 60 دقیقه‌ای آزمون فرمالین در گروه کنترل مثبت (گروه 3) یا همان گروهی که مورفین به آنها تزریق شده با گروهی که روغن زیتون خوراکی مصرف کرده و مورفین به آنها تزریق شده بود (گروه 4)، مقایسه شد. نتایج بیانگر این است که روغن زیتون خوراکی همراه با مورفین درد را بیشتر از مورفین تنها کاهش داده است ($p < 0/001$) (نمودار 3 و نمودار 5، B). اما میزان واکنش به محرک دردزا در طول زمان 5 دقیقه‌ای اول (درد حاد) در آزمون فرمالین در گروه‌های 3 و 4 در حضور مورفین، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0/05$) (ابتدای نمودار 3 و نمودار 5، A).

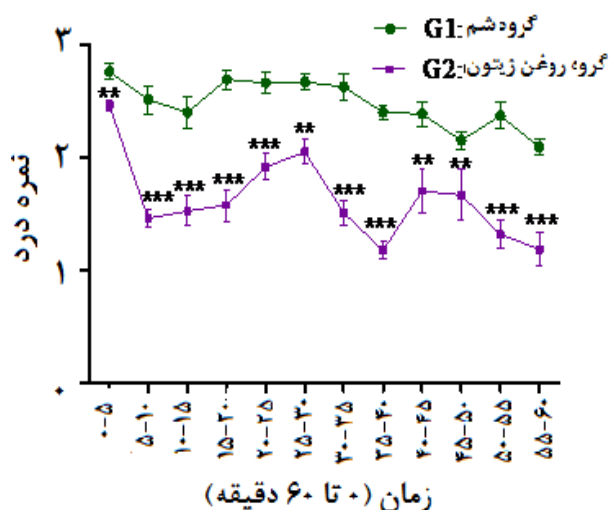


نمودار 3. مقایسه میزان واکنش به محرک دردزا (نمره درد) در کل طول زمان 60 دقیقه‌ای آزمون فرمالین در حضور مورفین (گروه‌های 3 و 4)

$p < 0/001$ و $p < 0/01$ *** اختلاف معنی‌دار گروه مصرف کننده روغن زیتون همراه با تزریق مورفین با گروه دریافت کننده مورفین (کنترل مثبت) را نشان می‌دهد.

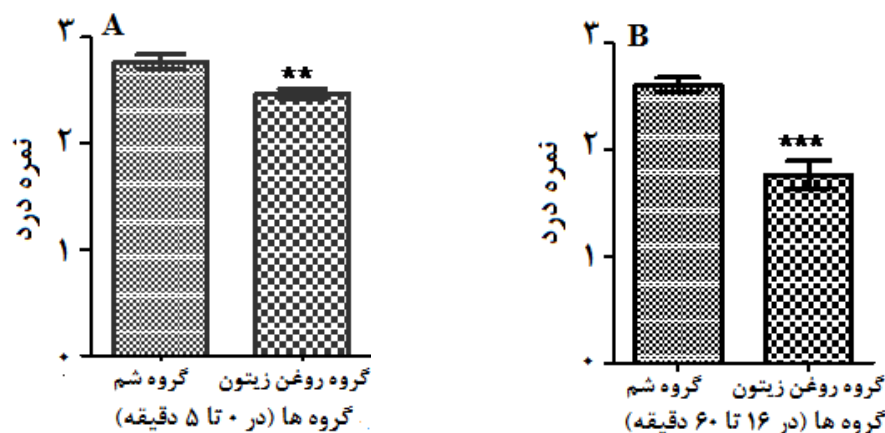
میزان واکنش درد در طول زمان 5 دقیقه‌ای اول (درد حاد) در تست فرمالین در گروه‌های شم (گروه 1) و گروه دریافت کننده روغن زیتون (گروه 2) مقایسه شد. در این مرحله از واکنش به محرک دردزا اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های 1 و 2 مشاهده می‌شود ($p < 0/01$) (نمودار 4، A).

میزان واکنش به محرک دردزا در طول زمان 60-16 دقیقه (درد مزمن) در آزمون فرمالین در گروه‌های 1 و 2 مقایسه شد، که این مقایسه به روشنی بیانگر اختلاف معنی‌دار گروه شم با گروه دریافت کننده روغن زیتون خوراکی در این فاز از درد بود ($p < 0/001$) (نمودار 4، B).

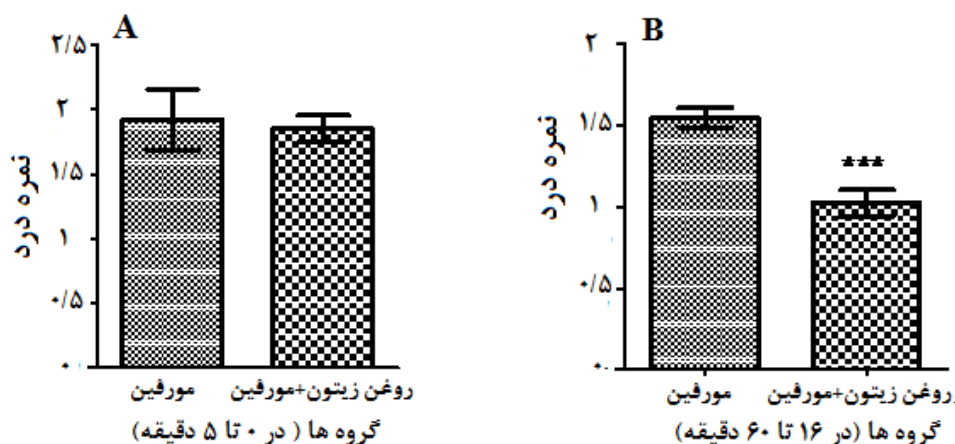


نمودار 2. مقایسه کلی میزان واکنش به محرک دردزا (نمره درد) در کل طول زمان 60 دقیقه‌ای آزمون فرمالین در گروه‌های 1 و 2 (بدون حضور مورفین).

$p < 0/001$ و $p < 0/01$ *** اختلاف معنی‌دار گروه شم با گروه دریافت کننده روغن زیتون خوراکی را نشان می‌دهد.



نمودار 4. مقایسه میزان واکنش به محرک دردزا (نمره درد) در گروه‌های 1 و 2، A. در زمان 0 تا 5 دقیقه‌ای (درد حاد) آزمون فرمالین بدون حضور مورفین B. در زمان 16 تا 60 دقیقه‌ای (درد مزمن) آزمون فرمالین بدون حضور مورفین *** = (p<0/001) و ** = (p<0/01) اختلاف معنی‌دار گروه شم با گروه دریافت کننده روغن زیتون خوراکی را به ترتیب در درد حاد و مزمن نشان می‌دهد.



نمودار 5. مقایسه میزان واکنش به محرک دردزا (نمره درد) در گروه‌های 3 و 4، A. در زمان 0 تا 5 دقیقه‌ای (درد حاد) آزمون فرمالین در حضور مورفین B. در زمان 16 تا 60 دقیقه‌ای (درد مزمن) آزمون فرمالین در حضور مورفین *** = (p<0/001) اختلاف معنی‌دار نمره درد مزمن را در گروه مصرف کننده روغن زیتون همراه با تزریق مورفین در مقایسه با گروه دریافت کننده مورفین (کنترل مثبت) را نشان می‌دهد.

• بحث

فرمالین در دو فاز اولیه (5-0 دقیقه) و ثانویه (60-16 دقیقه) بررسی می‌شوند. فاز اولیه به منظور بررسی درد نروژنیک است. ماده P و برادی کینین در ایجاد درد القاء شده در این فاز نقش دارند. فاز ثانویه نیز به منظور بررسی درد التهابی است. این مرحله مربوط به تغییرات عملکرد در شاخ خلفی و حساس شدن نورون‌های مرکزی و نیز واکنش‌های التهابی در بافت‌های محیطی، به علت وجود موادی نظیر هیستامین، پروستاگلندین‌ها و برادی کینین است (20، 19). در صورتی

در تحقیق حاضر برای بررسی اثرات روغن زیتون بر میزان واکنش به محرک دردزا از تست فرمالین استفاده شد، زیرا در میان مدل‌های مختلف تست درد، تست فرمالین به عنوان یک مدل معتبر تحقیقاتی شناخته شده است (17، 16). در درد القا شده با فرمالین، رسپتورهای گلوتاماتی NMDA (N-methyl D-aspartate) به واسطه آبشار اتفاقاتی که در طناب نخاعی روی می‌دهد منجر به حساس سازی مرکزی می‌شوند (18). رفتارهای القاء شده توسط تزریق زیر جلدی

که ماده مورد نظر فقط در فاز ثانویه اثر داشته باشد، دارای تأثیر محیطی بوده و داروهایی با تأثیر مرکزی هر دو فاز را به یک میزان کاهش می‌دهند (20).

یافته‌های پژوهش حاضر مؤید این است که روغن زیتون خوراکی در موش کوچک آزمایشگاهی قادر به اعمال اثر ضد-دردی در هر دو مرحله درد ناشی از تزریق فرمالین بوده است و خاصیت ضددردی مورفین را در مرحله مزمن درد افزایش می‌دهد. نتایج مطالعه حاضر مؤید آن دسته از گزارشاتی است که بیان می‌دارند عصاره برگ درخت زیتون موجب افزایش بی‌دردی ناشی از مورفین و کاهش احتمالی حساسیت گیرنده-های درد و در نتیجه کاهش درد می‌شود (14). این یافته بدین معنی است که روغن زیتون، حاوی مواد ضدالتهابی بوده و نیز توان تقویت مسیرهای عصبی مرکزی مهارکننده درد را دارد. در تحقیقی نشان داده شده است که روغن زیتون در کاهش درد التهابی مؤثر بوده اما تأثیری بر کاهش درد نورونیک (فاز اولیه تست فرمالین) ندارد (15). نتایج این آزمایش، در قسمت اثر روغن زیتون بر درد مزمن (فاز ثانویه) با یافته حاصل از آزمایش ما همخوانی دارد. براساس یافته‌های موجود، ترکیبات شیمیایی ضد دردی متعددی از روغن زیتون جدا شده‌اند از جمله ترکیبات فنولی الئوروپین و اولئوکانتال (مسئول ایجاد طعم تلخ در روغن زیتون) (21، 10)، توکوفرول ها (به‌عنوان ویتامین E فعال) (23، 22)، متابولیت‌های توکوفرول (آلفا توکوفرول، گاما توکوفرول) (24)، هیدروکسی تیروزول (25)، اسیدهای چرب اسید اولئیک، اسید لینولئیک و اسید آلفالینولئیک که موجب رفع التهاب و تسکین درد می‌شوند (26، 27). اولئوکانتال همان‌طور که گفته شد کاهنده درد است و عملکردی مشابه داروهای ضدالتهاب غیر استروئیدی دارد. آنزیم مخصوصی بنام آنزیم سیکلواکسیژناز در بدن سبب آغاز پروسه‌ی درد می‌شود. اولئوکانتال مانند کلیدی است که این آنزیم مخصوص را قفل می‌کند و از آغاز پروسه درد جلوگیری می‌کند (10). با توجه به این که ترکیبات شیمیایی موجود در روغن زیتون می‌توانند بیش از یک عمل داشته باشند، پس می‌توان احتمال داد که اثرات ضد دردی خود را از طریق مکانیسم‌های مختلف اعمال می‌کنند. احتمالاً روغن زیتون با فعال نمودن سیستم‌های دخالت‌کننده در مسیرهای ضد دردی مانند مسیر گابا/آزبیک، کولینرژیک، گلوتاماترژیک اثرات خود را اعمال می‌کند (15). با توجه به اثرات ضد دردی زیتون در رژیم غذایی احتمالاً بعضی از این ترکیبات از طریق جذب گوارشی می‌توانند اثر ضد دردی خود را اعمال نمایند.

نتایج برخی از تحقیقات قبلی مؤید این است که عصاره برگ زیتون و ترکیبات آن بر اعصاب مرکزی نیز اثر گذاشته و باعث کاهش درد می‌شوند به نظر می‌رسد عصاره برگ زیتون فعالیت کانال‌های کلسیمی را بلوکه می‌کند و سبب کاهش نفوذپذیری نسبت به کلسیم می‌شود (28) و کاهش نفوذپذیری به کلسیم هم از آزاد شدن واسطه‌های عصبی جلوگیری می‌کند (9). این اثر مشاهده شده از عصاره برگ گونه *olea europaea* به جزء اصلی اولئوروپین نسبت داده شده است. اثر ضد دردی روغن زیتون در مرحله دوم تست فرمالین ممکن است ناشی از اثرات ضد التهابی آن باشد. این قسمت از یافته‌ها، گزارش عیدی و همکاران (1390) را مبنی بر این که روغن زیتون در موش کوچک آزمایشگاهی باعث کاهش درد مزمن (درد التهابی) می‌شود تأیید می‌کند (15). روغن زیتون پاسخ به محرک دردزا در محیطی شدن درد (زمان 30-10 دقیقه) و مرحله مزمن درد (زمان 60-16 دقیقه) را کاهش داد، این کاهش درد در گروه دریافت‌کننده روغن زیتون در مقایسه با گروه شم در هر دو مرحله معنی‌دار بود. در پایان پیشنهاد می‌شود از سایر ضد دردها مثل تریاک، دیکلوفناک به جای مورفین استفاده شود تا نتایج آن، با یافته‌های این مطالعه مقایسه گردد. همچنین با استفاده از روش‌های دیگر سنجش درد، در آزمایش‌های مشابهی می‌توان یافته‌های این مطالعه را مورد بررسی و تحلیل بیشتری قرار داد.

روغن زیتون بکر خوراکی دارای خاصیت ضددردی بوده و خاصیت ضددردی مورفین را در فاز درد مزمن افزایش می‌دهد. در واقع تجویز مورفین در حیوانی که روغن زیتون بکر خوراکی را در رژیم غذایی مصرف کرده اثر ضد درد بیشتری دارد. با توجه به اثرات ضد دردی زیتون در رژیم غذایی احتمالاً بعضی از ترکیبات ضد درد موجود در روغن زیتون از طریق جذب در سیستم گوارش می‌توانند اثر ضد دردی خود را اعمال نمایند.

سپاسگزاری

این مقاله از پایان‌نامه دانشجوی کارشناسی ارشد خانم شهین شبرندی و تحت راهنمایی نامدار یوسف وند استخراج گردید. نویسندگان این مقاله از مسئولین دانشکده علوم دانشگاه رازی کرمانشاه که زمینه مساعد انجام این مطالعه را فراهم نمودند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آورند.

• References

1. Hardt J, Jacobsen C, Goldberg J, Nickel R. and Buchwal D. Prevalence of chronic pain in a representative sample in the United States. *Pain Med.* 2008; 9(7): 803-12.
2. Bordin P. Differential inhibition of A, B and C fibers in the rat vagus nerve by lidocaine, eugenol and formaldehyde. *Arch Oral Biol.* 1985; 30: 477-80.
3. Lynn B. Cutaneous nociceptors in Holden, AV & Winlow, W. The neurobiology of pain. Manchester, UK: Manchester University Press 1984. p. 106.
4. Mangione MP, Crowley-Matoka M. Improving pain management communication: how patients understand the terms "opioid" and "narcotic". *J Gen Intern Med* 2008; 23(9):1336-8.
5. Rostom A, Dubé C, Lewin G, Tsertsivadze A, Barrowman N, Code C, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-2 inhibitors for primary prevention of colorectal cancer: a systematic review prepared for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2007; 146(5): 376-89.
6. Hosseinzadeh H, Haddad khodaparast M, Shokoohizadeh H. Anti hyperglycemic effect of *Salvia leriifolia* Benth. Leaf and seed extract in mice. *Iran J Med Sci* 1998; 23:74- 80 [in Persian].
7. Huang ZR, Lin YK, Fang JY. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: potential uses in cosmetic dermatology. *Molecules* 2009; 14(1): 540-54.
8. Benavente Garcia O, Castillo J, Lorente J, Ortuno A, Del Rio JA. Antioxidant activity of phenolic extracted from *olea europaea* L. leaves. *Food Chem J.* 2000; 68: 457-562.
9. Gilani AH, Khan A, Shah AJ, Connor J, Jabeen Q. Blood pressure lowering effect of olive is mediated through calcium channel blockade. *Int J Food Sci Nutr* 2005; 56: 613-20 [in Persian].
10. Beauchamp GK, Keast RS, Morel D, Lin J, Pika J, Han Q, et al. Phytochemistry: ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. *Nature* 2005; 437(7055):45-6.
11. Zargari A. Medicinal plants, 6th ed. Tehran: Tehran University: 2003. p. 619-27 [in Persian].
12. Huang ZR, Lin YK, Fang JY. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: potential uses in cosmetic dermatology. *Molecules* 2009; 14(1): 540-54.
13. Owen RW, Haubner R, Würtele G, Hull E, Spiegelhalder B, Bartsch H. Olives and olive oil in cancer prevention. *Eur J Cancer Prev* 2004; 13(4):319-26.
14. Esmaeili-Mahani S, Rezaeizadeh-Roukerd M, Esmaeilpour K, Abbasnejad M, Asoulian B, Sheibani V. Olive (*Olea europaea* L.) leaf extract elicits antinociceptive activity, potentiates morphine analgesia and suppresses morphine hyperalgesia in rats. *J Ethenopharmacol* 2010; 132: 200-5.
15. Eidi A, Moghadam-kia S, Zarringhalam Moghadam J, Rezazadeh S, Eidi M. Antinociceptive effect of olive oil (*Olea europaea* L.) on mice. *AMUJ* 2011; 14(57): 52-9 [in Persian].
16. Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain.* 1987; 30(1):103-14.
17. Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evolution of the method. *Pain* 1992; 51, 5-17.
18. Sevostianova N, Danysz W, Bessalov AY. Analgesic effects of morphine and loperamide in the rat formalin test: interactions with NMDA receptor antagonists. *Eur J Pharmacol* 2005; 525(1-3):83-90.
19. Franklin BJ, Abbott FR. Pentobarbital, diazepam and ethanol abolish the interphase diminution of pain in the formalin test: evidence for pain modulation by GABA receptor. *Pharmacol Biochem Behav* 1993; (46): 661-66.
20. Zeashan H, Amresh G, Rao CV, Singh S. Antinociceptive activity of *amaranthus spinosus* in experimental animals. *J Ethnopharmacol* 2009; 122(3):492-6.
21. Bourquelot E, Vintilescu JCR. *Hebd. Seances Acad. Sci* 1908; 147: 533-5.
22. Lalas S, Gortzi O, Tsaknis J, Sflomos K. Irradiation effect on oxidative condition and tocopherol content of vegetable oils. *Int. J. Mol. Sci* 2007; 8(6): 533-40.
23. Michael Eskin N, McDonald B, Przybylski R, Malcolmson L, Mag T, et al. *Canola oil*. In: *Baileys industrial oil and fat products*. 5th ed. New York: Wiley 1996. p. 1-95.
24. Grammas P, Hamdheydari L, Benaksas EJ, Mou S, Pye QN, Wechter WJ, et al. Anti-inflammatory effects of tocopherol metabolites. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 319(3):1047-52.
25. Visioli F, Bellosa S, and Galli C. Oleuropein the bitter principle of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. *Life Sci* 1998; 62: 541-546.
26. Kapoor R, Huang YS. Gamma linolenic acid: an anti-inflammatory omega-6 fatty acid: *Curr Pharm Biotechnol* 2006; 7(6):531-4.
27. Vassiliou EK, Gonzalez A, Garcia C, Tadros JH, Chakraborty G, Toney JH. Oleic acid and peanut oil high in oleic acid reverse the inhibitory effect of insulin production of the inflammatory cytokine TNF-alpha both in vitro and in vivo systems. *Lipids Health Dis* 2009; 8:25.
28. Scheffler A, Rauwald HW, Kampa B, Mann U, Mohr FW, Dhein S. *Olea europaea* leaf extract exerts L-type Ca²⁺-channel antagonistic effects. *J Ethnopharmacol.* 2008; 120: 233-240.

Effect of Dietary Virgin Olive (*Olea europaea*) Oil on Nociception and Its Effect on Morphine-induced Analgesia in Male Mice Using Formalin Test

Shabrandi Sh¹, Yousofvand N^{*2}, Zarei F³

1- MSc Students of Animal Physiology, Hamedan Branch of Islamic Azad University, Hamadan, Iran

2- *Corresponding author: Assistant professor of Animal Physiology, Department of Biology, Faculty of Science, Razi University, Kermanshah, Iran. Email: Yousofvand@yahoo.com

3- Master of Science in Animal physiology, Department of Biology, Faculty of Science, Razi University, Kermanshah, Iran

Received 20 Jan, 2015

Accepted 25 Apr, 2015

Background and Objectives: One of the important objectives of physiological investigations is to find substances involved in pain relieving. This study investigated the effects of dietary virgin olive oil on acute and chronic pain and morphine analgesia in male mice using formalin test.

Materials & Methods: 24 male NMRI mice were randomly divided into 4 groups, 6 animals in each group (n=6): 1) Sham group, consumption of standard diet during experiment, 2) Experimental group I, consumption of standard diet with olive oil but without receiving morphine, 3) Control group, consumption of standard diet and received morphine, and 4) Experimental group II, consumption of standard diet with olive oil and receiving morphine. Oral treatment period was 4 weeks. 10% olive virgin oil was added to standard diet, and morphine (10 mg/kg body weight), as standard drug, was injected subcutaneously. Pain was evaluated by using the formalin test.

Results: Oral administration of virgin olive oil could decrease neurogenic pain (the first phase of the formalin test) ($p < 0.001$) and inflammatory pain (the second phase of the formalin test) ($p < 0.001$). Furthermore, edible virgin olive oil somewhat increased the analgesic effect of morphine in the chronic pain phase significantly ($p < 0.001$).

Conclusion: Oral administration of virgin olive oil has analgesic properties, and increases morphine's analgesic effect. In fact, morphine in animals that have consumed edible virgin olive oil in their diet has more pain-relieving effect.

Keywords: Pain, Edible olive oil, Nociception, Morphine, Formalin test