

بررسی اثر محافظتی و درمانی اولئورزین سقز (*Pistacia atlantica*) در کولیت اولسروز القا شده توسط اسید استیک در موش صحرایی

سحر فرخی^۱، غلامرضا بهرامی^۲، عاطفه بابایی^۲، محمدحسین فرزایی^{۲*}

۱- کمیته تحقیقات دانشجویان، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۲- مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

*آدرس مکاتبه: کرمانشاه، بلوار شهید بهشتی، ساختمان مرکزی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، مرکز تحقیقات

علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، صندوق پستی: ۶۷۱۴۵-۱۶۷۳

تلفن: ۳۴۲۷۶۴۸۹ (۰۸۳)، ۳۴۲۶۶۷۸۰ (۰۸۳)، نمابر: ۳۴۲۷۶۴۹۳ (۰۸۳)

پست الکترونیک: mh.farzaei@gmail.com

doi: 10.29252/jmp.4.72.135

تاریخ تصویب: ۹۷/۵/۳۰

تاریخ دریافت: ۹۷/۴/۳

چکیده

مقدمه: کولیت اولسروز یک بیماری التهابی، مزمن و عودکننده دستگاه گوارش است که منشأ آن ناشناخته می‌باشد. در طب سنتی ایران اولئورزین سقز در درمان اختلالات گوارشی از جمله زخم‌های گوارشی، مشکلات سوءهاضمه و التهابات روده کاربرد دارد. هدف: در این مطالعه اثرات درمانی و محافظتی اولئورزین سقز در کولیت القا شده توسط اسید استیک در موش صحرایی را بررسی می‌کنیم.

روش بررسی: اولئورزین سقز حل شده در توئین ۸۰ (۱% v/v)، با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به روش خوراکی به حیوانات تجویز شد. در روش درمانی سه روز پس از القای کولیت، موش‌ها به مدت ۶ روز تحت درمان قرار گرفتند و پس از تعیین مؤثرترین دوز در روش درمانی، در روش محافظتی حیوانات به مدت ۶ روز با دوز بهینه صمغ، تحت درمان قرار گرفته و سپس کولیت القا شد و به مدت ۳ روز دیگر درمان ادامه یافت. در انتها جهت بررسی‌های میکروسکوپی و ماکروسکوپی، حیوانات بوسیله اتر بیهوش و کولون حیوانات خارج شد.

نتایج: در روش درمانی اولئورزین سقز به صورت وابسته به دوز اثرات چشمگیری در القای بهبودی در کولیت القا شده توسط اسید استیک در موش نشان داد ($P < 0/05$) اما در روش محافظتی تفاوت قابل توجهی میان گروه‌های درمان و کنترل منفی مشاهده نشد ($P > 0/05$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه اثرات مفید ضد التهابی و ترمیم زخم اولئورزین سقز در درمان کولیت القا شده توسط اسید استیک در موش صحرایی را نشان داد.

کل واژگان: اولئورزین سقز، طب سنتی ایران، کولیت اولسروز، موش صحرایی



مقدمه

بیماری التهابی روده (IBD) یکی از مهم‌ترین بیماری‌های دستگاه گوارش است که به شکل پیش رونده، مزمن و بی‌ثبات ظاهر می‌شود [۱].

این بیماری مخاط دستگاه گوارش را به شکل جزئی و یا کامل تحت تأثیر قرار می‌دهد. علی‌رغم اتیولوژی ناشناخته بیماری عوامل متعددی از جمله عوامل ژنتیکی، عوامل میکروبی، عوامل ایمنولوژیکی، عوامل محیطی و ... در بروز این بیماری مؤثر هستند [۲].

از عوامل محیطی اثرگذار در کولیت اولسراتیو می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

سیگار [۳]، استفاده از داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی [۴]، استرس [۵]، عوامل میکروبی [۶]، آپاندکتومی [۷]، استرس اکسیداتیو و کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها [۸].

واژه IBD شامل دو بیماری اصلی می‌باشد که عبارت است از بیماری کرون (CD) و کولیت اولسراتیو (UC) [۹] که در برخی ویژگی‌های بالینی و پاتولوژیکی مشترک و در برخی متمایز هستند [۱۰].

پاتولوژی بیماری بوسیله انفیلتراسیون سلول‌های التهابی، تورم، زخم و رهایش مدیاتورهای لیپیدی مشخص می‌شود [۱۱].

بیماری التهابی روده بوسیله دردهای شکمی، خونریزی رکتال و اسهال‌های شدید مشخص می‌شود که به شدت زندگی افراد بیمار را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۱۲].

کولیت یک بیماری مزمن می‌باشد که با التهاب و زخم در کولون همراه است [۱۳]. از ویژگی‌های بارز این بیماری دفع به شکل اسهال خونی می‌باشد. این بیماری با دوره‌های بهبودی و عود که ممکن است به صورت خود به خود یا در پاسخ به درمان رخ دهند، شناخته شده است [۱۴].

در پی فعال شدن سیستم ایمنی روده در کولیت اولسراتیو رادیکال‌های آزاد، پروستاگلاندین‌ها، سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا ($TNF-\alpha$)، لوکوترین‌ها و ... تولید می‌شوند [۱۵].

درمان‌های مختلفی شامل ضد التهاب‌ها (آمینوسالیسیلات و کورتیکواستروئیدها) [۱۶، ۱۷]، تعدیل‌کننده‌های سیستم ایمنی

[۱۸]، آنتی‌بیوتیک‌ها [۱۹]، ضد $TNF-\alpha$ [۲۰] و پروبیوتیک‌ها [۲۱] در درمان کولیت اولسراتیو استفاده می‌شوند. اما تا به حال درمان قطعی برای این بیماری کشف نشده است، لذا تحقیق و بررسی به منظور کشف داروهایی با مکانیسم جدید، کارایی مناسب، عوارض جانبی کمتر و پنجره درمانی مناسب منطقی و ضروری به نظر می‌رسد.

هر دو جنس در این بیماری به صورت یکسان تحت تأثیر قرار می‌گیرند [۲۲].

بیشترین میزان وقوع این دو بیماری در کشورهای پیشرفته و غربی بویژه در میان سفید پوستان اروپا و شمال آمریکا دیده می‌شود [۲۲].

پیک اول این بیماری در سن ۳۰-۱۵ [۲۳] و پیک دوم در سنین ۵۰ تا ۷۰ سالگی به وقوع می‌پیوندد [۲۴].

در آسیا به علت استفاده از رژیم غذایی حاوی فلاونوئیدهای مختلف که نقش محافظتی در برابر IBD دارند میزان وقوع این بیماری کمتر است [۲۵].

میزان بروز این بیماری در ایالت متحده حدود ۲۰-۱ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر و میزان شیوع آن ۸-۲۴۶ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر است [۲۶].

Pistacia atlantica یکی از گونه‌های متعلق به خانواده آناکاردیاسه (Anacardiaceae) می‌باشد [۲۷].

جنس *Pistacia* متعلق به خانواده آناکاردیاسه می‌باشد که شامل ۱۵ گونه‌ی مختلف می‌باشد و تنها سه گونه آن در ایران رشد می‌کند [۲۸].

اولئورزین سقر در بیش از ۱۲۰۰۰۰۰ هکتار از ارتفاعات زاگرس و نواحی از شرق و مرکز ایران پراکنده شده است [۲۹].

در طب سنتی اولئورزین سقر در درمان بیماری‌های کلیوی و کبدی [۳۰]، اختلالات گوارشی مانند زخم‌های معده، مشکلات سوهاضمه، اسهال، دیس پپسی و ... از بیش از ۲۵۰۰ سال پیش به کار می‌رود [۳۱].

میوه درخت توسط مردم محلی بعد از آسیاب شدن و ترکیب کردن با سایر مواد در تهیه غذا به کار می‌رود. همچنین روغن پوست و هسته به عنوان روغن غذا به کار برده می‌شود [۲۹].



اسید ۴ درصد کولیت القا شد. بعد از گذشت ۷۲ ساعت و القای کامل کولیت درمان حیوانات بوسیله گاوواژ داخل معدی آغاز و به مدت شش روز درمان ادامه یافت. در پایان روز ششم حیوانات بوسیله اتر بیهوش و کولون حیوانات خارج شد. رت‌ها به صورت تصادفی به شش گروه شش‌تایی تقسیم شدند که به شرح زیر است:

گروه کنترل منفی، گروه کنترل مثبت (دریافت سولفاسالازین با دوز 500 mg/kg)، گروه دریافت‌کننده توئین ۸۰ ۱ درصد حجمی-حجمی، گروه دریافت‌کننده اولئورزین سقز با دوز 100 mg/kg ، گروه دریافت‌کننده اولئورزین سقز با دوز 200 mg/kg ، گروه دریافت‌کننده اولئورزین سقز با دوز 400 mg/kg .

گروه محافظتی: در روش محافظتی حیوانات به مدت شش روز با دوز بهینه عصاره گیاه و سولفاسالازین تحت درمان قرار گرفتند. سپس در پایان روز ششم کولیت القا شد و همچنان به مدت ۷۲ ساعت دیگر تا القای کامل کولیت درمان ادامه یافت. در پایان حیوانات مورد جراحی قرار گرفتند. رت‌ها به صورت تصادفی به سه گروه شش‌تایی تقسیم شدند که به شرح زیر است: گروه کنترل منفی، گروه کنترل مثبت (دریافت سولفاسالازین با دوز 500 mg/kg)، گروه دریافت‌کننده اولئورزین سقز با دوز 400 mg/kg .

القای کولیت: حیوانات قبل از القای کولیت به مدت ۲۴ ساعت درحالت ناشتا بوده سپس توسط تزریق داخل صفاقی کتامین بیهوش شده و ۱ میلی‌لیتر اسید استیک ۴ درصد [۳۶] به صورت داخل کولونی به رت‌ها تجویز شد.

بررسی میزان التهاب و آسیب بافت کولون

بررسی ماکروسکوپی: رت‌ها در روزهای تعیین شده در گروه‌های مختلف درمانی و محافظتی توسط آوردوز اتر کشته شدند و میزان ۷ سانتی‌متر از بافت کولون آنها جدا شد. با توجه به وسعت زخم، شدت التهاب و پرخونی مطابق جدول شماره ۱ و بر اساس سیستم اسکوربندی جرالد اسکوربندی شدند [۳۷].

از جمله اثرات مختلفی که تا به حال از اولئورزین سقز شناسایی شده است می‌توان به اثر آنتی‌اکسیدانی [۲۹]، اثر ضد التهابی [۱]، اثر آنتی‌میکروبیال علیه استاف اورئوس، اشرشیاکلاهی و ... [۳۲]، التیام زخم‌های پوستی [۲۷] و ... اشاره کرد.

درمان لیشمانيوز جلدی [۳۱]، درمان اختلالات قلبی-عروقی [۲۹]، درمان دیابت [۳۳]، درمان اختلالات گوارشی [۳۱] و اثرات ضد قارچی [۳۴] سایر ویژگی‌های شناخته شده اولئورزین سقز می‌باشد.

در این مطالعه ما اثربخشی اولئورزین سقز در درمان کولیت القا شده در موش صحرایی توسط اسید استیک را بررسی می‌کنیم.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: اولئورزین سقز از شاخه و تنه درختان از ارتفاعات زاگرس در کرمانشاه از غرب ایران جمع‌آوری و سپس توسط آقای دکتر امین (گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران با شماره PMP-818) شناسایی شد. گیاه در شرایط مناسب دمایی و رطوبتی نگهداری شد. برای آماده‌سازی محلول اولئورزین، اولئورزین سقز حل شده در توئین ۸۰ ۱ درصد حجمی-حجمی [۳۵] دقیقاً قبل از تجویز تهیه شد.

مواد شیمیایی: در این مطالعه سولفاسالازین (شرکت داروسازی مهردارو)، توئین ۸۰ (شرکت آدونیس گل دارو)، کتامین (Alfasan-(Holland)، اتر (دکتر مجللی)، فرمالین (دکتر مجللی) و اسید استیک (مرک) همچنین استفاده شدند.

حیوانات: تعداد ۶۰ سرموش صحرایی ماده از نژاد ویستار با وزن 180 ± 20 در حیوان‌خانه دانشکده داروسازی جهت تطبیق با شرایط جدید به مدت یک هفته قبل از آغاز آزمایش در شرایط استاندارد با دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و سیکل روشنایی ۱۲ ساعت روشنایی / تاریکی نگهداری شدند [۱]. موش‌ها به نه گروه که هر گروه شامل شش موش بود، تقسیم شدند.

گروه‌های حیوانات

گروه درمانی: در روش درمانی حیوانات بوسیله تزریق داخل صفاقی کتامین بیهوش سپس بوسیله یک میلی‌لیتر استیک



بررسی میکروسکوپی: پس از خروج کولون و فیکس کردن در فرمالین ۱۰ درصد، نمونه‌ها به متخصص پاتولوژی به منظور تهیه لام و ارزیابی لام‌ها بدون اطلاع از گروه‌های نرمال و گروه‌های در معرض اسید قرار گرفته، تحویل داده شد، نمونه‌ها با استفاده از روش اصلاح شده والاس مطابق جدول شماره ۲ ارزیابی شدند [۳۷].

اندازه‌گیری وزن کولون

در روز پایانی میزان هفت سانتی‌متر از بافت کولون رت‌ها جدا و وزن کولون رت‌های مختلف با استفاده از ترازوی با دقت بالا اندازه‌گیری شد.

آنالیز داده‌ها

به منظور بررسی آنالیز آماری از آزمون one-ANOVA way و مقایسه میانگین‌ها و سپس توسط روش Duncan با نرم‌افزار SPSS استفاده شد. نتایج به صورت میانگین $\pm$ SEM و در سطح ($P < 0.05$) گزارش شد.

بررسی میزان تغییرات وزن و آب و غذای مصرفی

وزن حیوانات از روز اول تا پایان مطالعه با استفاده ترازوی مخصوص توزین رت‌ها اندازه‌گیری و ثبت شد. همچنین میزان تغییرات مصرف آب و غذا در یک ساعت مشخص و طی روزهای متوالی مطالعه، ثبت شد.

جدول شماره ۱- معیارهای نمره‌گذاری آسیب بافتی در نمای ظاهری در بیماران مبتلا به کولیت [۳۷]

معیارهای نمره‌گذاری بیماری التهابی روده براساس آسیب مورفولوژیک (روش جرالده)

شکل ظاهری	نمره
بدون آسیب	۰
پرخونی موضعی، اما بدون زخم	۱
زخم خطی بدون التهاب چشمگیر	۲
زخم خطی با التهاب در یک نقطه	۳
دو یا چند زخم با/ بدون التهاب	۴
دو یا چند نقطه التهاب و زخم یا یک ناحیه گسترده از التهاب و زخم با طول بیشتر از یک سانتیمتر در طول کولون	۵

جدول شماره ۲- ارزیابی پاتولوژیک با استفاده از روش اصلاح شده والاس [۳۷]

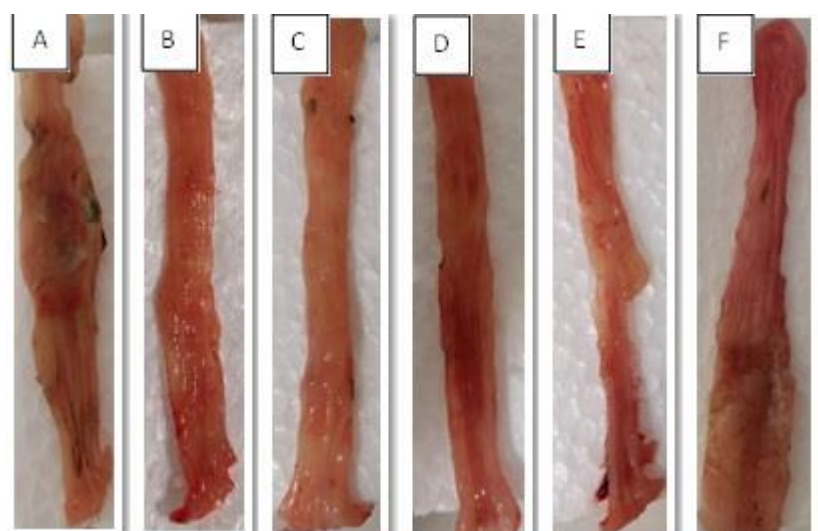
التهاب			عمق ضایعه				فیبروز		
عدم التهاب	خفیف	متوسط	شدید	عدم ضایعه	لامینا پروپریا	زیر مخاط	عضله	سروز	عدم فیبروز
+	++	+++	-	+	++	+++	++++	+-	++



نتایج

نتایج بررسی میزان التهاب و آسیب بافت کولون

نتایج بررسی ماکروسکوپیک گروه درمان: در بررسی ماکروسکوپیک کولون رت‌ها در گروه‌های مختلف که در شکل شماره ۱ آمده است، از روش جرالده بر اساس شدت التهاب، وسعت زخم موکوس و پرخونی برای نمره‌دهی گروه‌های مختلف استفاده شد که نتایج مطابق جدول شماره ۳ می‌باشد. ۹



شکل شماره ۱- بافت کولون رت‌های گروه‌های درمانی (ماکروسکوپیک) ۹ روز پس از القای کولیت با استفاده از اسید ۴٪ (A) کنترل منفی (کولیت اولسروز)، (B) کنترل مثبت (سولفاسالازین)، (C) دوز ۱۰۰ mg/kg (D) دوز ۲۰۰ mg/kg (E) دوز ۴۰۰ mg/kg (F) توئین

جدول شماره ۳- نمره‌دهی آسیب بافتی بر اساس روش جرالده در رت‌های گروه‌های درمانی و محافظتی. نه روز پس از القای کولیت با استفاده از اسید.

نمره	معیارهای نمره گذاری بیماری التهابی روده براساس آسیب مورفولوژیک (روش جرالده)
درمانی	
0.33 ± 0.08^a	کنترل مثبت (سولفاسالازین)
0.67 ± 0.08^a	۴۰۰ mg/kg
1.92 ± 0.15^b	۲۰۰ mg/kg
1.71 ± 0.25^b	۱۰۰ mg/kg
4.5 ± 0.22^c	کنترل منفی
4.59 ± 0.14^c	توئین
محافظتی	
3.75 ± 0.16^a	کنترل مثبت (سولفاسالازین)
4.25 ± 0.093^b	۴۰۰ mg/kg
4.75 ± 0.093^c	کنترل منفی

SEM: انحراف معیار $\pm$ میانگین. میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف غیرمشترک هستند، اختلاف معنی‌دار دارند. $P < 0.05$.

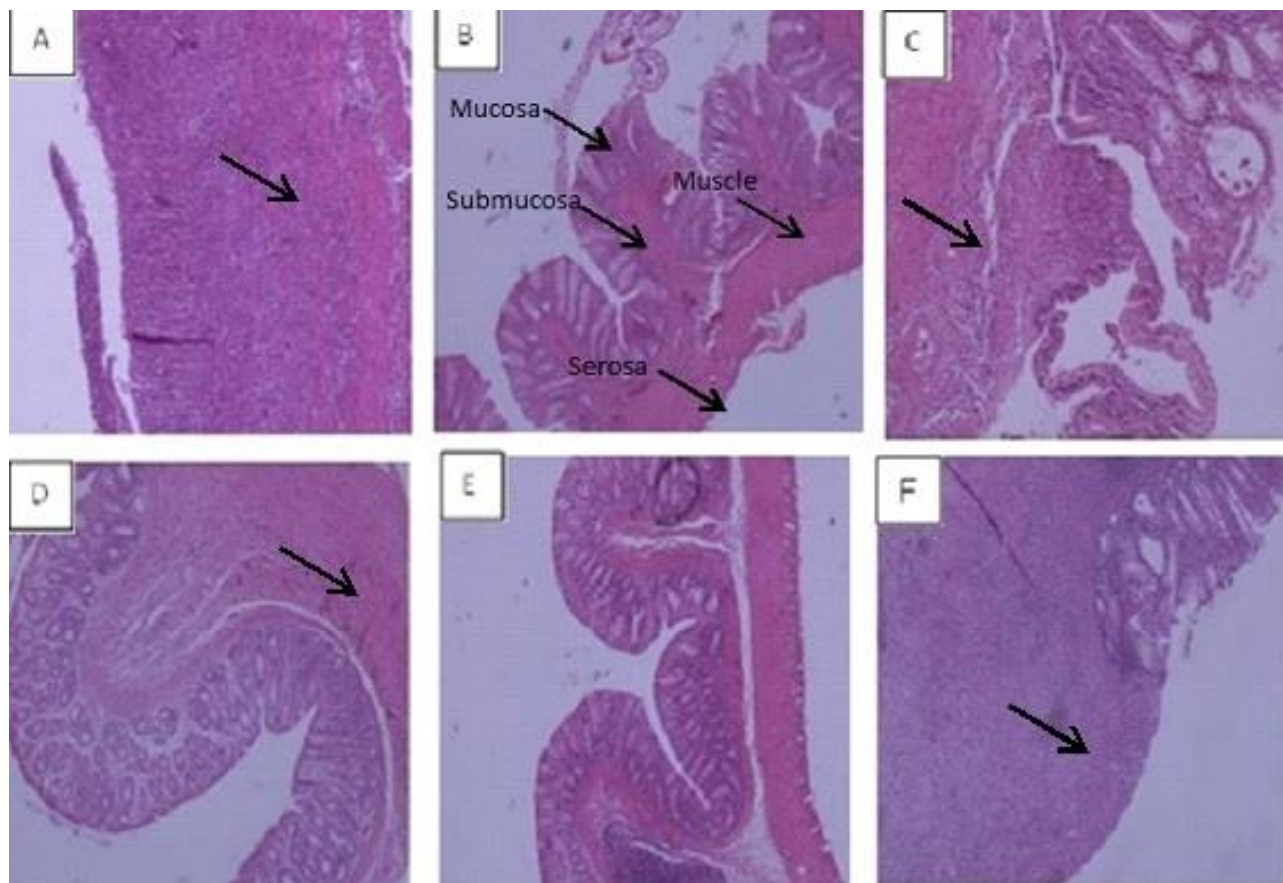
C+ (کنترل مثبت)، ۴۰۰ mg/kg (اولئورزین با دوز ۴۰۰ mg/kg، ۲۰۰ mg/kg (دوز ۲۰۰ mg/kg، ۱۰۰ mg/kg دوز ۱۰۰ mg/kg، C- (کنترل منفی)، توئین



نتایج بررسی میکروسکوپیک گروه درمان: در بررسی میکروسکوپیک به روش اصلاح شدهی والاس، میزان التهاب، عمق ضایعه و فیبروز کولون رت‌ها در گروه‌های مختلف درمانی که در شکل شماره ۳ آمده است، نه روز پس از القای کولیت مورد بررسی قرار گرفت که نتایج در جدول شماره ۴ آمده است. در گروه کنترل منفی و توتین در روز پایانی میزان

التهاب شدید، عمق ضایعه در لایه سروز و فیبروز شدید مشاهده شد.

در گروه کنترل مثبت، در روز پایانی التهاب شدید، عمق ضایعه در لایه سروز و عدم فیبروز مشاهده شد. در گروه اولئورزین سقز با دوز ۴۰۰ mg/kg میزان التهاب شدید، عمق ضایعه در لایه سروز و عدم فیبروز مشاهده شد.



شکل شماره ۳- کولون رت رنگ‌آمیزی شده با H&E (x 40) رت‌های گروه‌های درمانی. نه روز پس از القای کولیت با استفاده از استیک اسید ۴٪. (A) کنترل منفی (کولیت اولسروز)، التهاب شدید سروز و انفیلتراسیون لوکوسیت‌ها مشاهده می‌شود. (B) کنترل مثبت (سولفاسالازین)، عدم التهاب و انفیلتراسیون سلول التهابی (C) دوز ۱۰۰ mg/kg، در قسمت مورد اشاره التهاب متوسط لایه زیر مخاطی مشاهده می‌شود. (D) دوز ۲۰۰ mg/kg، در قسمت مورد اشاره التهاب خفیف مشاهده می‌شود (E) دوز ۴۰۰ mg/kg، عدم التهاب و ضایعه (F) توتین، در قسمت مورد اشاره التهاب شدید و انفیلتراسیون لوکوسیت‌ها مشاهده می‌شود.

جدول شماره ۴- نتایج ارزیابی پاتولوژیک با استفاده از روش اصلاح شده والاس در رت‌های گروه‌های درمانی و محافظتی

فیروز		عمق ضایعه					التهاب				
شدید	خفیف	عدم فیروز	سروز	عضله	زیر مخاط	لامینا پروپریا	عدم ضایعه	شدید	متوسط	خفیف	عدم التهاب
درمانی											
		-					-				-
++			++++					+++			کترل منفی
		-					-				کترل مثبت (سولفاسالازین)
	+				+				+		۱۰۰
		-				+				+	۲۰۰
		-					-			+	۴۰۰
++			++++					+++			توین
محافظتی											
	+		++++					+++			کترل منفی
		-	++++					+++			کترل مثبت
		-	++++					+++			۴۰۰

C+ (کنترل مثبت)، ۴۰۰ (دوز ۴۰۰ mg/kg)، ۲۰۰ (دوز ۲۰۰ mg/kg)، ۱۰۰ (دوز ۱۰۰ mg/kg)، C- (کنترل منفی)، Tween (توئین)

تغییرات وزن آب و غذای مصرفی

نتایج بررسی میزان تغییرات وزن و آب و غذای مصرفی گروه درمانی در نتایج تغییرات وزن رت‌های گروه‌های مختلف درمانی در نمودار شماره ۱ آمده است. در بررسی تغییرات وزن در روز سوم، پنجم، هفتم و نهم القا کولیت با اسید استیک اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مختلف مشاهده نشد. هرچند که میانگین تغییرات وزن در گروه توئین و کنترل منفی از روز سوم به بعد بویژه روزهای آخر از سایر گروه‌ها کمتر بود اما این اختلاف معنی‌دار نشد.

نتایج میزان تغییرات آب و غذای مصرفی رت‌های گروه‌های مختلف درمانی در جدول شماره ۵ نشان داده شده است. در بررسی میزان غذای مصرفی، تمامی گروه‌ها نسبت به توئین و کنترل منفی اختلاف معنی‌داری نشان دادند، همچنین گروه توئین نسبت به گروه کنترل منفی اختلاف معنی‌داری نشان داد. در بررسی میزان آب مصرفی، تمامی گروه‌ها نسبت به دو گروه کنترل منفی و توئین اختلاف معنی‌داری نشان دادند.

نتایج میزان آب و غذای مصرفی رت‌های گروه‌های مختلف محافظتی در جدول شماره ۵ آمده است. در بررسی میزان غذای مصرفی گروه کنترل مثبت نسبت به دو گروه کنترل منفی و دوز ۴۰۰ mg/kg اختلاف معنی‌داری را نشان داد، در بررسی میزان آب مصرفی بین گروه‌های اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

نتایج بررسی میزان تغییرات وزن و آب و غذای مصرفی گروه محافظتی

نتایج تغییرات وزن رت‌های گروه‌های مختلف محافظتی در نمودار شماره ۲ آمده است. در بررسی تغییرات وزن در روزهای اول، سوم، پنجم و هفتم قبل از القا کولیت با اسید استیک و روز دهم پس از القا کولیت اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مختلف مشاهده نشد.



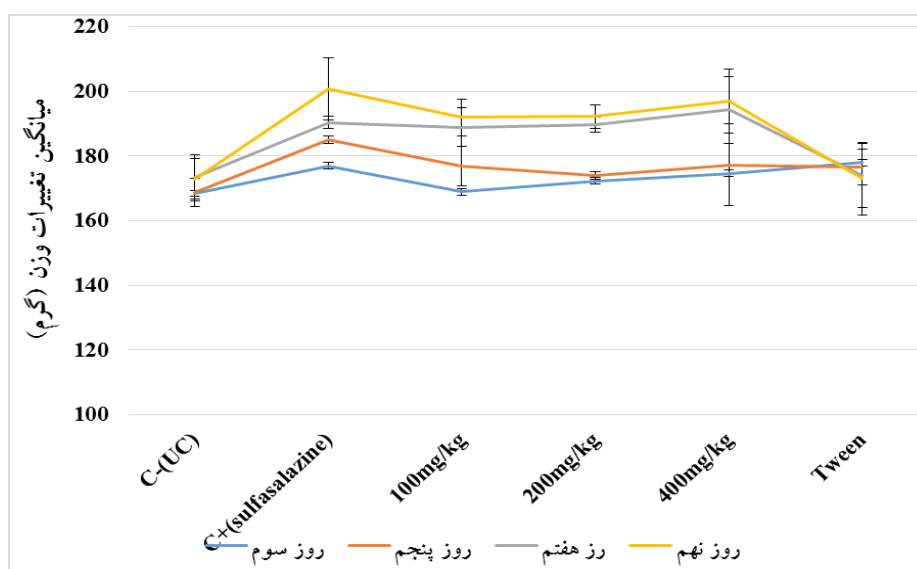
کولون

نتایج اندازه‌گیری وزن کولون گروه‌های درمانی

نتایج اندازه‌گیری وزن کولون رت‌های گروه‌های مختلف درمانی در جدول شماره ۶ آمده است. در بررسی وزن کولون رت‌های مختلف، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد.

نتایج اندازه‌گیری وزن کولون گروه محافظتی

نتایج اندازه‌گیری وزن کولون رت‌های گروه‌های مختلف محافظتی در جدول شماره ۶ آمده است. در بررسی وزن کولون رت‌های گروه‌های مختلف، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد.



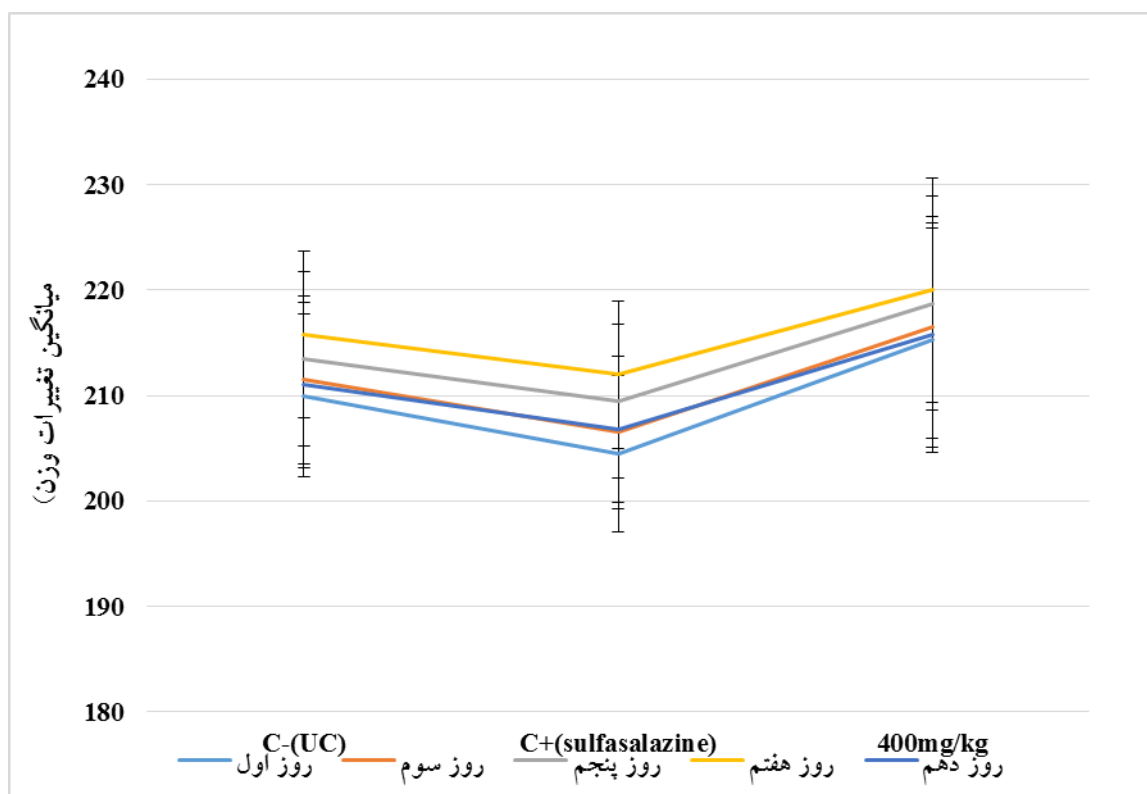
نمودار شماره ۱- میزان تغییرات وزن رت‌های گروه‌های درمانی، SEM: انحراف معیار $\pm$ میانگین ($P < 0.05$). C+ (کنترل مثبت)، ۴۰۰ mg/kg (اولئورزین با دوز ۴۰۰ mg/kg، ۲۰۰ mg/kg (دوز ۲۰۰ mg/kg)، ۱۰۰ mg/kg (دوز ۱۰۰ mg/kg)، C- (کنترل منفی)، Tween (توئین)

جدول شماره ۵- میزان تغییرات آب و غذای مصرفی رت‌های گروه‌های درمانی و محافظتی

	مصرف آب	مصرف غذا
درمانی		
کنترل منفی	۲۷/۷ $\pm$ ۲/۱۴ ^a	۳/۶۲ $\pm$ ۰/۷ ^a
کنترل مثبت	۴۲/۲۸ $\pm$ ۳/۸۵ ^b	۱۴/۲ $\pm$ ۱/۸ ^c
۱۰۰ mg/kg	۳۸/۶۵ $\pm$ ۳/۳ ^b	۱۱/۹ $\pm$ ۱/۱۸ ^c
۲۰۰ mg/kg	۳۹/۸۷ $\pm$ ۳/۰۴ ^b	۱۲/۴ $\pm$ ۰/۹۸ ^c
۴۰۰ mg/kg	۴۱/۳۶ $\pm$ ۳/۰۶ ^b	۱۲/۸۳ $\pm$ ۱/۲۴ ^c
توئین	۲۴/۲۹ $\pm$ ۱/۴۶ ^a	۷/۵ $\pm$ ۰/۸ ^b
محافظتی		
کنترل منفی	۳۱/۵۳ $\pm$ ۱/۶۷ ^a	۱۴/۸۹ $\pm$ ۰/۹۸ ^a
کنترل مثبت	۳۰/۸ $\pm$ ۱/۱۵ ^a	۱۸/۳۶ $\pm$ ۰/۹۴ ^b
۴۰۰ mg/kg	۲۹/۹۹ $\pm$ ۱/۱۳ ^a	۱۴/۲۳ $\pm$ ۰/۷۹ ^a

SEM: انحراف معیار $\pm$ میانگین. ارقامی که در هر ستون دارای حروف غیرمشترک هستند، اختلاف معنی‌دار دارند. ($P < 0.05$). C+ (کنترل مثبت)، ۴۰۰ mg/kg (اولئورزین با دوز ۴۰۰ mg/kg، ۲۰۰ mg/kg (دوز ۲۰۰ mg/kg)، ۱۰۰ mg/kg (دوز ۱۰۰ mg/kg)، C- (کنترل منفی)، Tween (توئین)





نمودار شماره ۲- میزان تغییرات وزن رت‌های گروه‌های محافظتی. SEM: انحراف معیار $\pm$ میانگین ($P < 0.05$). C+ (کنترل مثبت)، 400 mg/kg (صمغ با دوز 400 mg/kg)، C- (کنترل منفی).

جدول شماره ۶- نتایج اندازه‌گیری وزن کولون رت‌های گروه‌های درمانی و محافظتی

وزن کولون	
درمانی	
کنترل منفی	0.79 ± 0.05^a
کنترل مثبت	0.69 ± 0.05^a
100 mg/kg	0.84 ± 0.06^a
200 mg/kg	0.75 ± 0.06^a
400 mg/kg	0.89 ± 0.15^a
توین	0.66 ± 0.098^a
محافظتی	
کنترل منفی	0.71 ± 0.13^a
کنترل مثبت	0.62 ± 0.13^a
400 mg/kg	0.82 ± 0.088^a

SEM: انحراف معیار $\pm$ میانگین. ارقامی که در هر ستون دارای حروف غیرمشترک هستند، اختلاف معنی‌دار دارند. ($P < 0.05$). C+ (کنترل مثبت)، 400 mg/kg (صمغ با دوز 400 mg/kg)، 200 mg/kg (دوز 200 mg/kg)، 100 mg/kg (دوز 100 mg/kg)، C- (کنترل منفی)، Tween (توین).



بحث

مدل‌های حیوانی می‌تواند به درک اطلاعات مربوط به مکانیسم‌های مختلف درگیر در بیماری کولیت و کشف داروهای جدید برای درمان این بیماری کمک کنند. در حال حاضر مدل حیوانی رایجی که برای القا کولیت با استفاده از اسید استیک ایجاد می‌شود شامل تزریق داخل رکتومی اسید استیک ۴ درصد با طول دوره‌های درمانی مختلف می‌باشد [۴۴].

به نظر می‌رسد کارایی احتمالی گیاهان دارویی در درمان بیماری‌ها و همچنین فراوانی و امکان دسترسی به آنها، شرایط انجام مطالعات روی بیماری‌های مختلف از جمله کولیت اولسراتیو را تسهیل می‌کند. گیاهان مختلف بومی و غیربومی به منظور بررسی اثربخشی در درمان کولیت اولسراتیو مطالعه و بررسی شده‌اند.

به طور کلی برای تشخیص بیماری کولیت در بیماران فاکتورهای متعددی در نظر گرفته می‌شود. در بیماری کولیت شدت التهاب بیان‌کننده ارتشاح سلول‌های التهابی از جمله نوتروفیل‌ها و میزان التهاب نشان‌دهنده درگیر بودن قسمت‌های مختلف عرض جدار شامل مخاط، زیرمخاط و سراسر عرض دیواره‌ی کولون می‌باشد [۳۸]. مکانیسمی که به نظر می‌رسد اسید استیک پروسه‌ی التهاب را شروع می‌کند شامل ورود فرم پروتونه اسید به اپی‌تلیوم می‌باشد که در آنجا تجزیه می‌شود و پروتون حاصل با اسیدی کردن محیط داخل سلول آسیب اپیتلیال را سبب می‌شود [۳۹]. با تحریک یا تخریب مخاط توسط اسید استیک، تولید یکسری لوکوترین‌ها، پروستاگلاندین‌ها و ترومبوکسان‌ها در کولیت اولسراتیو افزایش می‌یابد [۴۱، ۴۰]. نقش‌های فیزیولوژیک این مواد در روده شامل کنترل حرکات و همچنین افزایش ترشحات آبکی روده می‌باشد و در انواع مختلف بیماری‌های دستگاه گوارش و از جمله کولیت نقش دارند [۴۲]. در مطالعه ما میزان التهاب به صورت ماکروسکوپی و میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفت. در گروه‌های مختلف دریافت‌کننده اولئورزین سقز نه روز پس از القا کولیت التهاب خفیف مشاهده شد و در نمره‌دهی آن نیز در گروه‌های مختلف دریافت‌کننده صمغ گیاه، کاهش معنی‌داری در التهاب طی دوره بیماری مشاهده شد، اما

در گروه کنترل منفی در روز پایانی التهاب همچنان شدید بود و در نمره‌دهی نیز امتیاز بالایی به آن تعلق گرفت. فتومیکروگراف‌های C، D و E در شکل شماره ۳ تأییدکننده کاهش اینفیلتراسیون سلول‌های التهابی بویژه سلول‌های نوتروفیل می‌باشد که از مشخصه‌های مهم بیماری کولیت اولسروز می‌باشند و نقش اساسی در کولیت فعال دارند. این مشاهدات بیانگر اثر مهارى اولئورزین سقز گیاه بر روند التهاب ایجاد شده بر اثر استیک اسید است که احتمالاً ناشی از مهار مهاجرت و فعالیت نوتروفیل‌ها و جلوگیری از ترانس فورماسیون لنفوسیت‌ها می‌باشد [۴۳]. همچنین این اثر می‌تواند ناشی از مهار مشارکت سایتوکاین‌ها در التهاب روده باشد که البته نیاز به بررسی سطح سرمی این سایتوکاین‌ها دارد.

در گروه‌های محافظتی سه روز پس از القا کولیت التهاب شدید همچنان مشاهده شد و در نمره‌دهی گروه درمان نیز کاهش چشمگیری در التهاب نسبت به گروه کنترل منفی مشاهده نشد، لذا به نظر می‌رسد اولئورزین سقز در پیشگیری از التهاب ناشی از کولیت اولسراتیو چندان مؤثر نمی‌باشد.

عملکردی که منجر به فیبروز بافتی می‌شود، از مهم‌ترین اختلالات ناشی از بیماران IBD می‌باشد. مطالعات نشان داده که مهار واسطه‌های التهابی، اختلالات حاد و مزمن ناشی از آنها را کاهش می‌دهد. در مطالعه ما مشخص شد که گروه‌های اولئورزین ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg درمانی در کاهش فیبروز مؤثر بودند که این امر می‌تواند ناشی از اثرات گیاه در کاهش التهاب و در نتیجه پیشگیری از شدید شدن آن و بروز فیبروز باشد.

در روز پایانی در بررسی میزان غذای مصرفی در گروه‌های درمانی با اولئورزین گیاه افزایش معنی‌داری در مصرف غذا نشان داده شد و همچنین وزن رت‌ها در پایان دوره اختلاف معنی‌داری با کنترل مثبت نداشت که این بیانگر روند بهبودی و ترمیم دستگاه گوارش و افزایش عملکرد جذب آن می‌باشد اما در گروه‌های محافظتی بهبودی در وزن یا مصرف غذا نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده نشد.

بررسی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اولئورزین سقز دارای اثرات درمانی در کولیت اولسروز ناشی از استیک اسید



از تفاوت‌های این طرح با سایر مقالاتی که اثر *Pistacia atlantica* را در کولیت القایی توسط استیک اسید بررسی کردند، می‌توان به غلظت اسید تجویزی، مدت تماس اسید با کولون، زمان دقیق تأیید القای کولیت، طول دوره درمان جهت بررسی اثرات فارماکولوژیک مواد شیمیایی مختلف و عدم برگشت خود به خودی کولیت القایی و پارامترهای مورد بررسی قرارگرفته مانند تغییرات وزن کولون، میزان آب و غذای مصرفی و ... اشاره کرد.

این طرح در کاهش التهابات و کاهش ضریب زخم و پیشرفت شاخص‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی با سایر مقالاتی که اثر *Pistacia atlantica* را در کولیت القایی توسط استیک اسید بررسی کردند، مشابه می‌باشد. همچنین مشخص شد که توئین ۸۰ نقش درمانی نداشته و اثر درمانی متعلق به اولئورزین می‌باشد.

پیشنهاد می‌شود که مکانیسم‌های محتمل در کاهش التهاب با کمک تست‌های بیوشیمیایی مانند اندازه‌گیری سطح میلوپراکسیدار (MPO) و سیتوکین‌های پیش التهابی مانند IL-6، IL-1 و TNF- α تعیین شود. همچنین سمیت حاد و تحت مزمن اولئورزین سقز در کولیت اولسراتیو القا شده توسط اسید استیک در رت بررسی شود.

در رت می‌باشد و دوز ۴۰۰ mg/kg گیاه نسبت به سایر دوزها مؤثرتر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به اطلاعات به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که بررسی‌های ماکروسکوپی، اولئورزین سقز در گروه درمانی به صورت وابسته به دوز باعث کاهش میزان التهاب، پرخونی و زخم‌های مخاطی در رت‌های مبتلا به کولیت می‌شود. همچنین بررسی‌های میکروسکوپی کاهش میزان التهاب، کاهش وسعت زخم به لایه‌های عمقی‌تر دستگاه گوارش، کاهش انفیلتراسیون سلول‌های التهابی و فیروز را نشان می‌دهد.

بر اساس داده‌های به دست آمده از بررسی‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی در گروه محافظتی کاهش در میزان التهاب، پرخونی، زخم‌های مخاطی و درگیری لایه‌های دستگاه گوارش و انفیلتراسیون سلول‌های التهابی و فیروز در رت‌های مبتلا به کولیت مشاهده نشد.

در گروه درمان تجویز خوراکی اولئورزین سقز باعث بهبود و ترمیم دستگاه گوارش و افزایش عملکرد جذب و در نتیجه افزایش وزن در رت‌هایی که با تجویز اسید استیک مبتلا به کولیت شده‌اند، می‌شود که هیچ‌کدام از این اثرات در گروه محافظتی مشاهده نشد.

منابع

1. Minaiyan M, Karimi F and Ghannadiand Rahimi A. Anti-inflammatory effect of *Pistacia atlantica* subsp. kurdica volatile oil and gum on acetic acid-induced acute colitis in rat. *RJP*. 2015; 2 (2): 1-12.
2. Low D, Nguyen DD and Mizoguchi E. Animal models of ulcerative colitis and their application in drug research. *DDDT*. 2013; 7: 1341.
3. Kuenzig ME, Lee SM, Eksteen B, Seow CH, Barnabe C, Panaccione R and et al. Smoking influences the need for surgery in patients with the inflammatory bowel diseases: a systematic review

- and meta-analysis incorporating disease duration. *BMC Gastroenterol*. 2016; 16 (1): 143.
4. Felder JB, Korelitz BI, Rajapakse R, Schwarz S, Horatagis AP and Gleim G. Effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs on inflammatory bowel disease: a case-control study. *Am. J. Gastroenterol*. 2000; 95 (8): 1949-54.
5. Levenstein S, Prantera C, Varvo V, Scribano ML, Andreoli A, Luzi C and et al. Stress and exacerbation in ulcerative colitis: a prospective study of patients enrolled in remission. *Am. J. Gastroenterol*. 2000; 95 (5): 1213-20.



6. Almeida MG, Kiss DR, Zilberstein B, Quintanilha AG, Teixeira MG and Habr-Gama A. Intestinal mucosa-associated microflora in ulcerative colitis patients before and after restorative proctocolectomy with an ileoanal pouch. *Diseases of the Colon & Rectum*. 2008; 51 (7): 1113.
7. Andersson RE, Olaison G, Tysk C and Ekbom A. Appendectomy and protection against ulcerative colitis. *N. Engl. J. Med.* 2001; 344 (11): 808-14.
8. Rezaie A, Parker RD and Abdollahi M. Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or the cause? *DDS*. 2007; 52 (9): 2015-21.
9. Baumgart DC. The diagnosis and treatment of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Dtsch. Arztebl. Int.* 2009; 106 (8): 123-33.
10. Baumgart, D.C. and W.J. Sandborn, Crohn's disease. *The Lancet* 2012; 380 (9853): 1590-1605.
11. Gonzalez R, Rodriguez S, Romay CH, Ancheta O, Gonzalez A, Armesto J, Ramirez D and Merino N. anti-inflammatory activity of phytocianin extract in acetic acid-induced colitis in rats. *Pharmacological Res.* January 1999; 39 (1): 55-59.
12. Ordas I. and et al. Ulcerative colitis. *Lancet* 2012; 380 (9853): 1606-19.
13. Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kurutas EB, Ciralik H, Kantarceken B and Buyukbese MA. Beneficial Effects of N-Acetylcysteine on Acetic Acid-Induced Colitis in Rats. *Tohoku J. Exp. Med.* 2005; 206 (2): 131-139.
14. Kornbluth A and Sachar DB. Ulcerative colitis practice guidelines in adults: American college of gastroenterology, practice parameters committee. *Am. J. Gastroenterol.* 2010; 105 (3): 501.
15. Wallace K.L. and et al. Immunopathology of inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol: WJG*, 2014; 20 (1): 6.
16. Travis SP. Review article: the management of mild to severe acute ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004; 20 (4): 88-92.
17. Nikfar S, Rahimi R, Rezaie A and Abdollahi M. A meta-analysis of the efficacy of sulfasalazine in comparison with 5-aminosalicylates in the induction of improvement and maintenance of remission in patients with ulcerative colitis. *Dig. Dis. Sci.* 2009; 54 (6): 1157-70.
18. Timmer A, McDonald JW and Macdonald JK. Azathioprine and 6-mercaptopurine for maintenance of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007; (1): CD000478.
19. Rahimi R, Nikfar S, Rezaie A and Abdollahi M. A meta-analysis of antibiotic therapy for active ulcerative colitis. *Dig. Dis. Sci.* 2007; 52 (11): 2920-5.
20. Rahimi R, Nikfar S and Abdollahi M. Meta-analysis technique confirms the effectiveness of anti-TNF-alpha in the management of active ulcerative colitis when administered in combination with corticosteroids. *Med. Sci. Monit.* 2007; 13 (7): PI13-8.
21. Rahimi R, Nikfar S and Abdollahi M. A meta-analysis of the benefit of probiotics in maintaining remission of human ulcerative colitis: evidence for prevention of disease relapse and maintenance of remission. *AMS* 2008; 4: 185-190.
22. Burisch J. Occurrence, course and prognosis during the first year of disease in a European population-based inception cohort. *Dan. Med. J.* 2014; 61 (1): B4778-B4778.
23. Patil MV, Kandhare AD and Bhise SD. Anti-inflammatory effect of *Daucus carota* root on experimental colitis in rats. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2012; 4 (1): 337-343.
24. Daren L, Nguyen D and Emiko Mizoguchi. "Animal models of ulcerative colitis and their application in drug research. *DDDT*. 2013; 7 (1): 1341-1357.
25. Tanideh N, Masoumi S, Hosseinzadeh M, Safarpour AR, Erjaee H, Koochi-Hosseiniabadi O and Rahimikazerooni S. Healing Effect of *Pistacia atlantica* Fruit Oil Extract in Acetic Acid-Induced



- Colitis in Rats. *Iran. J. Med. Sci.* 2014; 39 (6): 522-528.
26. Adegoke GA, Onasanwo SA, Eyarefe OD and Olaleye SB. Ameliorative effects of *Musa sapientum* peel extract on acetic acid-induced colitis in rat. *JOBAS*. 2016; 77: 49-55.
27. Haghdoost F, Baradaran Mahdavi MM, Zandifar A, Sanei MH, Zolfaghari B, Javanmard SH. *Pistacia atlantica* Resin Has a Dose-Dependent Effect on Angiogenesis and Skin Burn Wound Healing in Rat. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2013; 2013.
28. Tohidi M, Khayami M, Nejati V and Meftahizade H. Evaluation of antibacterial activity and wound healing of *Pistacia atlantica* and *Pistacia khinjuk* Evaluation of antibacterial activity and wound healing of *Pistacia atlantica* and *Pistacia khinjuk*. *JMPR*. 9 September, 2011; 5 (17): 4310-4314.
29. Hataminia AA, Abbaspour N, Daevishzadeh R. Antioxidant activity and phenolic profile of different part of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *Kurdica*) fruits. *Food Chem.* 2014; 145: 306-311.
30. Bozorgi M, Memariani Z, Mobli M, SalehiSurmaghi MH, Shams-Ardekani MH and Rahimi R. Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk* and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. *Sci. World J.* 2013; 2013.
31. Taran M, Mohebbali M and Esmaeli J. *In vivo* Efficacy of Gum Obtain *Pistacia Atlantica* in Experimental Treatment of Cutaneous Leishmaniasis. *IJPH*. 2010; 39 (1): 36-41.
32. Bachir Gh and Benali M. Antimicrobial activity determination of the gum of *Pistacia atlantica* Desf. oil. *AJMR*. 2010; 4 (23): 2457-2460.
33. Hashemnia M, Nikousefat Z and Yazdani-Rostam M. Antidiabetic effect of *Pistacia atlantica* and *Amygdalus scoparia* in streptozotocin-induced diabetic mice. *Comp Clin Path.* November 2015; 24 (6): 1301-1306.
34. Shialy Z, Zarrin M, Sadeghi Nejad B and Yusef Naanaie S. In vitro antifungal properties of *Pistacia atlantica* and olive extracts on different fungal species. *Curr. Med. Mycol.* 2015; 1 (4): 40-45.
35. Memariani Z, Sharifzadeh M, Bozorgi M, Hajimahmoodi M, Farzaei M H, Gholami M, Siavoshi F and Saniee P. Protective effect of essential oil of *Pistacia atlantica* Desf. on peptic ulcer: role of α -pinene. *JTCM*. 2017 February 15; 37 (1): 57-63.
36. Gunaseelan V, Karthikeyan AK, Jotinkumar Singh O, Meetei UD, Krishna Pramodini Devi Kh and Rita S. Effect of *Ficus hispida* in inflammatory bowel disease in experimental animals. *IJPSR*. 2015; 6 (10): 4391-4397.
37. Khodadadi A, Mirshafeie A, Eslami M, Razavi A and Hekmat K. An investigation upon the effectiveness of LVA-7220 as an immunomodulator on chronic ulcerative colities in rats. *Koomesh* 2003; 4 (3): 47-54.
38. Williams K.L. and et al. Enhanced survival and mucosal repair after dextran sodium sulfate-induced colitis in transgenic mice that overexpress growth hormone. *Gastroenterol.* 2001; 120 (4): 925-937.
39. Jagtap A.G., Shirke S.S., Phadke A.S. Effect of polyherbal formulation on experimental models of inflammatory bowel diseases. *J. Ethnopharmacol.* 2004; 90 (2): 195-204.
40. Ligumsky M. and et al. Enhanced thromboxane and prostacyclin production by cultured rectal mucosa in ulcerative colitis and its inhibition by steroids and sulfasalazine. *Gastroenterol.* 1981; 81 (3): 444-449.
41. Lobos E.A., Sharon P. and Stenson W.F. Chemotactic activity in inflammatory bowel disease. *DDS*. 1987; 32 (12): 1380-1388.



42. Branski D., Sharon P. and Abrahamov A. Prostaglandins in disorders of the intestinal tract: A Review. *JPGN*. 1986; 5 (6): 853-860.

43. Mai G, Seow W, Pier G, McCormack J and Thong Y. Suppression of lymphocyte and neutrophil functions by *Pseudomonas aeruginosa* mucoid exopolysaccharide (alginate): reversal by

physicochemical, alginase, and specific monoclonal antibody treatments. *Infection and Immunity* 1993; 61 (2): 559-64.

44. Goyal N, Rana A, Ahlawat A, V. Bijjem KR and Kumar P. Animal models of inflammatory bowel disease. *Inflammopharmacol*. 2014; DOI 10.1007/s10787-014-0207-y.



Protective and Therapeutic Effect of Oleoresin of *Pistacia atlantica* in Acetic Acid-induced Colitis in Rat

Farokhi S (Pharm.D.)¹, Bahrami GhR (Pharm.D., Ph.D.)², Babaie A (M.Sc.)², Farzaei MH (Pharm.D., Ph.D.)^{2*}

1- Students Research Committee, Faculty of Pharmacy, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

2- Pharmaceutical Sciences Research Center, Faculty of Pharmacy, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

*Corresponding author: Pharmaceutical Sciences Research Center, Faculty of Pharmacy, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
Tel: +98-8334276489, 834266780, Fax: +98-8334276493
Email: mh.farzaei@gmail.com

Abstract

Background: Ulcerative colitis is an idiopathic chronic, relapsing inflammation of the colon which is resulted from dysregulation of the mucosal immune system. In Iranian traditional medicine, oleoresin from *Pistacia atlantica* is used to treat gastrointestinal disorders, including peptic ulcers, dyspepsia and intestinal inflammation.

Objective: In this study, we examined the therapeutic and protective effects of oleoresin in acetic acid-induced colitis in rat.

Methods: The oleoresin was dissolved in Tween 80% (1% v / v) and doses of 100, 200 and 400 mg/kg were administered orally to animals. Three days after colitis induction, the rats were treated for 6 days and after determining the most effective dose in the treatment, the protective effect was evaluated using the optimal dose of the oleoresin for 6 days. In day 6, colitis was induced and continued for 3 days. At the end, animals were sacrificed for microscopic and macroscopic examination of colon tissues.

Results: Dose dependently, Oleoresin of *P. atlantica* showed therapeutic effects on microscopic and macroscopic examination of colon tissue of rats with ulcerative colitis induced by acetic acid, in comparison with control group ($P < 0.05$). However, there was no significant difference between treatment groups and the control in the protective method ($P > 0.05$).

Conclusion: This study showed the beneficial effects of anti-inflammatory and wound healing oleoresin of *P. atlantica* in acetic acid- induced ulcerative colitis in rats.

Keywords: *Pistacia atlantica*, Iranian Traditional medicine, Ulcerative colitis

