

## فصلنامه گیاهان دارویی

Journal homepage: [www.jmp.ir](http://www.jmp.ir)

مقاله تحقیقاتی

## اثرات شیلاجیت بر مقادیر سایتوکین‌های پیش‌التهابی و ضدالتهابی در کولیت اولسراتیو ناشی از اسید استیک در موش‌های صحرایی نر

فاطمه علی‌مهدی<sup>۱</sup>، نادر شاه‌رخی<sup>۲\*</sup>، محمد خاکساری حداد<sup>۲</sup>، غلامرضا اسدی کرم<sup>۳</sup>، مسلم ابوالحسنی<sup>۴</sup><sup>۱</sup> گروه فیزیولوژی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، کرمان، ایران<sup>۲</sup> پژوهشکده علوم پایه و فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، کرمان، ایران<sup>۳</sup> مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، پژوهشکده علوم پایه و بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی، کرمان، ایران<sup>۴</sup> گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ایران

| اطلاعات مقاله                                                                                 | چکیده                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| گل‌واژگان:<br>سایتوکین<br>سولفاسالازین<br>شیلاجیت<br>کولیت اولسراتیو<br>مقادیر نرمال سایتوکین | مقدمه: میزان سایتوکین‌هایی مثل IL-1B, IL-4, IL-13, TNF-α و IL-10 در کولون افراد مبتلا به کولیت اولسراتیو نسبت به افراد سالم تغییر می‌کنند. مطالعات قبلی نشان می‌دهند که شیلاجیت کولیت اولسراتیو را بهبود بخشیده، بنابراین این احتمال داده شد که شیلاجیت با تأثیر بر میزان سایتوکین توانسته کولیت اولسراتیو را بهبود بخشد. هدف: مطالعه حاضر بررسی اثرات شیلاجیت بر میزان IL-13, IL-1B, TNF-α, IL-4 و IL-10 در کولیت اولسراتیو می‌باشد. روش بررسی: در این مطالعه‌ی تجربی، ۴۹ سر موش صحرایی آزمایشگاهی سفید جنس نر با وزن ۲۵۰-۱۸۰ گرم به طور تصادفی به ۷ گروه تقسیم شدند که شامل گروه‌های شم، کولیت اولسراتیو، حلال خوراکی، شیلاجیت خوراکی، سولفاسالازین، حلال داخل مقعدی، شیلاجیت داخل مقعدی بودند. برای ایجاد کولیت اولسراتیو ۲ سی سی اسید استیک (۴ درصد) به روش تنقیه تجویز شد. ۴ روز پس از ایجاد کولیت، به مدت ۴ روز شیلاجیت با دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت گاواژ و یا تنقیه، سولفاسالازین با دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به شکل گاواژ تجویز شد. نتایج: گروه شیلاجیت خوراکی IL-10, IL-13, IL-4 را افزایش و TNF-α, IL-1β را کاهش داد. شیلاجیت میزان TNF-α, IL-10, IL-13, IL-4 را به مقادیر نرمال در گروه شم نزدیک کرد. نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه نسبت وزن روده به وزن بدن حیوان در گروه‌های شیلاجیت نسبت به گروه سولفاسالازین کمتر بود می‌توان نتیجه گرفت که شیلاجیت با تغییر مناسب‌تر در مقادیر سایتوکین‌ها در مقایسه با سولفاسالازین توانسته است التهاب را بیشتر کاهش دهد. |

مخفف‌ها: UC، کولیت زخمی؛ IBD، بیماری‌های التهابی کولون

\* نویسنده مسئول: [nshahrokhhi@kmu.ac.ir](mailto:nshahrokhhi@kmu.ac.ir) [nshahrokhisa@yahoo.com](mailto:nshahrokhisa@yahoo.com)

تاریخ دریافت: ۴ آذر ۱۳۹۷؛ تاریخ دریافت اصلاحات: ۵ مرداد ۱۳۹۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۵ مرداد ۱۳۹۸

doi: 10.29252/jmp.19.75.78

© 2020. Open access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

## ۱. مقدمه

کولیت اولسراتیو (UC) یا زخم و التهاب روده‌ی بزرگ یکی از شایع‌ترین بیماری‌های التهابی کولون (IBD) است [۱]. از علل IBD پاسخ نامناسب سیستم ایمنی به فلور روده است [۲]. این پاسخ ایمنی بوسیله‌ی لنفوسیت‌های 1Th (T helper) و 2Th کنترل می‌شود. (در افراد سالم این پاسخ سرکوب می‌شود) [۱]. داروهای شیمیایی که برای درمان کولیت اولسراتیو استفاده می‌شوند شامل آنتی TNF (anti tumor necrosis factor) ها و کورتیکواستروئیدها (corticosteroids) می‌باشند که تنها علائم بیماری را کنترل می‌کنند [۳]. این داروها دارای عوارض جانبی می‌باشند [۴، ۵] و علاوه بر این، این دسته داروها تعادل طبیعی و نرمالی را در سطح سایتوکین‌ها (cytokine) ایجاد نمی‌کنند. با توجه به اینکه تعادل میان سایتوکین‌ها بسیار مهم می‌باشد [۶] و از طرفی سرکوب شدید برخی سایتوکین‌های التهابی توسط دارو می‌تواند مشکلات بسیاری را ایجاد کند لذا این موضوع مورد توجه قرار گرفت که بایستی به دنبال دارویی بود که علاوه بر درمان علایم بیماری و التهاب ایجاد شده در کولون، بتواند بالانس مناسبی میان سطح سایتوکین‌های مختلف ایجاد کند [۷] و علاوه بر این عوارض داروهای شیمیایی را هم نداشته باشد. داروهای طبیعی به این اهداف درمانی نزدیک‌ترند [۸]. از جمله داروی طبیعی که اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی دارد و از لحاظ بافت‌شناسی، ریخت‌شناسی و آنتی‌اکسیدانی ثابت شده است که می‌تواند التهاب کولون را کاهش دهد، ماده‌ی طبیعی شیلاجیت (shilajit) است [۹]. شیلاجیت (مومیایی (Mumiju)) ماده‌ای است که از برخی صخره‌ها قابل استخراج است و نام علمی آن asphaltum است [۱۰، ۷]. این ماده دارای خواص ضدالتهابی در بهبود التهاب پوست [۱۱]، کبد [۷]، مفاصل [۱۲]، معده [۱۳] و ... است که خواص ضدالتهابی خود را با اثر بر آنتی‌اکسیدان‌ها [۱۴] و سایتوکین‌ها [۷] اعمال می‌کند [۱].

سایتوکین‌های التهابی مثل [۱۵] IL-13 (interleukin)، IL-4 [۱۶] IL-1 $\beta$ ، TNF- $\alpha$ ، [۱۷] و سایتوکین‌های ضدالتهابی مثل IL-10 [۱۸]، در بیماران مبتلا به کولیت اولسراتیو در مقایسه با روده افراد سالم تغییر می‌کند. IL-13 یک سایتوکین کلیدی و مهم 2Th است [۱۹، ۲۰] که از سلول‌های LPMC (Lamina Propria Mononuclear Cells) بیماران مبتلا به کولیت اولسراتیو به میزان زیادی تولید می‌شود [۲۱]. این سایتوکین بر روی اتصالات محکم (tight junction) سلول‌های کولون اثر می‌کند. IL-4 و IL-13 میزان بیان claudin و سلول‌های آپوپتوتیک را افزایش می‌دهند. این دو سایتوکین با یکدیگر در ارتباطند [۲۲].

از آنجا که شیلاجیت توانسته التهاب را در کولیت اولسراتیو کاهش دهد [۲۳] در این مطالعه سعی شده است تا مکانیسم اثرات آن در کاهش التهاب کولون در بیماری کولیت اولسراتیو بیشتر مورد بررسی قرار گیرد، لذا هدف این مطالعه بررسی اثرات آن بر میزان برخی سایتوکین‌ها در کولیت اولسراتیو می‌باشد.

## ۲. مواد و روش‌ها

## ۱.۲. روش تهیه شیلاجیت

شیلاجیت مورد استفاده در این طرح از کوه‌های منطقه ساردوئیه شهرستان جیرفت تهیه شد و نمونه اولیه شیلاجیت بر اساس انحلال در آب خالص‌سازی شد [۲۴]. ابتدا ۱۰۰ گرم از نمونه‌های خرد شده در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب ریخته و به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق، توسط شیکر با آب تکان داده شد. سپس محلول حاصله توسط صافی mm ۰/۴۵ به منظور جدا کردن ناخالصی‌های نامحلول صاف می‌شد. سپس در تقطیر در خلأ محلول خشک شد، سپس جهت استفاده عصاره آبی شیلاجیت با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر تهیه شد [۲۵، ۲۶].

## ۲.۲. روش تهیه سولفاسالازین

قرص سولفاسالازین از داروخانه تهیه شد و سپس در هاون پودر شد و با دوز (۲۵۰ میلی گرم/کیلوگرم) و هم حجم داروی شیلاجیت در حلال تجویز شد. برای تازه بودن دارو، محلول آن اندکی قبل از زمان تجویز تهیه می شد [۲۷].

## ۳.۲. گروه‌های مورد مطالعه

در این مطالعه از ۴۹ سر موش آزمایشگاهی سفید با وزن ۲۵۰-۱۸۰ گرم استفاده می شد. حیوانات از حیوان‌خانه‌ی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان خریداری می شدند. کلیه حیوانات در شرایط دمایی  $22^{\circ}\text{C}$  و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری می شدند. این پژوهش با مجوز شماره ۱۳۹۶،۱۰۷۳.IR.KMU.REC کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمان انجام شد.

حیوانات به صورت تصادفی به ۷ گروه تقسیم شدند. تعداد حیوان‌ها در هر گروه ۷ سر بود. گروه‌ها عبارت بودند از:

۱- گروه شم (Sham): موش‌های صحرایی نر سالمی که همه‌ی عملیات آماده‌سازی برای ایجاد کولیت در آنها صورت می گرفت ولی کولیت در آنها ایجاد نمی شد.

۲- گروه کولیت اولسراتیو (Colitis): موش‌های صحرایی نری که کولیت در آنها با تزریق ۱/۵ سی سی اسیداستیک (acetic acid) به داخل مقعد (intrarectal) ایجاد می شد ولی هیچ دارویی دریافت نمی کردند [۲۸، ۲۹].

۳- گروه حلال شیلاجیت خوراکی (Veh-G): موش‌های صحرایی نری که کولیت در آنها ایجاد می شد و ۴ روز بعد از ایجاد کولیت حلال شیلاجیت (سالین) به مدت ۴ روز، روزانه برابر حجم دارو به صورت گاوژ داده می شد.

۴- گروه شیلاجیت خوراکی (Shil-G): موش‌های صحرایی نری که کولیت در آنها ایجاد می شد و ۴ روز بعد از ایجاد کولیت، شیلاجیت با دوز ۲۵۰ mg/kg روزانه به مدت ۴ روز به صورت گاوژ داده می شد [۲۵، ۲۶].

## ۵- گروه سولفاسالازین (sulfa) (sulfasalazine):

موش‌های صحرایی نری که کولیت در آنها ایجاد می شد و ۴ روز بعد از ایجاد کولیت، سولفاسالازین با دوز ۲۵۰ mg/kg روزانه به مدت ۴ روز به صورت گاوژ داده می شد [۲۷].

۶- گروه حلال شیلاجیت موضعی (Veh-IA): موش‌های صحرایی نری که کولیت در آنها ایجاد می شد و ۴ روز بعد از ایجاد کولیت، حلال شیلاجیت (سالین) به مدت ۴ روز، روزانه برابر حجم دارو به صورت داخل مقعدی (intrarectal) تجویز می شد. ۷- گروه شیلاجیت موضعی (Shil-IA): موش‌های صحرایی نری که کولیت در آنها ایجاد می شد و ۴ روز بعد از ایجاد کولیت، شیلاجیت با دوز ۲۵۰ mg/kg روزانه به مدت ۴ روز به صورت داخل مقعدی تجویز می شد [۲۵، ۲۶].

## ۴.۲. روش القاء کولیت

جهت القاء کولیت، موش‌های صحرایی پس از آنکه به مدت ۳۶ ساعت در حالت گرسنگی و با دسترسی آزاد به آب قرار گرفته بودند. موش‌ها تحت یک بیهوشی خفیف با اتر [۲۷، ۲۸] قرار می گرفتند سپس ۲-۱/۵ میلی لیتر اسید استیک ۴ درصد [۲۹، ۲۸]، توسط یک لوله پلاستیکی به قطر داخلی ۲/۵ mm و به طول ۸ cm از راه مقعد به درون کولون حیوان تزریق می شد سپس حیوانات در داخل قفس‌های انفرادی سیمی به مدت ۲۴ ساعت نگهداری می شدند [۳۰، ۳۱] زخم در حیوان معمولاً پس از ساعت اول بعد از عمل ایجاد می شد و طی ۵ - ۳ روز کامل می شد. روز بعد از عمل را به عنوان اولین روز زخم در نظر می گرفتیم و از روز چهارم مصرف دارو به مدت ۴ روز ادامه می یافت [۳۰]. (برای تازه بودن دارو، محلول آن اندکی قبل از زمان تجویز تهیه می شد).

## ۵.۲. هموژنیزاسیون بافتی جهت اندازه‌گیری سیتوکین‌ها

به منظور هموژنیزاسیون ۵۰۰ میلی گرم از بافت روده با ۲ میلی لیتر بافر (pH = ۷/۲) حاوی Tris 50 mmol، 0.5%

NaCl 150 mmol, Triton 100-x و کوکتل مهارکننده پروتئاز (Roche آلمان) توسط دستگاه هموژنایزر مخلوط می‌شد. محلول هموژنایز شده سپس با سانتیفریوژ یخچال‌دار با دور ۴۰۰۰ گرم در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتیفریوژ می‌شد و در نهایت محلول رویی برای اندازه‌گیری سیتوکین‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفت [۳۲].

## ۶.۲. روش اندازه‌گیری سیتوکین‌ها

نمونه‌های آماده شده طبق دستورالعمل کیت‌های ELISA مخصوص اندازه‌گیری سیتوکین‌ها سنجش می‌شدند.

## ۷.۲. سیتوکین‌های مورد بررسی

IL-4, IL-13, IL-10, IL-1B, TNF-A

## ۸.۲. روش محاسبه حجم نمونه و تعداد آن

بر اساس مطالعات قبلی و اینکه حیوانات از یک نژاد می‌باشند تعداد حیوانات در هر گروه ۷ سر انتخاب شده‌اند [۳۳].

## ۹.۲. روش محاسبه و تجزیه و تحلیل داده‌ها برای رسیدن به اهداف طرح

جهت مقایسه متغیرهای کمی بین گروه‌های مورد آزمون در صورت رعایت مفروضات توزیع نرمال داده‌ها از آزمون ANOVA one way استفاده شد سطح معنی‌دار ۰/۰۵ در نظر گرفته شد و تحلیل‌های آماری با استفاده از SPSS ۲۴ انجام شد.

## ۳. نتایج

۱.۳. تغییرات نسبت وزن روده به وزن بدن در گروه‌های مختلف در نمودار ۱ نسبت وزن روده به وزن بدن در گروه‌های مختلف نشان داده شده است. این نسبت در گروه شم  $0.087 \pm 0.073$  بود که با ایجاد التهاب به میزان  $0.13 \pm 0.045$  افزایش یافت ( $P < 0.001$ ). در گروه حلال خوراکی (veh-G)  $0.08 \pm 0.041$  بود که درمان با شیلاجیت به شکل

خوراکی این مقادیر را به  $0.06 \pm 0.098$  کاهش داد ( $P < 0.01$ ). در گروه کنترل داخل مقعدی هم این نسبت  $0.14 \pm 0.046$  بود که درمان داخل مقعدی با شیلاجیت (SHil-IA) این نسبت را به  $0.07 \pm 0.066$  کاهش داد ( $P < 0.001$ ). گروه سولفاسالازین در مقایسه با گروه شیلاجیت داخل مقعدی و شیلاجیت خوراکی هم افزایش معنی‌دار داشت ( $P < 0.01$ ). در گروه سولفاسالازین نسبت وزن روده به وزن بدن  $0.41 \pm 0.043$  محاسبه شد. گروه سولفاسالازین نسبت به گروه شم افزایش معنی‌دار داشت ( $P < 0.001$ ). اما شیلاجیت خوراکی و داخل مقعدی نسبت به گروه شم تغییر معنی‌داری نداشت.

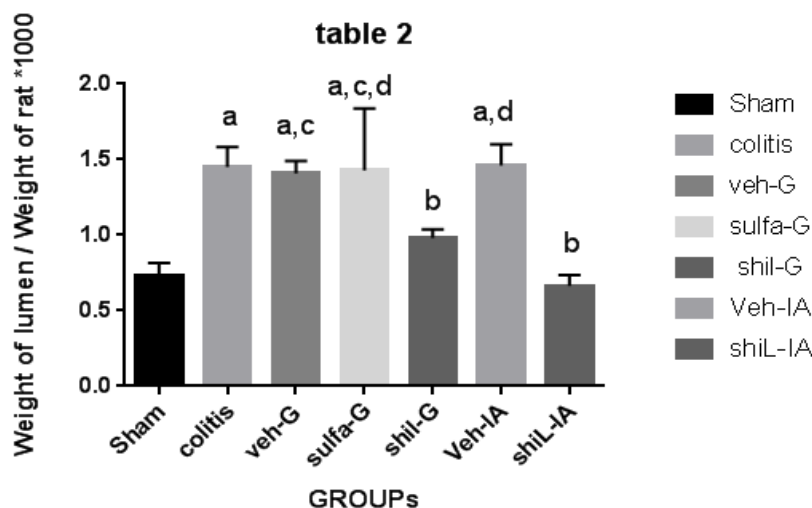
## ۲.۳. مقایسه مقادیر IL-4 در گروه‌های مختلف

نمودار ۲ مقادیر IL-4 در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. مقدار IL-4 در گروه کولیت ( $0.02 \pm 0.03$ ) در مقایسه با گروه sham ( $0.04 \pm 0.043$ ) کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد ( $P < 0.05$ ). مقدار IL-4 در گروه شیلاجیت خوراکی ( $0.04 \pm 0.038$ ) در مقایسه با حلال خوراکی ( $0.04 \pm 0.033$ ) افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد ( $P < 0.05$ ). IL-4 در گروه شیلاجیت داخل مقعدی (SHil-IA) ( $0.03 \pm 0.045$ ) نسبت به گروه حلال داخل مقعدی ( $0.02 \pm 0.032$ ) نیز افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد ( $P < 0.05$ ). میزان IL-4 در گروه سولفاسالازین ( $0.05 \pm 0.03$ ) در مقایسه با گروه شیلاجیت داخل مقعدی کاهش معنی‌دار نشان می‌دهد ( $P < 0.05$ ). شیلاجیت خوراکی و داخل مقعدی نسبت به گروه شم تغییر معنی‌داری نداشتند. گروه سولفاسالازین در مقایسه با گروه کولیت تفاوت معنی‌دار نداشت.

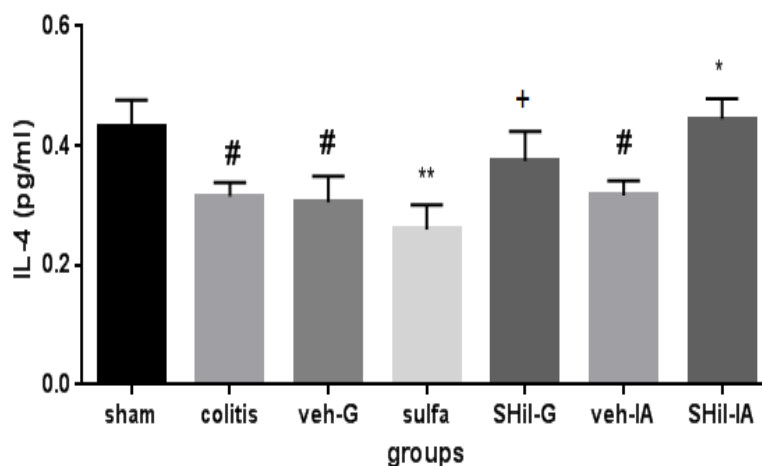
## ۳.۳. مقایسه مقادیر IL-13 در گروه‌های مختلف

نمودار ۳ مقادیر IL-13 را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. مقادیر این سیتوکین در گروه کولیت ( $0.078 \pm 0.01$ ) در مقایسه با گروه شم ( $0.077 \pm 0.039$ ) کاهش معنی‌دار

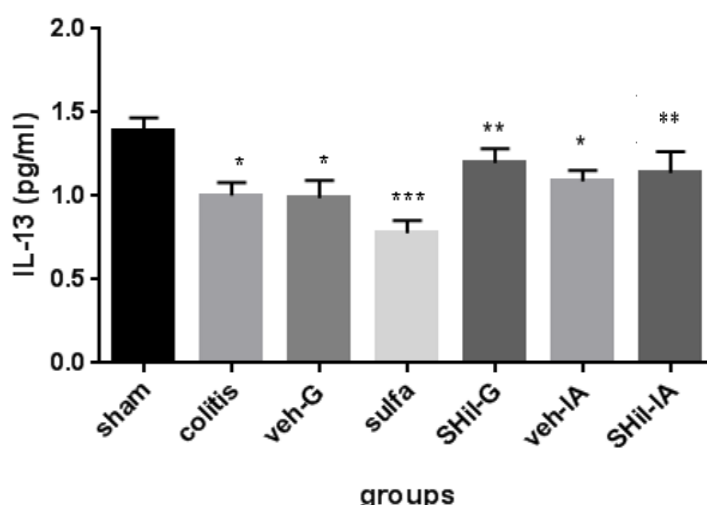
داشت ( $P < 0/05$ ). IL-13 در گروه‌های حلال خوراکی (veh-G) و حلال داخل مقعدی که به ترتیب  $0/99 \pm 0/1$  و  $1/09 \pm 0/06$  بودند نسبت به گروه‌های شیلاجیت خوراکی و داخل مقعدی (SHil-IA) که به ترتیب  $1/2 \pm 0/08$  و



نمودار ۱. مقایسه نسبت وزن روده به وزن بدن در گروه‌های مختلف. a تفاوت بین گروه‌های colitis، veh-G، veh-IA و sulfa با گروه Sham با  $P < 0/001$  معنی‌دار است. b معنی‌داری میان گروه‌های SHil-G و SHil-IA با گروه colitis ( $P < 0/001$ ) c معنی‌داری میان گروه‌های veh-G و sulfa با گروه SHil-IA ( $P < 0/01$ ) d معنی‌داری میان گروه‌های veh-IA و sulfa با گروه SHil-IA ( $P < 0/01$ ). Sham: گروه شم، colitis: گروه کولیت اولسراتیو، veh-G: گروه حلال خوراکی، sulfa: گروه سولفاسالازین، SHil-G: گروه شیلاجیت خوراکی، veh-IA: گروه حلال داخل مقعدی، SHil-IA: گروه شیلاجیت داخل مقعدی.



نمودار ۲. مقایسه مقادیر IL-4 در گروه‌های مختلف: # تفاوت معنی‌دار مقادیر IL-4 در گروه‌های colitis، veh-G، veh-IA با گروه sham. ( $P < 0/05$ ) + تفاوت معنی‌دار SHil-G با veh-G ( $P < 0/05$ ) \* تفاوت معنی‌دار مقادیر IL-4 در گروه SHil-IA نسبت به گروه veh-IA ( $P < 0/05$ ) \*\* تفاوت معنی‌دار مقادیر IL-4 در گروه Sulfa در مقایسه با گروه SHil-IA ( $P < 0/01$ ). Sham: گروه شم، colitis: گروه کولیت اولسراتیو، veh-G: گروه حلال خوراکی، sulfa: گروه سولفاسالازین، SHil-G: گروه شیلاجیت خوراکی، veh-IA: گروه حلال داخل مقعدی، SHil-IA: گروه شیلاجیت داخل مقعدی.



نمودار ۳. مقایسه مقادیر IL-13 در گروه‌های مختلف: \* تفاوت معنی‌دار در گروه‌های colitis, veh-IA, veh-G با گروه sham ( $P < 0/05$ ). \*\* تفاوت معنی‌دار گروه‌های SHil-G, SHil-IA با گروه sulfa ( $P < 0/01$ ) \*\*\* تفاوت معنی‌دار گروه sulfa با گروه sham ( $P < 0/001$ ). Sham: گروه شم، colitis: گروه کولیت اولسراتیو، veh-G: گروه حلال خوراکی، sulfa: گروه سولفاسالازین، SHil-G: گروه شیلاجیت خوراکی، veh-IA: گروه حلال داخل مقعدی، SHil-IA: گروه شیلاجیت داخل مقعدی.

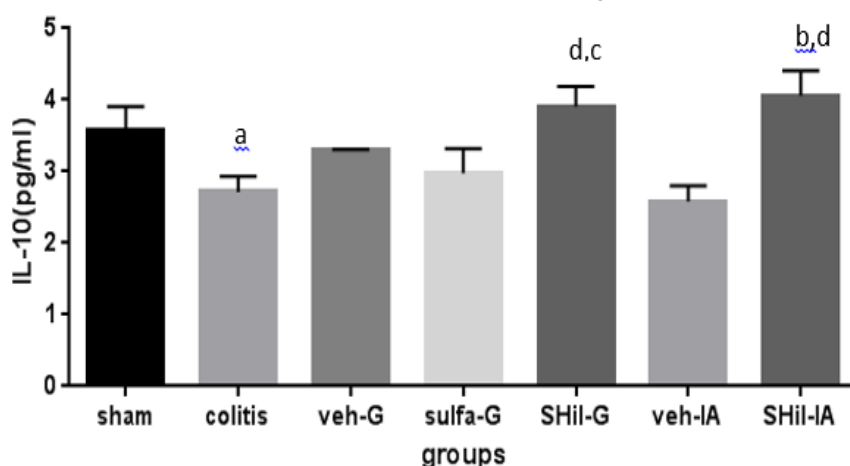
۴.۳. مقایسه مقادیر IL-10 در گروه‌های مختلف  
در نمودار ۴ مقادیر IL-10 در گروه‌های مختلف نشان داده شده است. مقادیر IL-10 در گروه کولیت ( $2/71 \pm 0/22$ ) در مقایسه با گروه Sham ( $3/57 \pm 0/34$ ) کاهش معنی‌دار نشان می‌دهد ( $P < 0/05$ ). در گروه شیلاجیت داخل مقعدی (SHil-IA) ( $4/06 \pm 0/35$ ) نسبت به گروه حلال داخل مقعدی ( $4/95 \pm 0/14$ ) اختلاف معنی‌دار نشان نمی‌دهد. اما شیلاجیت داخل مقعدی نسبت به گروه کولیت کاهش معنی‌داری دارد ( $P < 0/001$ ). این مقادیر در گروه سولفاسالازین  $3/66 \pm 0/25$  است که نسبت به گروه کولیت نیز کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد ( $P < 0/001$ ). گروه سولفاسالازین نسبت به گروه شیلاجیت خوراکی کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد ( $P < 0/05$ ).

۶.۳. مقایسه مقادیر  $TNF-\alpha$  در گروه‌های مختلف  
نمودار ۶ مقادیر  $TNF-\alpha$  در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. این سایتوکین التهابی در گروه کولیت ( $1/15 \pm 0/09$ ) در مقایسه با گروه شم ( $0/8 \pm 0/06$ ) افزایش معنی‌دار نشان می‌دهد ( $P < 0/01$ ). مقدار  $TNF-\alpha$  در گروه شیلاجیت

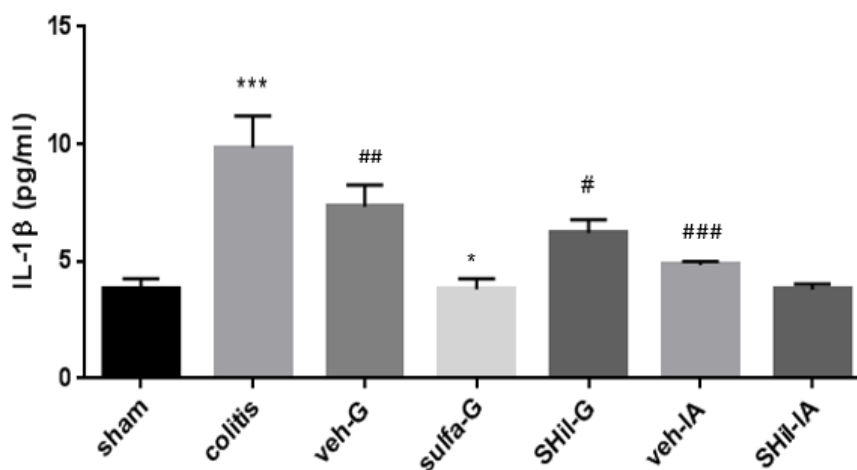
#### ۵.۳. مقایسه مقادیر IL-1 $\beta$ در گروه‌های مختلف

در نمودار ۵ مقادیر IL-1 $\beta$  در گروه‌های مختلف نشان داده شده است. این مقادیر در گروه کولیت ( $9/23 \pm 1/52$ ) نسبت به گروه Sham ( $3/85 \pm 0/41$ ) افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد

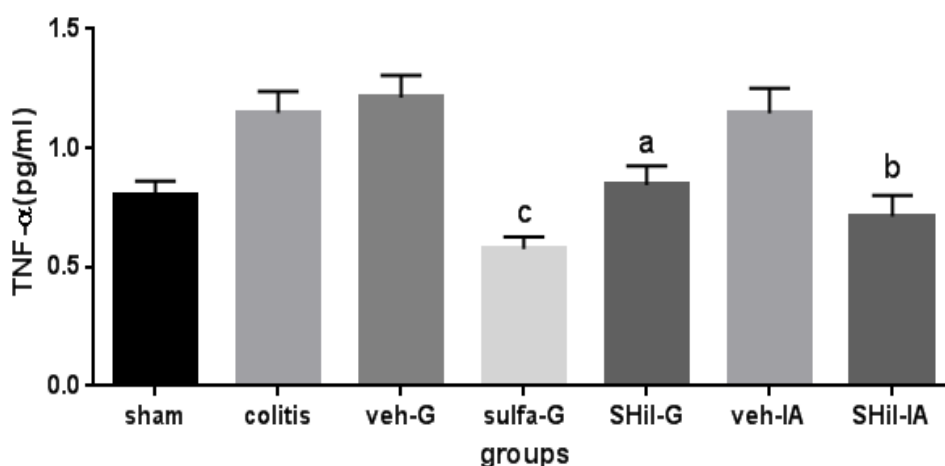
خوراکی ( $0/08 \pm 0/84$ ) در مقایسه با گروه حلال خوراکی ( $0/09 \pm 1/21$ ) کاهش معنی دار نشان می دهد ( $P < 0/01$ ). گروه شیلاجیت داخل مقعدی ( $0/09 \pm 0/71$ ) در مقایسه با حلال داخل مقعدی ( $0/12 \pm 1/15$ ) نیز کاهش معنی دار مشاهده می شود ( $P < 0/01$ ). مقادیر  $TNF-\alpha$  در گروه سولفاسالازین ( $0/09 \pm 0/71$ ) در مقایسه با گروه شیلاجیت خوراکی و داخل مقعدی نیز کاهش معنی دار نشان می دهد ( $P < 0/05$ ).



نمودار ۴. مقایسه مقادیر IL-10 در گروه های مختلف: a تفاوت معنی دار میان Sham با Colitis ( $P < 0/05$ ), b تفاوت معنی دار گروه SHil-IA با گروه veh-IA ( $P < 0/001$ ), c تفاوت معنی دار میان دو گروه SHil-G با veh-G ( $P < 0/05$ ), d تفاوت معنی دار مقادیر IL-10 در گروه SHil-G و SHil-IA با گروه Sulfa ( $P < 0/05$ ). Sham: گروه شم، colitis: گروه کولیت اولسراتیو، veh-G: گروه حلال خوراکی، sulfa: گروه سولفاسالازین، SHil-G: گروه شیلاجیت خوراکی، veh-IA: گروه حلال داخل مقعدی، SHil-IA: گروه شیلاجیت داخل مقعدی.



نمودار ۵. مقایسه مقادیر IL-1β در گروه های مختلف: \*\*\* اختلاف معنی دار میان گروه colitis با گروه های Sham، sulfa، SHil-IA ( $P < 0/001$ ). # اختلاف معنی دار گروه SHil-G با veh-G ( $P < 0/05$ ). ## اختلاف معنی دار گروه veh-G با گروه Sham ( $P < 0/01$ ). ### اختلاف معنی دار گروه veh-IA با SHil-IA و SHil-G با گروه sulfa ( $P < 0/05$ ). Sham: گروه شم، colitis: گروه کولیت اولسراتیو، veh-G: گروه حلال خوراکی، sulfa: گروه سولفاسالازین، SHil-G: گروه شیلاجیت خوراکی، veh-IA: گروه حلال داخل مقعدی، SHil-IA: گروه شیلاجیت داخل مقعدی.



نمودار ۶. مقایسه مقادیر TNF- $\alpha$  در گروه‌های مختلف: a اختلاف معنی‌دار مقادیر TNF- $\alpha$  در گروه colitis در مقایسه با گروه sham ( $P < 0/01$ ) b اختلاف معنی‌دار مقادیر TNF- $\alpha$  در گروه SHil-G در مقایسه با گروه veh-G ( $P < 0/01$ ) c اختلاف معنی‌دار مقادیر TNF- $\alpha$  در گروه SHil-IA در مقایسه با گروه veh-IA ( $P < 0/01$ ) d معنی‌داری مقادیر TNF- $\alpha$  در گروه sulfa در مقایسه با گروه‌های SHil-G, SHil-IA. Sham ( $P < 0/05$ ): گروه شم، colitis: گروه کولیت اولسراتیو، veh-G: گروه حلال خوراکی، sulfa: گروه سولفاسالازین، SHil-G: گروه شیلاجیت خوراکی، veh-IA: گروه حلال داخل مقعدی، SHil-IA: گروه شیلاجیت داخل مقعدی.

#### ۴. بحث

شده است که باکتری‌ها را می‌توان با شست و شوی روده حذف کرد [۳۴]. و چون که باکتری‌های روده بر میزان سایتوکین‌ها اثر گذارند و حلال داخل مقعدی احتمالاً میزان این باکتری‌ها را تغییر داده، می‌توان گفت در پی آن سایتوکین‌هایی مثل IL1 $\beta$  نیز تغییر یافته‌اند [۳۵]. همچنین شیلاجیت داخل مقعدی و خوراکی میزان IL-10 را به عنوان یک سایتوکین ضد التهابی افزایش داده‌اند (IL-10 در کولون فرد مبتلا به کولیت اولسراتیو کمتر از فرد سالم است) [۳۶]. وجود مقادیر طبیعی این سایتوکین در بدن بسیار مهم است و نبود آن باعث التهاب تمام غشا روده می‌شود [۳۷]. بنابراین شیلاجیت با افزایش این سایتوکین و رساندن آن به مقادیر طبیعی تأثیر بسیار مهمی در حفظ هموستاز مخاط گذاشته است [۳۸]. اما تغییراتی که با مصرف شیلاجیت در سطوح IL-4, IL-13 ایجاد شده است نیاز به تحلیل بیشتری دارد. میزان IL-4 گروهی که شیلاجیت را به صورت داخل مقعدی و خوراکی دریافت کرده بودند نسبت به گروه‌های حلال خود

مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد استفاده شیلاجیت چه به شکل داخل مقعدی (intra rectal) و چه به شکل گاواژ (خوراکی) توانسته است سایتوکین التهابی TNF- $\alpha$  را کاهش دهد. این سایتوکین در گروه سولفاسالازین (گروه کنترل مثبت) نیز کاهش داشته است. شیلاجیت خوراکی IL-1 $\beta$  را هم کاهش داده است ولی شیلاجیت داخل مقعدی در مقایسه با حلال داخل مقعدی مؤثر نبوده است، نکته قابل توجه این است که گروه حلال داخل مقعدی نسبت به گروه کولیت کاهش چشم‌گیری داشته است بنابراین گرچه این سایتوکین در گروه شیلاجیت داخل مقعدی نسبت به گروه کولیت کاهش چشم‌گیری داشته است اما در مقایسه با حلال داخل مقعدی این کاهش دیده نمی‌شود، پس به این نتیجه احتمالاً می‌توان رسید که حلال داخل مقعدی توانسته بر مقادیر IL-1 $\beta$  اثر بگذارد. در مورد این که چگونه این اثر ایجاد شده است می‌توان گفت از آنجا که در مطالعات دیگر نشان داده



مناسب‌تر در سطح سایتوکین‌ها در مقایسه با سولفاسالازین توانسته است التهاب را بیشتر کاهش دهد.

مطالعات دیگری بر روی التهاب کبد نشان داده است که شیلاجیت به جز سایتوکین‌ها بر روی آنتی‌اکسیدان‌ها هم مؤثر می‌باشد، لذا احتمالاً شیلاجیت اثرات خود را برای کاهش التهاب، هم از طریق اثر بر سطوح سایتوکین‌ها و هم با اثر بر روی عوامل آنتی‌اکسیدانی اعمال می‌کند. پس می‌توان گفت توانایی شیلاجیت برای کاهش التهاب علاوه بر اینکه مربوط به تغییر سطح سایتوکین‌ها است، شاید مربوط به توانایی شیلاجیت در تغییر آنتی‌اکسیدان‌ها نیز باشد.

DSS (دکستران سولفات سدیم) [۴۴، ۴۵]، اسید استیک [۲۹-۳۱] TNBS (trinitrobenzene sulfonic acid) [۴۶، ۴۷] و oxazolone [۴۸، ۴۹] از جمله موادی هستند که در تحقیقات معمولاً به عنوان القا التهاب کولون در موش استفاده می‌شوند که به لحاظ ریخت‌شناسی، بافت‌شناسی و علایم مشابه مدل کولیت انسانی‌اند. این مواد هر کدام مکانیسم متفاوتی برای ایجاد التهاب دارند [۴۵، ۵۰ - ۵۴] برای مثال Oxazolone با تغییر مقادیر IL-13 می‌تواند موجب التهاب شود و بلوک IL-13 جلوی ایجاد التهاب با DSS را می‌گیرد [۵۵]. آنچه که باید مورد توجه قرار داد این است که ماده‌ی ایجادکننده‌ی التهاب در این مطالعه اسید استیک ۴ درصد بوده است و هنوز در مورد تأثیر آن بر میزان سایتوکین‌ها در روز هفتم مطالعه‌ای در دست نیست (القا با اسید استیک ۴ درصد IL-1 و TNF- $\alpha$  را پس افزایش TNF- $\alpha$  و IL-1 $\beta$  شده است [۵۶]. لذا به طور خلاصه می‌توان گفت که مصرف شیلاجیت در طی کولیت اولسراتیو با تغییرات مناسب در میزان سایتوکین‌ها در روند بهبود کولیت مؤثر باشد البته مکانیسم‌های دقیق آن نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

افزایش معنی‌داری دارند. به هر ترتیب گرچه میزان این سایتوکین التهابی در گروه شیلاجیت نسبت به گروه کولیت افزایش داشت اما این مقادیر به گروه شم بسیار نزدیک بود همچنین نسبت وزن روده به وزن بدن حیوان در گروه شیلاجیت کاهش نشان داد. پس این می‌تواند نتیجه‌ی مطلوبی باشد. البته ممکن است این سایتوکین مانند TNF- $\alpha$ ، اینکه در شرایط حاد و یا مزمن کولیت باشد متفاوت عمل کند یعنی به جای آنکه مثل همیشه یک سایتوکین التهابی محسوب شود در این مرحله به عنوان یک سایتوکین ضدالتهابی ظاهر شده باشد [۳۹].

IL-13 و IL-4 با یکدیگر در ارتباط‌اند [۲۲]. در نتایج این مطالعه تغییرات این دو سایتوکین نیز مشابه هم می‌باشد که علت این موضوع می‌تواند همین ارتباط دو سایتوکین باشد.

Brody و Powell نشان دادند که میزان (پروتئین و mRNA) IL-4 در بیماران مبتلا به کولیت اولسراتیو کاهش می‌یابد [۴۰] در مطالعه‌ای دیگر آمده است که ۴۵ دقیقه بعد از القا کولیت با اسید استیک در Rat، IL-4 افزایش داشته ولی در طی ۲۴ ساعت بعد شروع به کاهش می‌کند [۴۱]. ولی منابع دیگر که القا کولیت با oxazolone بود به افزایش آن اشاره کرده‌اند [۴۲]. در مطالعه‌ای دیگر نیز آمده است که در القا کولیت مزمن با DSS، IL-4 افزایش می‌یابد. این مطالعات نشان می‌دهند نوع روش القا برای ایجاد کولیت می‌تواند میزان IL-4 در روده ملتهب را به طور متفاوتی تحت تأثیر قرار دهد [۴۳].

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد شیلاجیت توانسته است میزان IL-10، IL-13، IL-4، TNF- $\alpha$  را به مقادیر نرمال آنها در گروه sham نزدیک کند. مقادیر IL-1 $\beta$  در گروه سولفاسالازین نسبت به گروه شیلاجیت به مقادیر طبیعی‌اش در گروه شم نزدیک‌تر بود. با توجه به اینکه نسبت وزن روده‌ها به وزن بدن حیوان‌ها در گروه‌های شیلاجیت نسبت به گروه سولفاسالازین کمتر شده است می‌تواند نشان‌دهنده‌ی این باشد که شیلاجیت با ایجاد تغییر

## ۵. نتیجه گیری

با مصرف شیلاجیت سایتوکین‌های (IL-4, IL-10, IL-13) به مقادیر نرمال خود دست یافته اند. IL-1 $\beta$  در گروه حلال خوراکی گرچه نسبت به گروه کولیت یا حلال کاهش داشت ولی با مقادیر گروه شم هنوز فاصله داشت. این مطالعه نشان داد که شیلاجیت داخل مقعدی نسبت به شیلاجیت خوراکی اثرات مناسب‌تری بر مقادیر IL-4, IL-13, IL-1 $\beta$  داشت. این دو گروه اثرات مشابهی بر مقادیر TNF- $\alpha$  و IL-10 داشتند.

## مشارکت نویسندگان

نادر شاه‌رخی در طراحی پژوهش، نظارت بر روند اجرایی آن و مرور مقاله، غلامرضا اسدی کرم در محلول‌سازی و

## منابع

1. Fuss IJ, Neurath M, Boirivant M, Klein JS, De La Motte C, Strong SA and et al. Disparate CD4<sup>+</sup> lamina propria (LP) lymphokine secretion profiles in inflammatory bowel disease. Crohn's disease LP cells manifest increased secretion of IFN-gamma, whereas ulcerative colitis LP cells manifest increased secretion of IL-5. *J. Immunol.* 1996; 157(3): 1261-70.
2. Sartor RB. Current concepts of the etiology and pathogenesis of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gastroenterology Clin. North Am.* 1995; 24(3): 475-507.
3. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. *Basic & clinical pharmacology.* 2004; 10: 1033-52.
4. Galloway JB, Hyrich KL, Mercer LK, Dixon WG, Fu B, Ustianowski AP and et al. Anti-TNF therapy is associated with an increased risk of

- serious infections in patients with rheumatoid arthritis especially in the first 6 months of treatment: updated results from the British Society for Rheumatology Biologics Register with special emphasis on risks in the elderly. *J. Rheumatol.* 2010; 50(1): 124-31.
5. Musa RB, Usha L, Hibbeln J and Mutlu EA. TNF inhibitors to treat ulcerative colitis in a metastatic breast cancer patient: A case report and literature review. *WJG.* 2014; 20(19): 5912.
  6. Descamps-Latscha B, Herbelin A, Nguyen AT, Roux-Lombard P, Zingraff J, Moynot A and et al. Balance between IL-1 beta, TNF-alpha, and their specific inhibitors in chronic renal failure and maintenance dialysis. Relationships with activation markers of T cells, B cells, and monocytes. *J. Immunol.* 1995; 154(2): 882-92.

7. Ghaaazi Firozsalari F, Shahrokhi N, Khaksari Hadad M, Asadikaram G and Atashbar J. Effect of Shilajit on the Levels of Pro-inflammatory and Anti-inflammation Cytokines in Hepatic Injury in Male Rats. *J. Mazandaran Univ. Med. Sci.* 2018; 27(159): 1-13.
8. Saxena A, Kaur K, Hegde S, Kalekhan FM, Baliga MS and Fayad R. Dietary agents and phytochemicals in the prevention and treatment of experimental ulcerative colitis. *J. Tradit. Complement. Med.* 2014; 4(4): 203-17.
9. Neelima S, Babu TN, Kumar MP and Kumar CH. Effect of shilajit on acetic acid induced inflammatory bowel disease in rats. *IJARMPS.* 2017; 8(2): 147-50.
10. Aziz S, Khaliq S, Ghani KS, Irshad M, Green IR and Hussain H. Phytochemical Screening and Biological Studies of Shilajit (Asphaltum). *International Journal of Phytomedicine* 2017; 9(1): 15-9.
11. Mirza MA, Alam MN, Faiyazuddin M, Mahmood D, Bairwa R and Mustafa G. Shilajit: An ancient panacea. *Int. J. Curr. Pharmaceut. Rev. Res.* 2010; 1: 2-11.
12. Rege A, Juvekar P and Juvekar A. In vitro antioxidant and anti-arthritis activities of Shilajit. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2012; 4(2): 650-3.
13. Shahrokhi N, Keshavarzi Z and Khaksari M. Ulcer healing activity of Mumijo aqueous extract against acetic acid induced gastric ulcer in rats. *J. Pharm. Bioallied. Sci.* 2015; 7(1): 56.
14. Mona S, Neha S, Chhavi S, Ajay K and KM S. Asphaltum panjabinum: a new antioxidant in urolithiasis: a clinical study. *JARBS.* 2014; 6(2): 118-21.
15. Fuss IJ, Strober W. The role of IL-13 and NK T. cells in experimental and human ulcerative colitis. *J. Mucosal. Immunology Res.* 2008; 1(01): S31.
16. Berman D, Parker SM, Siegel J, Chasalow SD, Weber J, Galbraith S and et al. Blockade of cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 by ipilimumab results in dysregulation of gastrointestinal immunity in patients with advanced melanoma. *Cancer Immun.* 2010; 10(1): 11.
17. Reinacker H, Steffen M, Witthoeft T, Pflueger I, Schreiber S, MacDermott R and et al. Enhanced secretion of tumor necrosis factor- $\alpha$ , IL-6, and IL-1  $\beta$  by isolated lamina propria mononuclear cells from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Clin. Exp. Immunol.* 1993; 94: 174-81.
18. Li M-C and He S-H. IL-10 and its related cytokines for treatment of inflammatory bowel disease. *WJG.* 2004; 10(5): 620.
19. Zurawski G and de Vries JE. Interleukin 13, an interleukin 4-like cytokine that acts on monocytes and B cells, but not on T cells. *Immunology Today* 1994; 15(1): 19-26.
20. de Waal Malefyt R, Figdor CG, Huijbens R, Mohan-Peterson S, Bennett B and Culpepper J. Dang W, Zurawski G and de Vries JE. Effects of IL-13 on phenotype, cytokine production, and cytotoxic function of human monocytes. Comparison with IL-4 and modulation by IFN- $\gamma$  or IL-10. *J. Immunol.* 1993; 151(11): 6370-81.

21. Inoue S, Matsumoto T, Iida M, Mizuno M, Kuroki F, Hoshika K and et al. Characterization of cytokine expression in the rectal mucosa of ulcerative colitis: correlation with disease activity. *AJG*. 1999; 94(9): 2441-6.
22. Heller F, Florian P, Bojarski C, Richter J, Christ M, Hillenbrand B and et al. Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. *Gastroenterol*. 2005; 129(2): 550-64.
23. Shahrokhi N, Asadikaram GH and Amirafzali F. Protective effect of Mumiju against acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *AJP*. 2018; 8(5): 457.
24. Kumar V, Abbas AK, Fausto N and Aster JC. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, Professional Edition E-Book: Elsevier Health Sciences, 2014.
25. Ran ZH, Chen C, Xiao SD. Epigallocatechin-3-gallate ameliorates rats colitis induced by acetic acid. *Biomed Pharmacothe*. 2008; 62(3): 189-96.
26. Phaechamud T, Charoenteeraboon J, Wetwitayaklung P, Limmatvapirat C and Srichan T. Some Biological Activities and Safety of Mineral Pitch. *SUSTJ*. 2008; 2(2): 7-17.
27. Ran ZH, Chen C and Xiao SD. Epigallocatechin-3-gallate ameliorates rats colitis induced by acetic acid. *Biomed Pharmacothe*. 2008; 62(3): 189-96.
28. Noa M, Más R and Carbajal D. Effect of D-002 on acetic acid-induced colitis in rats at single and repeated doses. *Pharmacol. Res*. 2000; 41(4): 391-5.
29. MacPherson B and Pfeiffer C. Experimental production of diffuse colitis in rats. *Digestion*. 1978; 17(2): 135-50.
30. Fabia R, Willen R, Ar'Rajab A, Andersson R, Ahren B and Bengmark S. Acetic acid-induced colitis in the rat: a reproducible experimental model for acute ulcerative colitis. *Eur. Sur. Res*. 1992; 24(4): 211-25.
31. Hagar HH, El Medany A, El Eter E and Arafa M. Ameliorative effect of pyrrolidinedithiocarbamate on acetic acid-induced colitis in rats. *Eur. J. Pharmacol*. 2007; 554(1): 69-77.
32. McKelvey-Martin V, Green M, Schmezer P, Pool-Zobel B, De Meo M and Collins A. The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): a European review. *Mutat. Res*. 1993; 288(1): 47-63.
33. Chern CM, Liao JF, Wang YH and Shen YC. Melatonin ameliorates neural function by promoting endogenous neurogenesis through MT2 melatonin receptor in ischemic stroke mice. *Free Rad. Biol. Med*. 2012; 52(9): 1634-1647.
34. Jung HC, Eckmann L, Yang S-k, Panja A, Fierer J, Morzycka-Wroblewska E and et al. A distinct array of proinflammatory cytokines is expressed in human colon epithelial cells in response to bacterial invasion. *JCI*. 1995; 95(1): 55-65.
35. Abreu MT. Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nat. Rev. Immunol*. 2010; 10(2): 131.
36. Lih-Brody L, Powell SR, Collier KP, Reddy GM, Cerchia R, Kahn E and et al.

Increased oxidative stress and decreased antioxidant defenses in mucosa of inflammatory bowel disease *DIGEST*. 1996; 41(10): 2078-86.

37. Berg DJ, Davidson N, Kühn R, Müller W, Menon S, Holland G and et al. Enterocolitis and colon cancer in interleukin-10-deficient mice are associated with aberrant cytokine production and CD4 (+) TH1-like responses. *JCI*. 1996; 98(4): 1010-20.

38. Zigmond E, Bernshtein B, Friedlander G, Walker CR, Yona S, Kim K-W and et al. Macrophage-restricted interleukin-10 receptor deficiency, but not IL-10 deficiency, causes severe spontaneous colitis. *Immunity* 2014; 40(5): 720-33.

39. Kojouharoff G, Hans W, Obermeier F, MANNEL D, Andus T, SCHO LMERICH J and et al. Neutralization of tumour necrosis factor (TNF) but not of IL-1 reduces inflammation in chronic dextran sulphate sodium-induced colitis in mice. *J. Clin. Exp. Immunol.* 1997; 107(2): 353-8.

40. West G, Matsuura T, Levine A, Klein J and Fiocchi C. Interleukin 4 in inflammatory bowel disease and mucosal immune reactivity. *Gastroenterol.* 1996; 110(6): 1683-95.

41. Bertevello PL, Logullo ÂF, Nonogaki S, Campos FM, Chiferi V, Alves CC and et al. Immunohistochemical assessment of mucosal cytokine profile in acetic acid experimental colitis. *Clinics* 2005; 60(4): 277-86.

42. Boirivant M, Fuss IJ, Chu A and Strober W. Oxazolone colitis: a murine model of T helper cell type 2 colitis treatable with antibodies to interleukin 4. *JEM*. 1998; 188(10): 1929-39.

43. Rees V. Chronic experimental colitis induced by dextran sulphate sodium (DSS) is characterized by Th1 and Th2 cytokines. *Clin. Exp. Immunol.* 1998; 114(3): 385-91.

44. Cheah KY, Bastian SE, Acott TM, Abimosleh SM, Lymn KA and Howarth GS. Grape seed extract reduces the severity of selected disease markers in the proximal colon of dextran sulphate sodium-induced colitis in rats. *Dig. Dis. Sci.* 2013; 58(4): 970-7.

45. Dharmani P, Leung P and Chadee K. Tumor necrosis factor- $\alpha$  and Muc2 mucin play major roles in disease onset and progression in dextran sodium sulphate-induced colitis. *PLoS One* 2011; 6(9): e25058.

46. da Silva MS, Sánchez-Fidalgo S, Talero E, Cárdeno A, da Silva MA, Villegas W and et al. Anti-inflammatory intestinal activity of *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barneby & Grimes in TNBS colitis model. *J. Ethnopharmacol.* 2010; 128(2): 467-75.

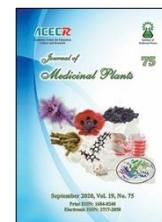
47. De Almeida ABA, Sanchez-Hidalgo M, Martín AR, Luiz-Ferreira A, Trigo JR, Villegas W and et al. Anti-inflammatory intestinal activity of *Arctium lappa* L. (Asteraceae) in TNBS colitis model. *J. Ethnopharmacol.* 2013; 146(1): 300-10.

48. Ding TT. Therapeutic effects of *Clostridium butyricum* on experimental colitis induced by oxazolone in rats. *WJG*. 2009; 15: 007.

49. Yang J, Zhao J, Nakaguchi T and Gregersen H. Biomechanical changes in oxazolone-induced colitis in BALB/C mice. *J. Biomechanics* 2009; 42(7): 811-7.

50. Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR and Wallace JL. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterol.* 1989; 96(2): 795-803.
51. Isik F, Akbay TT, Yarat A, Genc Z, Pisiriciler R, Caliskan-Ak E and et al. Protective effects of black cumin (*Nigella sativa*) oil on TNBS-induced experimental colitis in rats. *Dig. Dis. Sci.* 2011; 56(3): 721-30.
52. Elson CO, Sartor RB, Tennyson GS and Riddell RH. Experimental models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol.* 1995; 109(4): 1344-67.
53. Yu Q, Zhu S, Zhou R, Yi F, Bing Y, Huang S and et al. Effects of sinomenine on the expression of microRNA-155 in 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis in mice. *PloS One.* 2013; 8(9): e73757.
54. Ni J, Chen S and Hollander D. Effects of dextran sulphate sodium on intestinal epithelial cells and intestinal lymphocytes. *Gut.* 1996; 39(2): 234-41.
55. Heller F, Fuss IJ, Nieuwenhuis EE, Blumberg RS and Strober W. Oxazolone colitis, a Th2 colitis model resembling ulcerative colitis, is mediated by IL-13-producing NK-T cells. *Immunity.* 2002; 17(5): 629-38.
56. Tahan G, Gramignoli R, Marongiu F, Aktolga S, Cetinkaya A, Tahan V and et al. Melatonin expresses powerful anti-inflammatory and antioxidant activities resulting in complete improvement of acetic-acid-induced colitis in rats. *Dig Dis. Sci.* 2011; 56(3): 715-20.

How to cite this article: Alimahdi F, Shahrokhi N, Khaksari Hadad M, Asadikaram GhR, Abolhasani M. Effect of shilajit on the levels of pro-inflammatory and anti inflammatory cytokines in ulcerative colitis induced by acetic acid in male rats. **Journal of Medicinal Plants** 2020; 19(75): 78-91. doi: 10.29252/jmp.19.75.78



## Research Article

# Effect of shilajit on the levels of pro-inflammatory and anti inflammatory cytokines in ulcerative colitis induced by acetic acid in male rats

Fatemeh Alimahdi<sup>1</sup>, Nader Shahrokhi<sup>2,\*</sup>, Mohammad Khaksari Hadad<sup>2</sup>, Gholamerza Asadikaram<sup>3</sup>, Moslem Abolhasani<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

<sup>2</sup> Physiology Research Center, Institute of Basic and Clinical Physiology Sciences, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

<sup>3</sup> Endocrinology and Metabolism Research Center, Institute of Basic and Clinical Physiology Sciences, University of Medical Sciences, Kerman, Iran

<sup>4</sup> Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

## ARTICLE INFO

### Keywords:

Asphaltum  
Cytokine  
Shilajit  
Sulfasalazin  
Ulcerative colitis

## ABSTRACT

**Background:** The levels of IL-13, IL-4, IL-1B, TNF- $\alpha$  and IL-10 alter in the colon of people with ulcerative colitis. previous studies, it was found that shilajit (asphaltum) was effective in the improvement of ulcerative colitis. we guessed that the shilajit has been able to improve the ulcerative colitis by affecting the amount of cytokines. **Objective:** The aim of the present study was to investigate the effects of shilajit on IL-13, IL-4, IL-1B, TNF- $\alpha$  and IL-10 in ulcerative colitis. **Methods:** In this experimental study, 49 white male rats were randomly divided into 7 groups including sham groups, ulcerative colitis, Gavage vehicle, Gavage shilajit, sulfasalazine, Intra Anal Vehicle, Intra Anal shilajit. To produce ulcerative colitis 2 cc acetic acid (4%) was prescribed intra-rectal. 4 days after the induction of colitis, it was given 4 days: shilajit 250 mg / kg was used as a gavage or intra anal. Sulfasalazine was dosed at 250 mg / kg in the form of gavage. **Results:** The Gavage shilajit group increased IL-10, IL-4 and decreased IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  compared to Gavage vehicle group. Shilajit has been able to close the levels of IL-4, IL-13, IL-10, TNF- $\alpha$  to normal values of the sham group. **Conclusion:** Considering that the weight ratio of intestinal rat to the body of rat in the shilajit groups was lower than that of the sulfasalazine group, it can be shown that shilajit has been able to more reduce inflammation by making a more suitable change in cytokines in comparison with sulfasalazine.

**Abbreviations:** UC, Ulcerative colitis; IBD, Inflammatory bowel disease.

\* Corresponding author: [nshahrokhisa@yahoo.com](mailto:nshahrokhisa@yahoo.com), [nshahrokhikhi@kmu.ac.ir](mailto:nshahrokhikhi@kmu.ac.ir)

doi: [10.29252/jmp.19.75.78](https://doi.org/10.29252/jmp.19.75.78)

Received 25 November 2018; Received in revised form 27 July 2019; Accepted 6 August 2019

© 2020. Open access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)