DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.2.3.9

بررسی اثرات تستوسترون و عصاره هیدروالکلی دانه خرفه بر درد حاصل از القای تست تیل فلیک در موش های سوری نر

رحیم احمدی[۱]، بهروز خاکپور[۲]، مونا پاکدل[۳]، الوند الوانی[۴]* و ادریس مهدوی[۵]

[۱] ایران، همدان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، دانشکده علوم پایه، گروه فیزیولوژی

[۲] ایران، رشت، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

[۳] ایران، تهران، دانشگاه الزهرا (س)، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

[۴] ایران، دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دانشکده علوم پایه، گروه فیزیولوژی

[۵] ایران، رشت، دانشگاه گیلان، دانشکده کشاورزی، گروه کشاورزی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۰۴

چکیده

هورمونهای استروئیدی و بسیاری از عصاره های گیاهی می توانند پاسخ به درد را میانجیگری کنند. هدف این مطالعه بررسی اثرات تستوسترون و عصاره خرفه بر درد حاصل از القای تست تیل فلیک در موش های نر بوده است. در این مطالعهٔ تجربی آزمایشگاهی، ۱۵۰ سر موش سوری نر به طور تصادفی به گروههای کنترل، دریافت کننده دوزهای پایین، متوسط و بالای عصاره دانه خرفه و نیز تستوسترون و دریافت کننده "عصاره خرفه + تستوسترون" با دوزهای مختلف تقسیم بندی شدند. پس از تزریق درون صفاقی عصاره و هورمون، آستانه درد توسط دستگاه تیل فلیک اندازه گیری شده و داده ها از طریق آزمون آماری ANOVA تجزیه و تحلیل شدند. افزایش آستانه درد، ۳۰ دقیقه و ۱ ساعت پس از تزریق دوز متوسط عصاره (به ترتیب P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱)، و ۳۰ دقیقه و ۱ ساعت پس از تزریق دوز بالای عصاره (P<۰/۰۰۱)، مشاهده شد. تزریق دوز متوسط و بالای تستوسترون در ۱ ساعت پس از تزریق سبب افزایش آستانه درد شد (به ترتیب P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱). از طرفی، تجویز توام دوز متوسط یا بالای تستوسترون همراه با دوز متوسط یا بالای عصاره سبب افزایش بیشتر آستانه درد نسبت به گروه های دریافت کننده دوز متناظر تستوسترون یا عصاره شد (P<۰/۰۱). نتایج نشان می دهند که عصاره دانه خرفه و تستوسترون در دوزهای مناسب، اثر کاهندگی درد دارند. همچنین، عصاره دانه خرفه و تستوسترون دارای اثر هم افزایی بر کاهش درد می باشند.

واژه های کلیدی: تستوسترون، خرفه، آستانه درد، تیل فلیک، موش سوری.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۶۱۲۰۳۵۳، پست الکترونیکی: amirali13560@yahoo.com

مقدمه

تستوسترون، یکی از مهمترین هورمون های استروئیدی است که اساساً در غدد جنسی ساخته می شود. به طور کلی میزان بیان این هورمون در مردان بسیار بیشتر از زنان می باشد. تستوسترون، دارای نقش اصلی در رشد بافت های تولید مثلی از قبیل بیضه، پروستات و همچنین رشد ماهیچه، استخوان و موی بدن است (۸، ۲۴، ۳۰، ۱۷). مطالعات نشان داده اند که بسیاری از هورمون ها دارای نقش مهمی در درمان و کاهش درد می باشند. در این راستا، نقش هورمون رشد (۱۸)، گنادوتروپین (۴) و کلسی تونین (۵) در درد مورد بررسی قرار گرفته است. تحقیقات نشان داده اند که هورمون های جنسی نیز مانند سایر هورمون ها بر درد اثر می گذارند (۹ و ۲۶). یکی از

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.2.3.9

هورمون های جنسی که نقشی در کاهش درد دارد، تستوسترون می باشد (۷). گرچه و در مقابل، برخی مطالعات نشان داده اند که هورمونهای جنسی در تنظیم و تعدیل درد، نقش قابل توجهی ندارند (۲).

از طرفی، تعدادی از گیاهان دارای خواص آنتی اکسیدانی و دارویی قابل ملاحظه می باشند. گیاه خرفه (Portulaca oleracea L.) از جمله گیاهانی است که مورد توجه متخصصان تغذیه و طب سنتی قرار گرفته است. محل رویش این گیاه در مزارع کشاورزی و مرغزارها می باشد (۲۸، ۲۹). گیاه خرفه دارای برگ و ساقهٔ آبدار و قابل خوردن با طعمی اسیدی و شور است. این گیاه دارای خواص مغذی و آنتی اکسیدانی و همچنین مصارف دارویی می باشد. به دلیل وجود امگا ۳، آلفا توکوفرول، اسید آسکوربیک، بتا کاروتن و گلوتاتیون در خرفه، این گیاه به عنوان یک منبع غذایی با ارزش شناخته شده است (۱۲). به عنوان مثال، امگا ۳ موجود در خرفه به عنوان یک عامل مهم در جلوگیری از حملهٔ قلبی و تقویت سیستم ایمنی محسوب می شود (۲۵). هیچ گونه اثر سیتوتوکسیکی در عصاره گیاه خرفه مشاهده نشده؛ بنابراین، مصرف خوراکی این گیاه کاملاً ایمن شناخته شده است (۳۳). تحقیقات نشان داده اند که بتاسیانین های جدا شده از خرفه، در درمان اختلالات شناختی موش های پیر مؤثر می باشد (۳۱). گیاه خرفه همچنین به عنوان یک درمان مؤثر برای برخی بیماریهای پوستی به کار می رود (۱). مشخص شده است که در بهترین شرایط رشد، می توان بیشترین میزان اسید چرب و کمترین میزان اگزالیک اسید را از برگ های این گیاه به دست آورد (۲۱ و ۲۲). خرفه به عنوان یک گیاه دارویی و در طب سنتی مورد مطالعات فراوانی قرار گرفته است، اما تحقیقات زیادی در خصوص اثرات آن بر درد، به ویژه در مدل آزمایشگاهی، صورت نگرفته است.

با توجه به نتایج ضد و نقیض حاصل از تحقیقات در خصوص بررسی اثرات هورمونهای جنسی بر آستانه درد (۲) و نیز اهمیت کاهش درد به عنوان یکی از بزرگترین و مهمترین دغدغه های بشر و همچنین با توجه به مطالعات بسیار محدود در خصوص اثر گیاه خرفه بر آستانه درد، این تحقیق به بررسی اثر هورمون تستوسترون و خرفه به صورت مستقل از هم و نیز توام بر آستانهٔ درد موش های سوری در مدل تیل فلیک پرداخته است. از طرفی، با توجه به اینکه پاسخ به درد بسیار وابسته به دوز ماده مورد بررسی است؛ بنابراین، در این تحقیق دوزهای مختلف مورد بررسی قرار گرفته اند. نتایج این تحقیق به ویژه از نظر بررسی تداخل اثرات تستوسترون و خرفه در تنظیم و تعدیل درد، در نوع خود، یافته های نوینی می باشند.

مواد و روشها

تحقیق حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده و طی آن از موشهای سوری نر بالغ به وزن ۲۵- ۳۵ گرمی از نژاد بالب سی استفاده شده است. موش ها به مدت یک هفته در اتاق حیوانات دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گیلان نگهداری شده و به آب و غذای استاندارد به صورت آزادانه دسترسی داشتند. موش ها در قفس و در دمای ۲۲ درجه سانتی گراد و در سیکل تاریکی (۱۲ ساعت) و روشنایی (۱۲ ساعت) قرار داده شدند و آزمایشات به دور از هر گونه استرس رفتاری بر روی آن ها انجام شده است.

بر مبنای مطالعات پیشین (۳ و ۲۰)، سنجش آستانه درد توسط دستگاه کشش دم (تیل فلیک) مدل TF-550 انجام شد. در این روش ابتدا نور با شدت های مختلف به دم حیوانات تابیده می شود تا شدتی از نور که سبب می شود حیوان دم خود را پس از ۲- ۳ ثانیه از مسیر تابش نور کنار بکشد، به دست آید. این شدت تابش به عنوان شدت حداکثر شناخته می شود. در این شدت، زمان ۱۰ ثانیه به عنوان حداکثر زمان در نظر گرفته شد (۱۰، ۱۳). هر حیوان ۲ بار در زیر دستگاه کشش دم قرار داده شده و میانگین

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.2.3.9

این ۲ بار به عنوان پاسخ حیوان در نظر گرفته شد. بدین منظور، ابتدا حیوان در داخل محفظه مخصوصی قرار گرفته و پس از گذشت ۱۰ دقیقه جهت کاهش اضطراب، نور به ناحیه مورد نظر در دم حیوان تابیده شد (۱۶). سپس به حیوان ۵ دقیقه استراحت داده شده و برای بار دوم،کار تکرار گردید.

جهت تهیه عصاره، دانه خرفه تازه برداشت شده در اواسط خرداد ماه مورد استفاده قرار گرفت و پس از شستشوی دقیق و چند باره، به مدت یک هفته در سایه خشک گردید . متعاقبا" دانه های خرفه خشک توسط آسیاب برقی به پودر تبدیل شده، آنگاه در ۱/۵ لیتر اتانول ۸۰ درصد در دستگاه شیکر و دور از نور به مدت سه روز خیسانده شدند. سپس نمونه صاف شده و توسط دستگاه روتاری و در دمای ۵۰ درجه، حلال ا از عصاره جدا گردیدو عصاره که محلولی غلیظ و به رنگ زرد تیره بود، در داخل پلیت قرار داده شد و پس از دو تا سه روز خشک گردید. در نهایت ۲۰ گرم عصاره در ۱۰۰ سی سی نرمال سالین حل شده و محلول ۲۰ درصد عصاره به عنوان ذخیره مورد استفاده قرار گرفت و در مواقع لازم دوزهای مورد نیاز از این محلول ذخیره تهیه شد و قبل از تزریق به منظور ضد عفونی کردن، عصاره از فیلتر استریل عبور داده شد.

در برنامه مطالعاتی، ۱۵۰ سر موش سوری بالب سی نر به طور تصادفی به گروههای ۵ سری تقسیم شدند. این گروهها عبارت بودند از گروه های کنترل (شامل گروه دریافت کننده نرمال سالین و گروه دریافت کننده روغن کنجد)، دریافت کننده عصاره دانه خرفه با دوز پایین (۱۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم)، دوز متوسط (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و دوز بالا (۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم)، دریافت کننده تستوسترون با دوز پایین (۱۰ میلی گرم بر کیلو گرم)، دوز متوسط (۲۰میلی گرم بر کیلوگرم) و دوز بالا (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، گروه‌های دریافت کننده توأم عصاره آبی دانه خرفه و تستوسترون شامل زیرگروههای دریافت کننده توأم دوز پایین عصاره خرفه (۱۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و دوز پایین تستوسترون (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و دریافت کنندهٔ توأم دوز متوسط خرفه (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و دوز متوسط تستوسترون (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، و دریافت کنندهٔ توأم دوز بالای خرفه (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و دوز بالای تستوسترون (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم)،. تزریق عصاره خرفه و تستوسترون به صورت درون صفاقی انجام شده و متعاقباً تست تیل فلیک اجرا گردید. در طول مطالعه، تمامی قوانین بین المللی حقوق نمونه ها براساس استانداردهای بین المللی رعایت گردید (۱۵).

در بررسی های آماری، توسط نرم‌افزار SPSS20، ابتدا از نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف، اطمینان حاصل شد. در نهایت، نتایج حاصل با استفاده از آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) بین گروه ها مقایسه گردیده و با استفاده از آزمون بن فرونی (Bonferroni) ، معناداری اختلاف بین گروه ها تعیین شد . سطح معناداری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

جدول شماره ۱ نشانگر نتایج حاصل از بررسی اثر عصاره خرفه و زمان تزریق بر زمان کشش دم در موشهای سوری نر می باشد. با توجه به نتایج مندرج در جدول شماره ۱، تزریق دوز پایین خرفه اثر معناداری بر زمان کشش دم در مقایسه با گروه کنترل نداشته است. از سویی، تزریق دوز متوسط خرفه باعث افزایش معنادار زمان کشش دم در مقایسه با گروه کنترل در T1 و T2 شد (به ترتیب P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱)، اما زمان کشش دم در T1 و T2 نسبت به هم دارای تفاوت معناداری نبود. . تزریق دوز بالای خرفه نیز باعث افزایش معنادار زمان کشش دم در مقایسه با گروه کنترل در T1 و T2 شد (P<۰/۰۰۱)، اما زمان کشش دم در T1 و T2 نسبت به هم دارای تفاوت

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.2.3.9

معناداری نبود. از طرفی، زمان کشش دم در T1 و T2 در گروه دریافت کننده دوز بالای خرفه نسبت به گروه دریافت کننده دوز متوسط خرفه، به طور معناداری بیشتر بود (P<۰/۰۱).

جدول۱- میانگین واکنش زمان کشش دم در تست تیل فلیک در گروه کنترل و گروه های مورد مطالعه با دوز های مختلف عصاره دانه خرفه در زمان های قبل وبعد از تزریق در موشهای سوری نر.

زمان واکنش دم / گروه	Mean ± SEM	P-value
کنترل (دریافت کنندۀنرمال سالین)	2.933±0.1633	–
دوز پایین خرفه در زمان T0	3.00±0.1414	N.S
دوز پایین خرفه در زمان T1	3.033±0.1032	N.S
دوز پایین خرفه در زمان T2	3.050±0.1760	N.S
دوز متوسط خرفه در زمان T0	2.966±0.1032	N.S
دوز متوسط خرفه در زمان T1	3.888±0.2228	<0.05
دوز متوسط خرفه در زمان T2	4.233±0.2250	<0.01
دوزبالای خرفه در زمان T0	2.983±0.1169	N.S
دوز بالای خرفه در زمان T1	5.683±0.6274	<0.001
دوز بالای خرفه در زمان T2	5.700±0.4647	<0.001

هر گروه شامل ۵ سر موش بوده و N.S بیانگر عدم وجود اختلاف معنادار در مقایسه با گروه کنترل است. T0 بیانگر زمان قبل از تزریق،T1 نشانگر ۳۰ دقیقه بعد از تزریق و T2 بیانگر ۱ ساعت بعد از تزریق است. مقادیر P در مقایسه با گروه کنترل بیان شده اند.

جدول شماره ۲ بیانگر نتایج حاصل از بررسی اثر هورمون تستوسترون بر زمان کشش دم در موشهای سوری نر می باشد. با توجه به نتایج مندرج در جدول شماره ۲، تزریق دوز پایین تستوسترون اثر معناداری بر زمان کشش دم در مقایسه با گروه کنترل نداشته است. از سویی، تزریق دوز متوسط و بالای تستوسترون در T1 تاثیر معناداری بر زمان کشش دم در مقایسه با گروه کنترل نداشت، اما زمان کشش دم در T2 نسبت به گروه کنترل دچار افزایش معناداری شد (به ترتیب P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱). از طرفی، زمان کشش دم در T2 در گروه دریافت کننده دوز بالای تستوسترون نسبت به گروه دریافت کننده دوز متوسط تستوسترون، به طور معناداری بیشتر بود (P<۰/۰۱). از سویی، مقایسه زمان کشش دم در گروههای تیمار شده با دوز متوسط یا بالای تستوسترون به ترتیب در مقایسه با گروههای تیمار شده با دوز متوسط یا بالای خرفه بیانگر عدم اختلاف معنادار میان این گروهها است.

جدول۲- میانگین واکنش زمان کشش دم در تست تیل فلیک در گروه کنترل و گروه های مورد مطالعه با دوز های مختلف تستوسترون در زمان های قبل وبعد از تزریق در موشهای سوری نر.

زمان واکنش دم / گروه	Mean ± SEM	P-value
کنترل (دریافت کنندۀ روغن کنجد)	2.900±0.213	–
دوز پایین تستوسترون در زمان T0	2.933±0.163	N.S
دوز پایین تستوسترون در زمان T1	2.916±0.204	N.S
دوز پایین تستوسترون در زمان T2	3.050±0.187	N.S
دوز متوسط تستوسترون در زمان T0	2.950±0.234	N.S
دوز متوسط تستوسترون در زمان T1	2.966±0.121	N.S
دوز متوسط تستوسترون در زمان T2	4.033±0.136	<0.01
دوزبالای تستوسترون در زمان T0	2.883±0.147	N.S
دوز بالای تستوسترون در زمان T1	3.116±0.147	N.S
دوز بالای تستوسترون در زمان T2	5.266±0.403	<0.001

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.2.3.9

هر گروه شامل ۵ سر موش بوده و N.S بیانگر عدم وجود اختلاف معنادار در مقایسه با گروه کنترل است. T0 بیانگر زمان قبل از تزریق،T1 نشانگر ۳۰ دقیقه بعد از تزریق و T2 بیانگر ۱ ساعت بعد از تزریق است. مقادیر P در مقایسه با گروه کنترل بیان شده اند.

جدول شماره ۳ بیانگر نتایج حاصل از بررسی اثر توأم هورمون تستوسترون و خرفه بر زمان کشش دم در موشهای سوری نر می باشد. با توجه به نتایج مندرج در جدول شماره ۳، تیمار توام دوز پایین تستوسترون و دوز پایین خرفه اثر معناداری بر زمان کشش دم در مقایسه با گروه کنترل نداشته است. از سویی، تیمار دوز متوسط تستوسترون و دوز متوسط خرفه در T1 و T2 سبب افزایش معنادار زمان کشش دم در مقایسه با گروه کنترل شد (به ترتیب P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱)، اما زمان کشش دم در T1 و T2 نسبت به هم دارای تفاوت معناداری نبود. همچنین، تیمار دوز بالای تستوسترون و دوز بالای خرفه در T1 و T2 سبب افزایش معنادار زمان کشش دم در مقایسه با گروه کنترل شد (P<۰/۰۰۱)، اما زمان کشش دم در T1 و T2 نسبت به هم دارای تفاوت معناداری نبود. از طرفی، تیمار دوز بالای تستوسترون و دوز بالای خرفه در T1 و T2 سبب افزایش بیشتر زمان کشش دم در مقایسه با گروه تیمار شده با دوز متوسط تستوسترون و دوز متوسط خرفه در T1 و T2 شد (P<۰/۰۱). از طرفی، زمان کشش دم در T1 و T2 در گروه تیمار شده توام با دوز بالای تستوسترون و دوز بالای خرفه نسبت به گروه دریافت کننده دوز بالای تستوسترون و نیز نسبت به گروه دریافت کننده دوز بالای خرفه، به طور معناداری بیشتر بود (P<۰/۰۱).

جدول۳- میانگین واکنش زمان کشش دم در تست تیل فلیک در گروه کنترل و گروه های مورد مطالعه با اثر توام دوز های مختلف تستوسترون و خرفه در زمان های قبل وبعد از تزریق در موشهای سوری نر.

زمان واکنش دم / گروه	Mean ± SEM	P-value
کنترل (دریافت کننده توام روغن کنجد و نرمال سالین)	2.910±0.116	–
دوز پایین تستوسترون + دوز پایین خرفه در زمان T0	3.083±0.248	N.S
دوز پایین تستوسترون + دوز پایین خرفه در زمان T1	3.116±0.248	N.S
دوز پایین تستوسترون + دوز پایین خرفه در زمان T2	3.066±0.233	N.S
دوز متوسط تستوسترون+ دوز متوسط خرفه در زمان T0	3.000±0.141	N.S
دوز متوسط تستوسترون+ دوز متوسط خرفه در زمان T1	4.200±0.141	<0.01
دوز متوسط تستوسترون + دوز متوسط خرفه در زمان T2	4.483±0.160	<0.001
دوزبالای تستوسترون + دوزبالای خرفه در زمان T0	3.033±0.175	N.S
دوز بالای تستوسترون + دوزبالای خرفه در زمان T1	6.150±0.151	<0.001
دوز بالای تستوسترون + دوزبالای خرفه در زمان T2	6.633±0.344	<0.001

هر گروه شامل ۵ سر موش بوده و .N.S بیانگر عدم وجود اختلاف معنادار در مقایسه با گروه کنترل است. T0 بیانگر زمان قبل از تزریق،T1 نشانگر ۳۰ دقیقه بعد از تزریق و T2 بیانگر ۱ ساعت بعد از تزریق است. مقادیر P در مقایسه با گروه کنترل بیان شده اند.

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش بیانگر آن است که بر خلاف تزریق دوز پایین خرفه، تزریق دوز متوسط و بالای خرفه موجب افزایش آستانهٔ درد می شود و بدین ترتیب در تنظیم و تعدیل درد دارای نقش کاهنده می باشد. موافق با این یافته، مطالعات نشان می‌دهند که تجویز عصاره آبی دانه گیاه خرفه می‌تواند اثرات گوناگونی بر روی بخش‌های مختلف سیستم عصبی به ویژه بر تنظیم و تعدیل داشته باشد (۲۳). گیاهان حاوی فلاونوئیدها، بسیاری از آثار خود

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.2.3.9

را با مهار سیکلواکسیژناز اعمال می کنند که این امر بسیاری از آثار درمانی آنها را توجیه می کند. با توجه به انتقال دردهای احشایی به مراکز فوق نخاعی، تعدیل در این دردها، ناشی از اثر عامل و یا عواملی است که بر سیستم اعصاب مرکزی مؤثرند. در این راستا، آثار بالینی ترکیبات حاوی فلاونوئید بر اساس مهار مرکزی و محیطی تولید پروستاگلاندین می باشد (۱۴). از طرفی، خرفه گیاهی است که حاوی مقادیر قابل توجهی فلاونوئید است (۱۲ و ۲۹). بر این مبنا، بخشی از اثرات ضد دردی عصاره خرفه را می توان به فلاونوییدهای موجود در این گیاه نسبت داد که سبب مهار سیکلواکسیژناز می گردد. در واقع، سیکلواکسیژناز آنزیم اصلی در ساخت اسید آراشیدونیک می باشد که پیش ساز پروستاگلاندین و پروستاسیکلین است. مهار آنزیم سیکلواکسیژناز باعث مهار تولید اسید آراشیدونیک می شود (۱۹) و بدین واسطه تولید پروستاگلاندین کم شده و بر این مبنا در تعدیل مرکزی درد ایفای نقش می نماید. همچنین، ترکیبات استروییدی نیز سبب جدا شدن سریع گیرنده های μ اپیوئیدی از G پروتیین ها شده و از این طریق اثرات ضد دردی خود را اعمال می کنند (۳۲). بر این اساس، با توجه به وجود ترکیبات استروییدی در عصاره خرفه (۶)، بخشی از اثر ضد دردی خرفه را می توان به این ترکیبات نسبت داد. نتایج پژوهش حاضر نشان دادند که با افزایش دوز خرفه، سطح آستانه درد بیشتر می شود. این امر بیانگر آن است که شدت اثر عصاره خرفه بر تنظیم و تعدیل درد، مرتبط با دوز مصرفی است.

از سوی دیگر، نتایج حاصل از این پژوهش بیانگر آن است که تزریق دوز متوسط و بالای تستوسترون باعث افزایش آستانهٔ درد و کاهش درد می شود. مطالعات نشان می‌دهند که استروئیدهای جنسی نر اثرات عمده‌ای بر فیزیولوژی درد دارند و در واقع، تستوسترون می‌تواند پاسخ به درد را تنظیم و تعدیل نماید (۱۵). مطالعات اخیر نشانگر آنند که تستوسترون در بسیاری از مسیرهای عملکردی عوامل فیزیولوژیک و سایکولوژیک بر سیستم درد، به عنوان یک میانجی عمل می‌نماید (۷). در واقع هورمون‌های جنسی به ویژه تستوسترون با نقش تنظیمی برروی نورون‌های ترشح-کننده انکفالین‌ها در ستون مهره ها و نورون های ترشح‌کننده کاتکول‌آمین‌ها در ساقه مغز و مغز میانی در فرآیند درد شرکت می‌نمایند (۱۱). یافته های تحقیق حاضر نشان دادند که همانند خرفه با افزایش دوز تستوسترون، سطح آستانه درد بیشتر و در نتیجه اثر ضد دردی این هورمون افزایش می یابد. این امر بیانگر آن است که شدت اثر تستوسترون بر تنظیم و تعدیل درد، مرتبط با دوز مصرفی هورمون است. همچنین نتایج این تحقیق نشان دادند که اثر دوزهای خرفه و تستوسترون بر آستانه درد مشابه هم است. این امر احتمالا" توجیه کننده آن است که وجود ترکیبات استروییدی در عصاره خرفه موجب شده است که این عصاره اثری همانند تستوسترون بر جای بگذارد.

از سویی، همچنانکه نتایج این پژوهش نشان دادند عصاره خرفه در نیم ساعت پس از تجویز اثر کاهندگی خود بر درد را بر جای گذاشت، در حالی که در مورد تستوسترون اثر کاهندگی هورمون، در زمان نیم ساعت پس از تجویز ظاهر نشد. این امر بیانگر آن است که ترکیبات موجود در خرفه می توانند در زمان کمتری نسبت به تستوسترون اثر کاهندگی درد مربوط به خود را اعمال نمایند. همچنین این امر می تواند ناشی از ترکیبات متنوع ضد دردی (۶، ۱۲، ۲۳ و۲۹) موجود در عصاره خرفه باشد که سبب شده اثر سریعتری نسبت به تستوسترون برجای بگذارند.

بنابر یافته های این تحقیق، تزریق توأم عصاره دانه خرفه و هورمون تستوسترون آستانه تحمل درد حرارتی را نسبت به خرفه و نیز نسبت به تستوسترون به مقدار بیشتری افزایش می دهد. این امر به احتمال قوی، بیانگر اثر هم افزایی تستوسترون و خرفه بر کاهش درد است. در واقع، با توجه به اینکه با افزایش دوز تستوسترون و نیز با افزایش دوز خرفه اثرات کاهندگی آنها بر درد بیشتر می شود؛ بنابراین،

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.2.3.9

می توان چنین پنداشت که با تیمار توام خرفه و تستوسترون، مجموعه غلظت ترکیبات موثر بر درد افزایش یافته، در نتیجه، آستانه تحمل درد افزایش بیشتری پیدا می کند.

این مطالعه تنها در محدودهٔ بررسی داده های حاصل از آزمون تیل فلیک انجام شده و از نظر بررسی های سلولی و مولکولی دچار محدودیت می باشد. بر این اساس، پیشنهاد می گردد در مطالعات آتی اثرات توأم خرفه و هورمون های جنسی از دیدگاه تغییرات سلولی و مولکولی مرتبط با درد مورد نظر قرار گیرد.

نتیجه گیری

یافته های این پژوهش بیانگرآنند که عصاره خرفه و هورمون تستوسترون دارای اثرات ضد دردی می‌باشند. با توجه به آنکه عصاره خرفه در زمان کوتاهتری آستانه درد را کاهش می دهد؛ بنابراین، اثر کاهندگی خرفه بر سطح آستانه درد زودتر از اثر کاهندگی تستوسترون بر آستانه درد بروز می‌نماید، اما میزان نهایی اثر کاهندگی خرفه و تستوسترون بر آستانه درد مشابه هم می‌باشد. از طرفی، کاربرد توام عصاره خرفه و تستوسترون می تواند اثر هم افزایی داشته و سبب کاهش بیشتر درد شود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت‌های معنوی و مادی حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان انجام یافته است. همچنین از زحمات خانم سعیده جهان پناه دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی و آقای مهندس مروتی مسئول حیوان خانه دانشکده پزشکی رشت که کمک شایانی در اجرای این تحقیق داشته اند، تقدیر و تشکر به عمل می آید.

منابع

1- Agha-Hosseini F, Borhan-Mojabi K, Monsef-Esfahani HR, Mirzaii-Dizgah I, Etemad-Moghadam S, Karagah A. "Efficacy of purslane in the treatment of oral lichen planus". Phytother Res. 2010; 24 (2): 240–4.

2- Aloisi AM, Bachiocco V, Costantino A, Stefani R, Ceccarelli I, Bertaccini A, Meriggiola MC. Cross-sex hormone administration changes pain in transsexual women and men. Pain. 2007; 132 Suppl 1:S60-7.

3- Bannon AW, Malmberg AB. Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. Curr Protoc Neurosci. 2007; Chapter 8: Unit 8.9.

4- Brown J, Pan A, Hart RJ. Gonadotrophin-releasing hormone analogues for pain associated with endometriosis. Cochrane Database Syst Rev. 2010; (12):CD008475.

5- Butakov SS, Ignatov IuD. The effect of calcium-regulating hormones on pain sensitivity in rats. Eksp Klin Farmakol. 1996; 59(2):9-11.

6- Calixto JB, Beirith A, Ferreira J, Santos AR, Filho VC, Yunes RA. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives. 2000;14(6):401-18.

7- Choi JC, Chung MI, Lee YD. Modulation of pain sensation by stress-related testosterone and cortisol. Anaesthesia. 2012;67(10):1146-51.

8- Cox RM, John, Alder HB. Testosterone has opposite effects on male growth in lizards (Sceloporus spp.) with opposite patterns of sexual size dimorphism. J. Exp. Biol. 2005; 208 (Pt 24): 4679–87.

9- Cuatrecasas G, Alegre C, Fernandez-Solà J, Gonzalez MJ, Garcia-Fructuoso F, Poca-Dias V, et al. Growth hormone treatment for sustained pain reduction and improvement in quality of life in severe fibromyalgia. Pain. 2012; 153(7):1382-9.

10- Dubinsky B., Gebre Mariam S., Capetola RJ., Rosenthale ME ., The analgesic drugs, human therapeutic correlates of their potency in laboratory animal models of hyperalgesia, Agents Actions. 1987; 20, 50-60.

11- Franklin TB, Perrot-Sinal TS. Sex and ovarian steroids modulate brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein levels in rat hippocampus under stressful and non-stressful conditions. Psychoneuroendocrinology. 2006;31(1):38-48.

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.2.3.9

12- Habibian M, Sadeghi G, Karimi A. Phytochemicals and Antioxidant Properties of Solvent Extracts from Purslane (*Portulaca oleracea* L.): A Preliminary Study. Food Science and Engineering. 2020;1(1):1-12.

13- Hansen C, Gilron L., Hong M, The effects of intrathecal gabapentin on spinal morphine tolerance in the rat tail-flick and paw pressure tests. Anesth Analg. 2004; 99(4):1180-4.

14- Holdgate A., Pollockt, Systemic review of the relative efficacy of NSALDS and opioids in the treatment of acute renal colic, BMJ. 2004; 30,329(7473), 1019.

15- Institute for Laboratory Animal Research (ILAR). Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington, D.C: National Academy Press; 1996.

16- Jarmila H., Richard R., The postnatal development of tail-flick latencies to acute and repeated stimulation in the rat, Experimental Physiology. 2002; 87-1, 63-67.

17- Kanakis GA, Tsametis CP, Goulis DG. Measuring testosterone in women and men. Maturitas. 2019;125:41-4.

18- Kaptein AA. Transjecting growth hormone: continuous nightmare or controlled nuisance? Evaluation of a new needle-free device. Patient Prefer Adherence. 2013; 7:703-8.

19- Nijveldt RJ, Van Nood EL, Van Hoorn DE, Boelens PG, Van Norren K, Van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. The American journal of clinical nutrition. 200;74(4):418-25.

20- Ouchi K, Sekine J, Koga Y, Nakao S, Sugiyama K. Establishment of an animal model of epidural anesthesia and sedative tail-flick test for evaluating local anesthetic effects in rats. Exp Anim. 2013; 62(2):137-44.

21- Palaniswamy U.R., McAvoy R.J., Bible B.B. Stage of harvest and polyunsaturated essential fatty acid concentrations in purslane (Portulaca oleracea) leaves. J. Agric. Food Chem. 2001; 49:3490–3493.

22- Palaniswamy U.R., Bible B.B., McAvoy R.J. Effect of Nitrate: Ammonium Nitrogen Ratio on Oxalate Levels of Purslane. In: Janick J., Whipkey A., editors. Trends in New Crops and New Uses. ASHS Press; Alexandria, VA, USA: 2002. pp. 453–455.

23- Radhakrishnan R, Zakaria MNM, Islam MW, Chen HB, Kamil M, Chan K, Al Attas A. Neuropharmacological actions of portulaca oleracea L.V. Sativa (Hawk). J Ethnopharmacol. 2001; 76: 171-6.

24- Reed WL, Clark ME, Parker PG, Raouf SA, Arguedas N, Monk DS, Snajdr E, et al. Physiological effects on demography: a long-term experimental study of testosterone's effects on fitness. Am. Nat. 2006; 167 (5): 667–83.

25- Simopoulos A.P. Omega-3 fatty acids and antioxidants in edible wild plants. Biol. Res.2004;37:263–277.

26- Slivko SF, Stets VR. Effect of sex hormones on pain sensitivity and on the dynamics of the analgesic effect of morphine. Anesteziol Reanimatol. 1978; (1):12-4.

27- Tongia SK, Agrawal RP. Modification of thermal pain threshold by testosterone and ethinyloestradiol in male and female rats. Indian J Physiol Pharmacol. 1986; 30(3):259-60.

28- Uddin M.K., Juraimi A.S., Begum M., Ismail M.R., Rahim A.A., Otheman R. Floristic composition of weed community in turfgrass area of West Peninsular Malaysia. Int. J. Agric. Biol. 2009; 11:13–20.

29- Uddin M.K., Juraimi A.S., Ismail M.R., Brosnan J.B. Characterizing weed populations in different turfgrass sites throughout the Klang Valley of Western Peninsular Malaysia. Weed Technol. 2010; 24:173–181.

30- Wang C, Catlin DH, Starcevic B, Leung A, DiStefano E, Lucas G, Hull L, Swerdloff RS. Testosterone metabolic clearance and production rates determined by stable isotope dilution/tandem mass spectrometry in normal men: influence of ethnicity and age. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2004;89(6):2936-41.

31- Wang CQ. Yang GQ., "Betacyanins from Portulaca oleracea L. ameliorate cognition deficits and attenuate oxidative damage induced by D-galactose in the brains of senescent mice.,Phytomedicine. 2010; 17(7):527-32.

32- Wang X., Richard J., Traub ., Anne Z., Murphy., Persistent pain model reveals sex difference in morphine potency , AJP - Regu Physiol, 2006,291(2),300-306.

33- Yen G.C., Chen H.Y., Peng H.H. Evaluation of the cytotoxicity, mutagenicity and antimutagenicity of emerging edible plants. Food Chem. Toxicol. 2001; 39:1045–1053.

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.2.3.9

The effects of Testosterone and *Portulaca oleracea* seed hydroalcoholic extract on pain induced by tail flick test in male mice

Ahmadi R.[1], Khakpour B.[2], Pakdel M.[3], Alvani A.[4*] and Mahdavi E.[5]

[1] Dept. of Physiology, Faculty of Basic Sciences, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, I.R. of Iran.

[2] Dept. of Physiology, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, I.R. of Iran.

[3] Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Alzahra University, Tehran, I.R. of Iran.

[4] Dept. of Physiology, Faculty of Basic Sciences, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, I.R. of Iran.

[5] Dept. of Agriculture, Faculty of Agriculture, Guilan University, Rasht, I.R. of Iran

Abstract

Steroid hormones and many plant extracts can modulate pain response. The aim of this study was to investigate the effects of *Portulaca oleracea* seed hydroalcoholic extract on pain induced by tail flick test in male mice. In this laboratory experimental study, 150 male mice were randomly divided to control and groups receiving low, moderate and high doses of *Portulaca oleracea* seed extract and of testosterone and groups receiving "testosterone + extract" of different doses. Following intraperitoneally administration of hormone and extract, pain threshold was measured using tail flick test and data were analyzed using ANOVA. Increased pain threshold was observed 30 minutes and 1 hour after administration of moderate dose of extract ($P<0.05$ and $P<0.01$, respectively), and also 30 minutes and 1 hour after administration of moderate dose of extract ($P<0.001$). Moderate and high dose of testosterone resulted in increased pain threshold 1hour after administration ($P<0.01$ and $P<0.001$, respectively). Co-administration of moderate or high dose of testosterone with moderate or high dose of extract resulted in higher pain threshold compared to groups receiving same dose of testosterone or extract ($P<0.01$). Our findings indicate that appropriate doses of *Portulaca oleracea* seed extract and testosterone have pain reducing effects. *Portulaca oleracea* seed extract and testosterone have also synergistic effect on reducing of pain.

Key words: Testosterone, *Portulaca oleracea*, Pain threshold, Tail flick, Mice.