

اثر ضددردی عصاره الکلی بذر گیاه تاتوره در موش‌های صحرایی نر دیابتی ناشی از تزریق

استرپتوزوسین

محسن خلیلی نجف‌آبادی^{۱*}، بتول رحمتی^۱

۱- استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

*آدرس مکاتبه: تهران، بلوار کشاورز، خیابان دهکده، دانشکده پزشکی شاهد گروه فیزیولوژی

صندوق پستی: ۷۴۳۵-۱۴۱۵۵، تلفن: ۸۹۶۴۷۹۲ (۰۲۱)، نمابر: ۸۹۶۶۳۱۰ (۰۲۱)

پست الکترونیک: najafabady@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۳/۹/۳

چکیده

مقدمه: دیابت و به خصوص عوارض ناشی از آن که به عنوان یکی از شایع‌ترین بیماری‌ها که در سنین متفاوت و با علل مختلف بروز می‌کند، افراد درگیر را با مشکلات فراوانی روبرو کرده است. از جمله مهم‌ترین این عوارض افزایش حساسیت به عوامل دردزا (هیپرالژزی) و در بعضی موارد افزایش آستانه درد (آلودینیای ناشی از نوروپاتی) را می‌توان نام برد. براین اساس در تحقیق حاضر در ابتدا آستانه درد حاد و مزمن موش‌های دیابتی به کمک دو نوع آزمون صفحه داغ و فرمالین سنجش و سپس اثر ضددردی عصاره الکلی بذر گیاه تاتوره *Datura stramonium L.* بر آن بررسی شده است.

هدف: بررسی اثر عصاره الکلی بذر گیاه تاتوره بر هیپرالژزی دیابتی در موش‌های صحرایی نر.

روش تحقیق: در این مطالعه موش‌های صحرایی نر با وزن ۳۵۰-۳۰۰ گرم از نژاد NMRI به وسیله تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین (STZ) با تک دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم دیابتی شدند. سپس میزان درد در موش‌های گروه کنترل (n=۱۲-۱۵) و دیابتی (n=۱۲-۱۵) به کمک آزمون‌های صفحه داغ و فرمالین ارزیابی شد.

یافته‌ها: آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که متوسط میزان شدت درد حاد و مزمن ناشی از صفحه داغ و فرمالین در موش‌های صحرایی دیابتی افزایش معنی‌داری پیدا می‌کند. در ادامه کار اثر بی‌دردی عصاره الکلی بذر گیاه تاتوره بر هیپرالژزی به وجود آمده بررسی شد. در این قسمت دو گروه موش‌های کنترل + عصاره (n=۱۲-۱۵) و همچنین دیابت + عصاره (n=۱۲-۱۵) انتخاب شدند. نتایج آزمایش‌های ما نشان داد که مصرف عصاره بذر گیاه تاتوره از دوز ۵۰ mg/kg/BW به بالا طی ۳۰ روز به صورت دو روز یک‌مرتبه قادر است به صورت معنی‌داری (p<۰/۰۱) هیپرالژزی دیابتی را در آزمون‌های صفحه داغ (درد حاد) و همچنین فاز اول درد فرمالینی (حاد) کاهش دهد. همچنین مشخص شد که عصاره گیاه تاتوره نه تنها در دوز مزبور بلکه در دوزهای بالاتر هم قادر به تخفیف هیپرالژزی مزمن دیابتی ناشی از تزریق فرمالین نمی‌باشد.

نتیجه‌گیری: به طور کلی نتایج آزمایش‌های ما نشان داد که واکنش به درد حاد و مزمن ناشی از صفحه داغ و فرمالین به دنبال مصرف استرپتوزوسین و دیابتی شدن موش‌های صحرایی به میزان معنی‌داری افزایش می‌یابد. همچنین عصاره الکلی بذر گیاه تاتوره در دوزهای بالای ۵۰ mg/kg/BW توانایی کاهش درد حاد افزایش یافته در آزمون‌های صفحه داغ و فرمالین (به خصوص در ۱۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین) را دارا می‌باشد، اما عصاره گیاه فوق در دوز مزبور و بالاتر بر هیپرالژزی مزمن ناشی از تزریق فرمالین اثر معنی‌داری ندارد.

کل واژگان: دیابت، استرپتوزوسین، درد، تاتوره، موش صحرایی



مقدمه

تقریباً بیشتر از نصف بیماران دیابتی بعد از گذشت یکی دو دهه از زمان بیماری دچار اشکال مختلف نوروپاتی می‌گردند [۱،۲]. این زمان در مدل‌های حیوانی که با استرپتوزوسین دیابتی می‌شوند حداقل دو هفته کاهش می‌یابد [۳]. برخی مطالعات نشان داده‌اند افزایش قند خون به شکل مزمن باعث تغییراتی مثل افزایش حساسیت نورون‌های نخاعی - تالاموسی و اختلال در سلول‌های عصبی مسؤول درد به شکل ایجاد ایمپالس‌های خودبه خود در نورون‌های آوران اولیه درد می‌شود [۴،۵]. همچنین تغییرات بیوشیمیایی در سلول‌های عروق گلیال و نورون‌های محیطی و اختلال در مسیر اسیدهای چرب می‌تواند در تغییر آستانه درد و ایجاد نوروپاتی نقش داشته باشد [۶]. اگرچه مطالعات دیگری اختلال در کارکرد سلول‌های عصبی به شکل کاهش سرعت هدایت پیام عصبی و کاهش دامنه پتانسیل عمل و کاهش انتقال آکسونی را دلیل بی‌دردی نوروپاتی ناشی از دیابت می‌دانند، اما مدارک دال بر هیپرالژیای دیابتی نسبت به ایجاد بی‌دردی ناشی از دیابت بیشتر است [۷،۸].

با توجه به آثار سوء و عوارض جانبی داروهای شیمیایی بر بدن بیماران، در دهه‌های اخیر استفاده از طب سنتی به خصوص گیاه درمانی بیشتر مدنظر محققان قرار گرفته است [۹]. گیاه تاتوره *Datura stramonium* L. از گیاهان طبی است که در ایران به عنوان داروی ضد درد خوبی معرفی شده است [۱۰،۱۱]. اما مشخص شده مصرف بی‌رویه این گیاه (در انسان به شکل سیگار) موجب بروز عوارضی مثل افزایش فعالیت ترشحی و حرکت دستگاه گوارش می‌گردد [۱۲،۱۳]. بررسی‌های انجام گرفته به وسیله محققان نشان داده است که این گیاه حاوی آلکالوئیدهای متعدد تقلید کننده سیستم پاراسمپاتیک می‌باشد [۱۰]. با توجه به مطالعات اخیر که نشان داده‌اند ترکیبات آلکالوئیدی مانند آگونیست‌های موسکارینی دارای اثرات ضد درد قوی هستند [۱۴،۱۵]. با توجه به اینکه گیاه تاتوره غنی از این ترکیبات می‌باشد، بنابراین احتمال دارد که این گیاه به خصوص بذر آن که منبع سرشاری از این ترکیبات است بتواند اثرات ضد هیپرالژی از خود نشان دهد.

براین اساس در تحقیق حاضر در ابتدا سعی شد اثر افزایش قند خون بر آستانه دردهای حاد و مزمن و پس از آن اثر ضد هیپرالژیایی عصاره الکلی بذر گیاه تاتوره بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد آزمایش

در این مطالعه از موش‌های صحرایی^۱ نر از جنس NMRI در محدوده وزنی ۳۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط دمایی مناسب (۲۱ ± ۲) و طول شب و روز یکسان با دسترسی آزاد به آب و غذای یکسان نگهداری شدند. لازم به ذکر است از هر حیوان فقط در یک آزمون استفاده شد.

روش تهیه عصاره الکلی گیاه تاتوره

پس از تهیه بذر گیاه تاتوره و جدا کردن ناخالصی‌های آن، بذر گیاه آسیاب گردید. سپس با نسبت ۱ به ۴ با متانول ۷۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت در محیط آزمایشگاه نگه داشته شد. آنگاه به وسیله کاغذهای صافی بزرگ و کوچک فیلتراسیون دقیق مخلوط انجام گرفت. عصاره خالص در حمام بافتی ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته تا الکل آن تقریباً به طور کامل تبخیر شود. عصاره خشک به صورت پودر در آمده و به وسیله نرمال‌سالین غلظتهای متفاوت مورد نیاز برحسب میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان تهیه می‌شد.

آزمون‌های بررسی درد

الف- آزمون با صفحه داغ

دستگاه صفحه داغ^۲ وسیله‌ای جهت سنجش درد حاد ناشی از حرارت می‌باشد. در این دستگاه صفحه گرم‌شونده‌ای وجود دارد که توسط جریان الکتریکی و تحت کنترل دقیق ترموستات قرار می‌گیرد. زمان قرار گرفتن حیوان بر روی صفحه داغ تا مرحله سوزش پا که با علامت بلند کردن پا توسط حیوان

^۱ Rat

^۲ Hot plate



جهت بررسی درد درون قفس قرار می‌گرفتند. در گروه درمان، دوزهای متفاوت عصاره گیاه تاتوره از ۵۰ الی ۲۵۰ mg/kg/BW در مدت ۳۰ روز به شکل یک روز در میان به حیوانات تجویز گردید. میزان درد حیوان با اعداد صفر، ۱، ۲ و ۳ رتبه‌بندی شدند [۱۶]. عدد صفر حالت بدون درد، عدد یک عدم توانایی حیوان در تحمل وزن بر روی پای فرمالین گرفته، عدد ۲ حالتی است که موش پای خود را بالا نگه داشته و بر روی زمین قرار نمی‌دهد و حالت ۳ که شدیدترین حالت درد است موش پای فرمالین گرفته را لیس زده یا گاز می‌گیرد. رتبه‌بندی درد حیوانات از زمان تزریق فرمالین تا ۶۰ دقیقه بعد انجام گرفته و در هر دقیقه فاز درد موش مشخص می‌شد (چهار مرحله ۱۵ ثانیه‌ای). البته در آنالیز آماری رتبه‌بندی درد هر ۵ دقیقه به ۵ دقیقه انجام می‌گرفت.

چگونگی دیابتی کردن حیوانات

مدل دیابت قندی نوع یک (دیابت وابسته به انسولین) در موش صحرایی با یک بار تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (STZ) به میزان ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ایجاد گردید و از سرم فیزیولوژی سرد به عنوان حلال STZ استفاده شد. ملاک دیابتی بودن، میزان گلوکز سرم بالای ۲۵۰ mg/dl بود. نمونه خون مورد نیاز جهت اندازه‌گیری قند خون، از شبکه رترواریتال چشم موش با استفاده از لوله‌های موئینه تهیه گردید. شاخص مورد بررسی برای ارزیابی دیابتی شدن موش‌ها میزان گلوکز خون بود. کیت‌های آنزیمی مورد استفاده از شرکت زیست شیمی تهران تهیه و اندازه‌گیری‌ها به کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر Spectronic 20 انجام گرفت.

گروه‌های مورد بررسی

در آزمایش‌های ما چهار گروه حیوان تحت عنوان: ۱- کنترل ۲- کنترل دریافت‌کننده عصاره گیاه تاتوره ۳- دیابتی و ۴- دیابتی دریافت‌کننده عصاره گیاه تاتوره انتخاب شدند. هر کدام از این گروه‌ها وارد آزمون‌های درد صفحه داغ و فرمالین گشته، سپس میانگین درد در هر یک از گروه‌ها نسبت به بقیه توسط آزمون‌های آماری مقایسه گردید.

مشخص می‌شود، به عنوان شاخص زمان آستانه درد می‌باشد که توسط کرومومتر دستگاه اندازه‌گیری و ثبت می‌شود.

جهت کاهش استرس قرار گرفتن موش‌های صحرایی در دستگاه صفحه داغ، قبل از روشن کردن دستگاه با قرار دادن هر موش ۳-۴ مرتبه با فواصل زمانی ۳-۵ دقیقه بر روی صفحه دستگاه سعی شد موش‌ها را با محیط صفحه آزمون آشنا سازیم. سپس برای آزمون، موش‌ها بر روی صفحه داغ که بر روی ۵۴ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود قرار می‌گرفتند. فاصله زمانی بین قرار گرفتن موش بر روی دستگاه تا زمان لیسیدن پای حیوان به عنوان مدت زمان آستانه رسیدن درد به وسیله حرارت در نظر گرفته می‌شد. برای محاسبه دقیق‌تر اعداد، هر موش ۵-۴ مرتبه با فواصل زمانی ۵ دقیقه بر روی دستگاه قرار گرفته سپس از ۵-۴ نمونه، میانگین گرفته می‌شد. برای جلوگیری از آسیب بافتی آزمون بیشتر از ۳۰ ثانیه به طول نمی‌انجامید. نتایج به دست آمده در گروه‌های کنترل و دریافت‌کننده عصاره گیاه با آزمون Student *t*-test مقایسه و معنی‌دار بودن اثر عصاره در این آزمون بررسی می‌شد. همچنین به کمک رابطه:

$$MPE = \frac{Test\ latency\ (sec) - Baseline\ (sec)}{Cut\ Off\ (sec) - Baseline\ (sec)} \times 100$$

که در آن MPE نشان‌دهنده حداکثر اثر ممکن (Maximum Possible Effect) و به ترتیب Baseline و Test latency به معنی زمان تاخیر قبل از تزریق عصاره و بعد از تزریق عصاره و Cut off حداکثر زمان مجاز قرار دادن موش بر روی دستگاه (۳۰ ثانیه) می‌باشد، حداکثر اثر عصاره گیاه به شکل درصد محاسبه می‌شد [۱۴].

ب- آزمون با فرمالین

در این آزمون هم مشابه صفحه داغ موش‌های صحرایی قبل از آزمون چندین مرتبه درون قفس شفاف (Perspex) جهت آشنایی با محیط قرار می‌گرفتند. پس از عادت کردن موش‌ها به محیط جدید هنگام انجام آزمون اصلی فرمالین ۲/۵ درصد به مقدار ۵۰ میکرولیتر در کف پای حیوان تزریق و



آنالیز آماری

در هر دوز از عصاره نتایج به دست آمده از اثر بی‌دردی عصاره به صورت میانگین و انحراف معیار ($\text{Mean} \pm \text{S.E.M}$) ثبت می‌شد. محاسبات آماری برای بررسی ارتباط معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی با استفاده از آزمون (ANOVA) و متعاقب آن آزمون تکمیلی Tukey انجام گرفته و اختلاف با $p < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته می‌شد.

نتایج

بررسی اثر دیابت بر آستانه درد ناشی از تزریق فرمالین
تزریق فرمالین در موش‌های گروه کنترل و دیابتی نشان داد که درد حاد و مزمن هر دو به میزان معنی‌داری ($p < 0/01$) در موش‌های دیابتی افزایش می‌یابد (شکل شماره ۱). این افزایش درد به خصوص در فاز اولیه درد (حاد) و در دقایق ۱۵-۱۰ واضح‌تر است. آزمون گروه‌های کنترل و دیابتی هر کدام در ۱۵-۱۲ نمونه انجام گرفته است.

بررسی اثر دیابت بر آستانه درد ناشی از صفحه داغ

همان‌طور که در شکل شماره ۲ نشان داده شده دیابت قندی باعث شده است آستانه درد حاد ناشی از صفحه داغ در موش‌های دیابتی به میزان مشخصی ($p < 0/01$) کاهش یابد. داده‌های مقایسه شده بین گروه کنترل و دیابتی میانگین آستانه درد در دو گروه بوده که هر کدام در ۱۴ - ۱۲ نمونه موش انجام گرفته است.

بررسی اثر عصاره گیاه تاتوره بر هیپرالژزی دیابتی در آزمون فرمالین

عصاره گیاه تاتوره در غلظت‌های متفاوت ۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان هر کدام در ۱۲ - ۹ نمونه موش صحرایی در گروه‌های کنترل و دیابتی تزریق و آزمون فرمالین بر روی آنها انجام گرفت. نتایج حاصل از آزمون مرحله اول درد فرمالینی (حاد) طبق شکل شماره ۳ قسمت الف نشان می‌دهد که دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان به خوبی توانسته است میزان درد حاد افزایش یافته به دنبال دیابت را کاهش دهد ($p < 0/01$). لازم به ذکر است افزایش دوز گیاه از ۱۰۰ میلی‌گرم به بالا تقریباً اثری مشابه با دوز ۵۰ داشته و تفاوت معنی‌داری بین

دوزهای مصرفی عصاره در کاهش در حاد افزایش یافته دیابتی نشان داده نمی‌شود (شکل ۳ الف). همچنین اثر دوزهای مذکور عصاره گیاه تاتوره بر فاز دوم یا فاز مزمن درد بررسی شده است (شکل ۳ ب). همان‌طور که نشان داده می‌شود هیچ‌کدام از دوزهای کاربردی نتوانسته است به طور معنی‌دار میزان درد مزمن افزایش یافته را کاهش دهد.

بررسی اثر عصاره گیاه تاتوره بر هیپرالژزی دیابتی در آزمون صفحه داغ

در این آزمون هم دوزهای متفاوت ۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش در گروه‌های ۱۵-۱۲ بررسی گردید. همان‌طور که در شکل شماره ۲ نشان داده می‌شود عصاره گیاه در دوزهای ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن نتوانسته است به صورت معنی‌داری ($p < 0/01$) میزان درد افزایش یافته را کاهش دهد.

تعیین دوز کشنده (LD_{50}) عصاره گیاه تاتوره

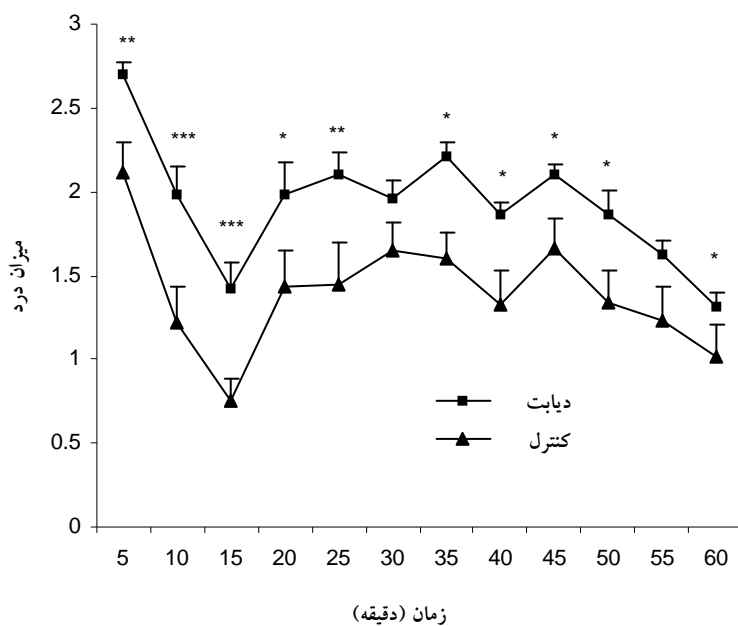
برای این آزمون عصاره الکلی گیاه تاتوره در دوزهای ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰، ۲۵۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن هر کدام در ۱۶ - ۹ عدد موش مورد بررسی قرار گرفتند. در دوزهای ۳۰۰۰ به بالا موش در عرض یک ساعت تلف می‌شد و دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ تلفاتی را به وجود نیاوردند. در دوز ۲۵۰۰ تقریباً نیمی از موش‌ها طی ۲۴ ساعت تلف شده و به عنوان LD_{50} در آزمون‌های ما انتخاب گردید (جدول شماره ۱).

بحث

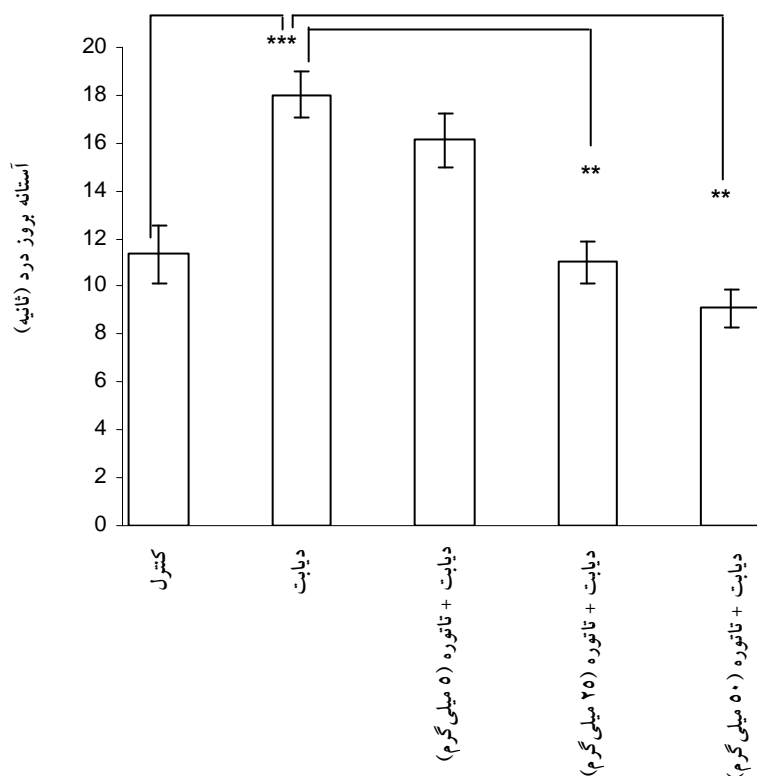
مشکل درمان دیابت نه تنها از لحاظ معالجه خود بیماری، بلکه کاهش عوارض و علائم ناشی از این بیماری گستره تحقیقاتی وسیعی را به وجود آورده است. با توجه به اینکه تغییر آستانه درد از عوارض شایع دیابت قندی می‌باشد، مطالعه حاضر به این مقوله پرداخته است. علی‌رغم وجود روش‌های متنوع تسکین و درمان درد که به صورت شایع مورد استفاده قرار می‌گیرد، هنوز محققان به دنبال روش‌های جدید و بهتر درمان این پدیده فیزیولوژیک می‌باشند. با وجود داروسازی پیشرفته و داروهای شیمیایی فراوان که در جهت تسکین درد



مصرف می‌شوند، مشکل عدم توانایی موفق درمان درد و اثرات

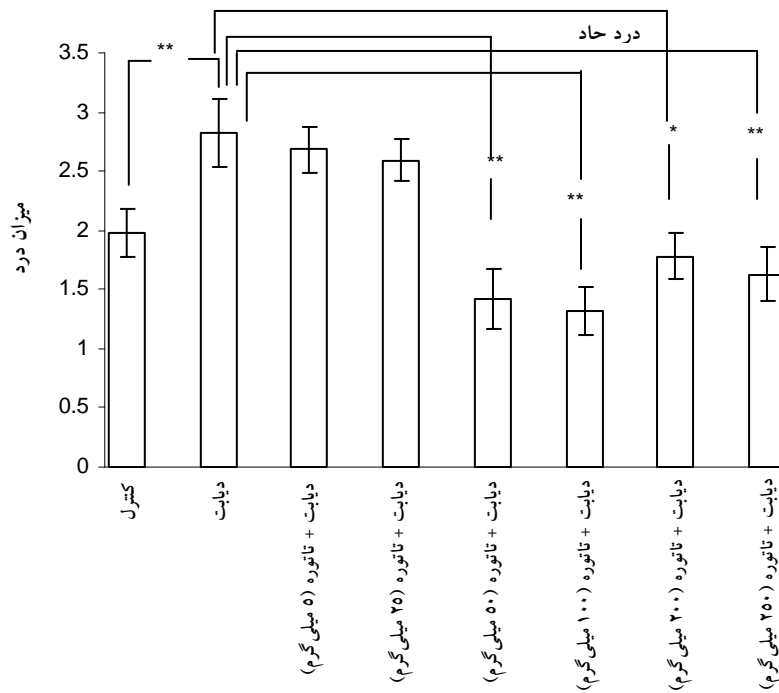


شکل شماره ۱: مقایسه منحنی درد حاد و مزمن گروه کنترل و دیابتی در رسون عرسین. همان‌طور که مشاهده می‌شود هر دو فاز حاد (زمان ۵-۱۵ دقیقه بعد از تزریق فرمالین) و مزمن درد (زمان ۱۵-۶۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین) به شکل معنی‌داری در اثر دیابت افزایش یافته است ($p < 0.01$ و $n = 12-15$).

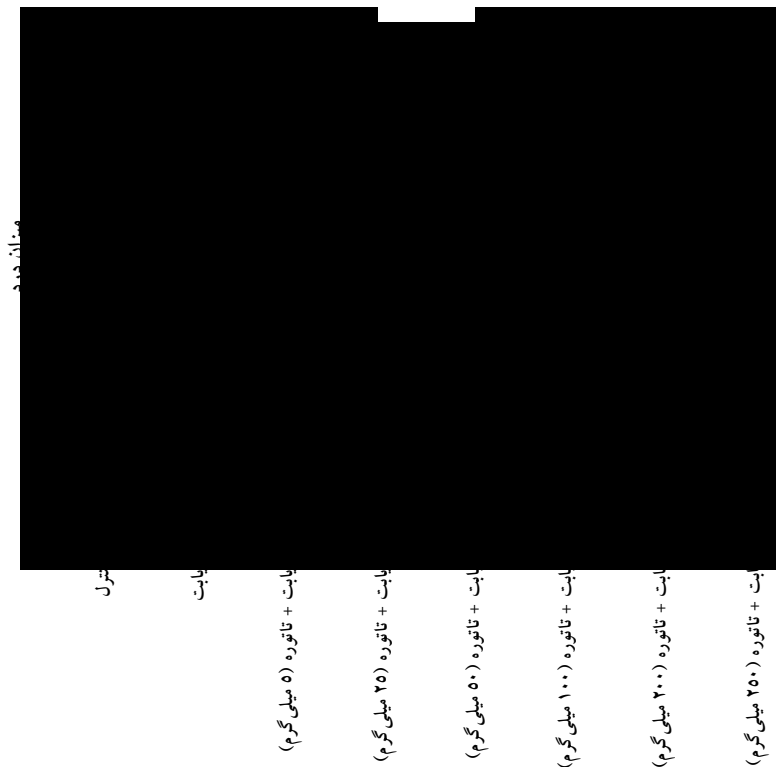


شکل شماره ۲ - اثرکاهشی دیابت بر آستانه درد حاد ناشی از صفحه داغ ($p < 0.001$) و همچنین اثر دوزهای متفاوت عصاره گیاه تاتوره بر هیپرالژزی دیابتی. همان‌طور که مشاهده می‌شود دوزهای ۲۵ و ۵۰ mg/kg عصاره هر کدام به صورت معنی‌داری ($p < 0.01$) اثر ضد هیپرالژزی دیابتی ایجاد کرده‌اند. ستون‌ها نشان‌دهنده میانگین آستانه بروز درد به همراه انحراف معیار از میانگین (Mean ± SEM) در هر یک از گروه‌ها می‌شد ($n = 12-15$).





الف



ب

شکل شماره ۳ الف - اثر دوزهای ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان عصاره الکلی گیاه تاتوره بر درد حاد حاصل از تزریق فرمالین، همان طور که مشاهده می شود اثر تاتوره در دوز ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به شکل معنی داری بروز می کند. افزایش دوز گیاه تا مقدار ۲۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تغییر مشخص در کاهش درد دیابتی نسبت به دوز ۵۰ ایجاد نمی کنند. ب- اثر دوزهای افزایشی تاتوره مذکور بر درد التهابی ناشی از تزریق فرمالین. همان گونه که مشاهده می شود دوزهای ۵۰ و بالاتر از آن هیچ کدام اثر بارزی بر کاهش هیپرآلوزی دیابتی نگذاشته اند.

جدول شماره ۱- درصد مرگ و میر موش‌های صحرایی در دوزهای متفاوت عصاره الکلی گیاه تاتوره

دوز عصاره بر حسب میلی گرم به ازای هر کیلوگرم	درصد مرگ و میر موش‌های صحرایی	n
۵۰۰	صفر	۱۰
۱۰۰۰	صفر	۱۲
۱۵۰۰	۱۰	۱۲
۲۰۰۰	۳۵	۱۴
۲۵۰۰	۵۵	۱۶
۳۰۰۰	۹۰	۹
۴۰۰۰	۱۰۰	۹

همان‌طور که جدول نشان می‌دهد حیوانات دریافت کننده عصاره با دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش، زنده ماندند. در دوزهای ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ تقریباً همه موش‌ها طی ۱ تا ۲ ساعت بعد از تزریق تلف شدند. در دوزهای ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ به ترتیب حدود ۳۵ و ۵۵ درصد موش‌ها تلف شدند. به این ترتیب مطابق با داده‌های جدول، دوز ۲۵۰۰ دوز موثر کشنده (LD₅₀) عصاره گیاه تاتوره در نظر گرفته می‌شود.

پیدا کرده‌اند. نتیجه آزمایش‌های ما با نتایج آزمایش‌های برادلی (Bradly) و کورتیکس (Courteix) که نشان دادند دیابت ناشی از استرپتوزوسین منجر به افزایش درد به خصوص دردهای التهابی و همچنین افزایش فعالیت انتهای عصبی درد به دنبال دیابت می‌گردد، مشابه می‌باشد [۱،۳]. اگرچه نتایج متفاوت، مانند گزارش کاهش هدایت عصبی و کاهش درد به دنبال دیابت قندی هم گزارش شده است [۸]. در کل نتایج ما با اکثر نتایج هم‌راستا بوده و نشان از یک هیپرالژیا در دردهای نوع حاد و مزمن دارد. تزریق عصاره بذر گیاه تاتوره در موش‌های دیابتی هیپرالژزیک در آزمون فرمالین نشان داد درد اولیه (حاد) موش‌ها به خصوص در دقیقه حدود ۱۰ از مدت زمان درد حاد (صفر تا ۱۵ دقیقه بعد از تزریق فرمالین به عنوان مرحله درد حاد تعریف می‌شود) کاهش چشمگیر پیدا کرده است ولی درد التهابی یا ثانویه (از دقیقه ۶۰-۱۵ بعد از تزریق فرمالین) موش‌ها تغییر معنی‌داری پیدا نمی‌کند. با توجه به اینکه ایجاد دردهای فازیک مثل صفحه داغ یا رفلکس عقب کشیدن دم بیشتر از طریق مکانیزم مرکزی عمل می‌کنند [۱۹]، بنابراین نتایج کاهش درد در آزمون صفحه داغ و مرحله حاد درد فرمالینی تاییدی بر عملکرد اثر عصاره از طریق مکانیزم

جانبی گسترده آن به خصوص در افرادی مانند بیماران دیابتی معضل بزرگی را ایجاد کرده است [۱،۲]. از این رو استفاده از داروهای گیاهی به دلیل مقرون به صرفه بودن و همچنین اثرات جانبی کمتر و از طرفی قابلیت دسترسی آسانتر توصیه می‌شود [۹،۱۷].

در طب مکمل به خصوص گیاه درمانی، گیاه تاتوره به عنوان یکی از گیاهان ضد درد معرفی شده است [۹،۱۱]. این گیاه دارای ترکیبات متنوع و زیادی از جمله مواد آلكالوئیدی می‌باشد که ترکیبات شبه موسکارتینی قسمت اعظم این آلكالوئیدها را تشکیل می‌دهد [۱۰]. لازم به ذکر است در برخی از جوامع امروزی از این گیاه به عنوان گیاه توهم‌زا استفاده می‌شود، اما مصرف بی‌رویه این گیاه به دنبال خود عوارض خاصی مثل افزایش فعالیت ترشحی دستگاه گوارش، خشکی دهان و بالا رفتن دفعات تنفس و فشار خون را به دنبال دارد [۱۲،۱۳]. گزارش‌های محققین نشان داده است که بروز این عوارض و توهم‌زایی این گیاه مربوط به ترکیبات شبه‌موسکارتینی این گیاه می‌باشد [۱۸]. در تحقیق حاضر مشخص شد در موش‌های دیابتی که به وسیله استرپتوزوسین دیابتی گشته‌اند هر دو نوع درد حاد و مزمن افزایش معنی‌داری



به خصوص مورفین به وسیله آکالوئیدهای شبه موسکارینی می توان نتیجه گرفت ترکیبات عصاره بذر تاتوره به عنوان منبع غنی از همولوگ های موسکارینی قادر است از طریق مرکزی و احتمالاً با تداخل با سیستم اویپویدی میزان درد حاد افزایش یافته در اثر دیابت را کاهش دهد [۲۱، ۲۰، ۱۸].

در نهایت می توان نتیجه گرفت، عصاره بذر گیاه تاتوره قادر است درد حاد افزایش یافته به وسیله دیابت را که به وسیله آزمون های صفحه داغ و فرمالین سنجش شده اند به میزان معنی داری کاهش دهد، اما این عصاره بر درد التهابی فرمالینی افزایش یافته در اثر دیابت اثری ندارد.

مرکزی در کاهش هیپرالژزی دیابتی می باشد. همچنین عدم تاثیر عصاره گیاه تاتوره در تغییر آستانه درد التهابی فرمالینی نشان می دهد که این عصاره از طریق محیطی یعنی تعدیل واسطه های محیطی ایجاد کننده درد قادر به تخفیف هیپرالژیای دیابتی نمی باشد. در مورد مکانیزم اثر احتمالی عصاره تاتوره بر هیپرالژیای دیابتی حاد می توان گفت با توجه به آزمایش های دیگران که نشان داده اند آگونیست های موسکارینی قادر به افزایش آستانه درد در موش های صحرائی نر به صورت مرکزی هستند و از طرفی با توجه به گزارش هاس ارایه شده در مورد تقویت اثر سیستم اویپویدی

منابع

1. Bradley S, Ann Gi, Mark P, Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetic research and clinical practice* 2000; 47: 123-128
2. Kriz J, Padjen AL. Intra-axonal recording from large sensory myelinated axons: demonstration of impaired membrane conductances in early experimental diabetes. *Diabetology*, 2003; 46:213-21.
3. Courteix C, Eschalier A, Lavarenne J. Streptozocin-induced diabetic rats: behavioural evidence for a model of chronic pain. *Pain* 1993; 53: 81-8.
4. Chen SR, Pan HL. Hypersensitivity of spinothalamic tract neurons associated with diabetic neuropathic pain rats. *Neurophysiology* 2002; 87: 2726-33
5. Khan GM, Chen SR, Pan HL. Role of primary afferent nerves in allodynia caused by diabetic neuropathy in rats. *Neuroscience* 2002; 114: 291-9
6. Dobretsov M, Hastings SL, Stimers JR. Mechanical hyperalgesia in rats with chronic perfusion of lumbar dorsal root ganglion with hyperglycemic solution. *Journal of Neuroscience Methods* 2001; 110: 9-15
7. Craner MJ. Changes of sodium channel expression in experimental painful diabetic neuropathy. *Annual Nerology*, 2002; 52: 786-92.
8. Richard J, Peter L, Daniel R, Reto M. Prevention of nerve conduction deficit in diabetic rats by polyunsaturated fatty acids. *American Journal of Clinical Nutrition* 2000; 71: 386-392.
9. عقیلی خراسانی ع. مخزن الادویه. انتشارات آموزش انقلاب اسلامی. ۱۳۷۱، صفحات ۳۲۵-۳۲۴.
10. Schulman ML, Bolton LA. Datura seed intoxicification in two horses. *Journal of African Association*. 1998; 69: 27-9.
11. Abena AA. Evaluation of analgesic effect of *Datura fastuosa* leaves and seed extracts. *Fititerapia* 2003; 74: 486-8.
12. Hasan SS, Kushwaha Ak, Chronic effect of datura (seed) extract on the brain of albino rats. *JPN J Pharmacol*. 1987; 44: 1-6.
13. Piva G, Piva A, Anti-nutritional factors of *Datura* in feedstuffs. *Plant toxin* 1995; 4: 238-41.
14. Heidari MR, Khalili M, Hashemi B, Zarrindast MR. Effect of picriotoxine on antinociception in the formalin test. *Pharmacol and Toxicol*. 1996; 78: 313-316.
15. Lewis JW, Cannon JT, Liebeskind JC. Involvement of central muscarinic cholinergic mechanisms in opiate stress analgesia. *Brain Res*. 1983; 270: 289-93.
16. Melzak R, Wall PD. *The challenge of pain*. 2nd ed. pelican books, harmondsworth. 1988.



17. Andrew W, Chevallier MN. The encyclopedia of medicinal plant. London dorling Kindersley book. 1996; 171.
18. Tekol Y, Eminel S, Combination use of tertiary amine parasymphomimetics with a quaternary amine parasymphomimetic: a new perspective to use parasymphomimetic drug for systemic analgesia. *Pharmazie*. 2002; 57: 485-6.
19. Xu G, Duanmu Z, Yin Q, The role of Ach in the central nerve system on pain modulation and analgesia. *Zhenci Yan Jiu*. 1993; 18: 1-5.
20. Hartvig P, Gillberg PG, Gordh T, Cholinergic mechanisms in pain and analgesia. *Pharmacol Sci*. 1989; 75-9.
21. Patil CS, Kulkarni SK, The morphine sparing effect of physostigmine. *Methods. Find. Exp. Clin. Pharmacol*. 1999; 21: 523-7.

