دانشور پزشکی

مقایسه اثر ضددرد صمغ کتیرا با مورفین و دیکلو فناک در موش سفیدکوچک آزمایشگاهی با استفاده از آزمون‌های قدکشیدن و صفحه داغ

نویسندگان: لیلا کیهانی[1]، محمدابراهیم رضوانی[2*]، محمد حسین دشتی رحمت آبادی[3]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد ـ دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست‌شناسی، فارس، ایران

۲. استادیار ـ گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ایران

۳. دانشیار ـ گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ایران

* نویسنده مسئول: محمدابراهیم رضوانی E-mail: erezvani@yahoo.com

دریافت: ۹۱/۸/۱
آخرین اصلاح‌ها: ۹۱/۱۰/۲۰
پذیرش: ۹۱/۱۱/۹

چکیده

مقدمه و هدف: یکی از داروهای گیاهی برای کنترل درد در طب سنتی، صمغ کتیرا بوده‌است. هدف از این پژوهش، بررسی اثر ضددردی صمغ کتیرا است.

مواد و روش ها: در این مطالعه، اثر ضددردی صمغ کتیرا به‌وسیله آزمون‌های صفحه داغ (Hotplate) و قدکشیدن (writhing) بررسی‌شد . موش‌های سوری نر در سه گروه دریافت‌کننده کتیرا با دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن، سه گروه دریافت‌کننده مرفین با دوزهای ۲، ۴ و۸ میلی‌گرم و سه گروه دریافت‌کننده دیکلوفناک با دوزهای ۱۰،۲۰ و۳۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن تقسیم‌شدند.

نتایج: درآزمون قدکشیدن دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم صمغ کتیرا باعث کاهش تعداد انقباض‌های شکمی و افزایش درصد مهار درد نسبت‌به گروه کنترل و در دوز ۵۰۰ نسبت‌به دیکلوفناک ۱۰mg/kg شد ($P < ۰/۰۵$). با بررسی زمان واکنش حیوانات به درد در آزمون صفحه داغ، طی دوره‌های زمانی ۱۵،۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه، تنها در ۱۵دقیقه پس از تزریق صمغ کتیرا، دوزهای µg/kg ۱۲۵ و µg/kg ۵۰۰ درد را کاهش‌دادند. در ۱۵ دقیقه پس از تزریق، کتیرای µg/kg ۱۲۵ نسبت‌به گروه‌های کنترل، دیکلوفناک mg/kg ۳۰، مرفین mg/kg ۲ و۴ تفاوتی معنی‌دار داشته‌است ($P < ۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: در این پژوهش، اثر ضددردی قابل‌ملاحظه‌ای از صمغ کتیرا در آزمون‌های صفحه داغ و قدکشیدن مشاهده‌شد که نشان‌می‌دهد، ترکیب‌های تشکیل‌دهنده این صمغ دارای آثار ضددرد حاد و مزمن هستند

واژگان کلیدی: صمغ کتیرا، دیکلوفناک، مرفین، ضددرد، آزمون قدکشیدن، آزمون صفحه داغ

مقدمه

یکی از داروهای گیاهی در طب سنتی، صمغ کتیرا بوده‌است که برای درمان درد کلیه، مثانه و زخم‌های مجاری ادرار و سوزش آن مفید بوده؛ علاوه‌براین از صمغ کتیرا به‌عنوان پادزهر سموم و برای برطرف‌کردن ناراحتی‌های چشم و مسکن دردهای چشم استفاده‌می‌شده‌است (۱ و ۲)؛ این گیاه به‌طور گسترده در سراسر مناطق معتدل جهان ازقبیل اروپا، آسیا و شمال آمریکا و همچنین در مناطق کوهستانی آفریقا و آمریکای جنوبی یافت‌می‌شود (۳)؛ این گروه از گیاهان چند ساله، درختچه‌ای یا بوته‌ای است و به‌صورت ایستاده یا گسترده در سطح خاک قراردارد. جنس گون (Astragalus L.) به‌عنوان بزرگ‌ترین جنس خانواده Leguminosae، زیرخانواده Papilionideae و متعلق به تبار Galegeae است (۴). در ساقه بعضی از نمونه‌های بوته مانند گون، نوعی ماده صمغی ساخته‌می‌شود که خودبه‌خود یا بر اثر شکاف به خارج ترشح‌می‌شود؛ این ماده به‌سهولت خشک‌شده، پس از گردآوری، با نام «کتیرا» به بازار عرضه‌می‌شود (۱). کتیرا یا گام تراگاکانت Gum tragacanth به تراوش‌های صمغ‌مانند گیاه آستراگالوس گومی‌فر *Astragalus Gummifer* و دیگر گونه‌های آسیایی آستراگالوس اطلاق‌می‌شود (۵). صمغ کتیرا دارای ترکیب‌هایی بسیار مانند عناصر معدنی نظیر کلسیم، پتاسیم و منیزیم و در ترکیب پروتئینی کتیرای گونه‌های مختلف آستراگالوس اسیدآمینه‌هایی ازجمله هیدروکسی پرولین، هیستیدین، اسید اسپاریک، آرژینین، پرولین، والین و سرین یافت‌شده‌است و هیدروکسی پرولین، هیستیدین و سرین با مقادیر بالا وجوددارد (۶، ۷ و ۸).

این صمغ به‌صورت گسترده در صنایع غذایی، سس‌ها، نوشیدنی‌ها و شیرینی‌ها کاربرددارد. صمغ کتیرا در تهیه بستنی برای حفظ بافت آن استفاده‌می‌شود (۹). در داروسازی این صمغ به‌عنوان ژل‌ساز، معلق‌ساز و چسباننده در تهیه قرص‌ها و داروها و ریزپوشانی مواد مختلف مانند ویتامین‌ها و عطر و طعم استفاده‌می‌شود همچنین به دلیل ویژگی امولسیون‌کننده، برای معلق نگهداشتن پودرهای دارویی غیرمحلول در آب به‌کار‌می‌رود (۱،۱۰ و ۱۱).

استفاده از داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی NSAIDS یا داروهای اوپیوئیدی، روش‌های رایج کنترل دردند که همواره با عوارض جانبی به‌نسبت زیادی همراهند؛ برای نمونه، داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی باعث ایجاد اختلال‌هایی در دستگاه گوارش (GI)، آسیب‌های کلیوی و واکنش‌های افزایش حساسیتی می‌شوند؛ اوپیوئیدها نیز می‌توانند به ایجاد تهوع، یبوست، بهت و ضعف تنفسی منجرشود و در صورت مصرف مزمن، وابستگی ایجادکنند (۱۲). داروهای اپیوئیدی به‌ویژه مرفین برخلاف تأثیر خوبی که در کنترل درد دارند، به دلیل ایجاد تحمل مصرف آنها در دراز‌مدت با کاهش تأثیر روبه‌رو خواهندشد. داروهای ضد‌التهاب استروییدی هم در درازمدت آثار و پیامدهای نامطلوب بر دستگاه گوارش و کلیه‌ها برجای‌می‌گذارند (۱۳ و ۱۴)؛ به همین دلیل، استفاده از گیاهان دارویی در کنترل درد مورد توجه بشر قرارگرفته‌است.

ازآنجاکه به‌رغم استفاده از صمغ کتیرا در طب سنتی به‌عنوان مسکن، مطالعه‌ای درزمینه بررسی اثر ضددردی آن موجود نبود و در بررسی منابع علمی، اطلاعاتی درخصوص اثر ضددردی آن یافت‌نشد، هدف این مطالعه، بررسی آثار ضددردی صمغ این گیاه در دو مدل آزمایشگاهی ارزیابی درد و نیز ارائه مدرکی علمی در‌خصوص مصرف سنتی این گیاه است. در مطالعه حاضر، اثر کتیرا بر درد حاد با آزمون صفحه داغ و بر درد مزمن با استفاده از آزمون قدکشیدن در موش سوری که دو روش تأییدشده جهانی ارزیابی درد هستند، بررسی‌شد و با اثر مورفین و دیکلوفناک به‌عنوان مسکن‌های شناخته‌شده مقایسه‌شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات و گروه‌ها: در این مطالعه، تعداد ۱۰۰ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نر با وزن ۲۵ تا۳۰ گرم از بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده پزشکی شهید

صدوقی یزد انتخاب‌شده، تحت شرایط طبیعی با درجه حرارت ۲ ± ۲۱ و سیکل تاریکی و روشنایی ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد و کافی به آب و غذا در قفس‌های استاندارد نگهداری‌شدند. کنترل دما و تنظیم روشنایی به‌صورت الکترونیکی در اتاق حیوانات انجام‌شد. در هر گروه آزمون ۱۰ سر موش سوری وجودداشت که هر حیوان ۳۰ دقیقه پیش از انجام آزمایش به آزمایشگاه منتقل‌می‌شد تا به محیط آشنا شود؛ در این مطالعه، موش‌ها به ده گروه ده‌تایی تقسیم‌شدند. گروه کنترل که آب مقطر به میزان ۱۰ ml/kg دریافت‌کردند و گروه‌های کنترل که کتیرا در دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ یا ۵۰۰ میکروگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت‌کردند؛ سه گروه دریافت‌کننده مورفین با دوزهای ۲، ۴ یا ۸ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم و سه گروه دیگر، دیکلوفناک با دوزهای ۱۰، ۲۰ یا ۳۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم به‌عنوان شاهد دریافت‌کردند. تمام تزریقات بالا، ۱۵ دقیقه پیش از شروع آزمون‌ها و با حجم ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن و به‌صورت داخل صفاقی (IP) انجام‌می‌شد.

جمع‌آوری صمغ کتیرا: صمغ کتیرا از گیاه گونه *Astragalus gummifer* جمع‌آوری‌شد، به این صورت که ابتدا اطراف ساقه گون، خالی و سپس با تیغ‌های مخصوص، برشی موازی با ساقه ایجادشد؛ صمغ کتیرا پس از چند روز به‌مرور بر اثر برش به بیرون تراوش‌کرده، در معرض نور آفتاب، درصد مهار در هریک از گروه‌ها با استفاده از فرمول زیر به‌دست‌آمد:

$$\text{Inhibition} = \frac{\text{mean number of writhing(control)} - \text{mean number of wriths test}}{\text{mean number of wtithing (control)}}$$

آب خود را ازدست‌داد و سفت شد؛ پس از این مراحل با حضور کارشناس نسبت‌به جمع‌آوری آن اقدام‌شد و به تأیید کارشناس مرکز تحقیقات گیاهان دارویی یزد رسید؛ سپس مقدار ۵ میلی‌گرم از صمغ با ترازوی دیژیتال ۴ صفر (Sartorius ساخت آلمان) وزن و در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به‌طور کامل، حل شد؛ هر میلی‌لیتر از این محلول استوک که حاوی ۵۰۰ میکروگرم صمغ بود، با آب مقطر به‌ترتیب به حجم‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌لیتر رسانده‌شد تا دوزهای ۵۰۰، ۲۵۰ و ۱۲۵ میکروگرم در هر ۱۰ میلی‌لیتر به‌دست‌آمد.

آزمون قدکشیدن (writhing Test)

آزمون قدکشیدن به‌عنوان مدل ایجاد درد احشایی در مطالعات آزمایشگاهی به‌کارمی‌رود. در این آزمون به هریک از گروه‌ها ۱۵ دقیقه پس از تزریق ماده مورد نظر، از اسید استیک ۰/۶ درصد با دوز ۱۰ ml/kg به‌صورت درون صفاقی استفاده‌شد؛ سپس هر موش به یک جعبه پلاستیکی شفاف از جنس پلی اتیلن به ابعاد ۳۰×۳۰ × ۳۵ منتقل و بلافاصله پس از آن، تعداد انقباض‌های شکمی (تعداد رایت‌ها) در مدت زمان ۳۰ دقیقه با Counter شمارش و ثبت‌شد؛ درضمن یک رایت با انقباض‌های شکمی و عضلات پهلوها همچنین کشیدن دست‌کم یکی از اندام‌های حرکتی خلفی، رفلکس پنجه‌های عقبی یا کشیدگی کل بدن اندازه‌گیری‌شد؛ درد احشایی چند ثانیه طول کشیده، قابل‌مشاهده بود؛ این مدل ایلئوس معدوی – روده‌ای نیز ایجادمی‌کرد (۱۵ و۱۶) .

میانگین تعداد انقباض‌های شکمی گروه کنترل منهای میانگین تعداد انقباض‌های شکمی گروه‌درمانی تقسیم بر میانگین تعداد انقباض‌های شکمی گروه کنترل ضرب در ۱۰۰ (۱۷).

دست‌کم دو هفته پس از آزمون قدکشیدن، حیوانات با همان گروه‌بندی پیشین برای آزمون صفحه داغ استفاده‌می‌شوند.

آزمون صفحه داغ (Hot plate Test)

صفحه داغ وسیله‌ای است که برای سنجش حساسیت موش نسبت‌به درد، مورد استفاده قرارمی‌گیرد؛ این دستگاه شامل یک صفحه به قطر ۱۹ سانتی‌متر و دیواره‌ای از جنس پلکسی گلاس به ارتفاع ۲۱ سانتی‌متر است؛ صفحه از طریق مقاومت الکتریکی داغ می‌شود و به زمان‌سنج و ترموستات مجهز است (۱۸ و ۱۹)؛ پیش از شروع آزمایش، دمای دستگاه در حد ۵۲/۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم‌می‌شود و هم‌زمان با قراردادن حیوان در

دستگاه، کلید زمان‌سنج زده‌می‌شود حیوان با گرم‌شدن پاها و احساس درد

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

شروع به لیسیدن پاهای جلویی یا پرش‌می‌کند؛ در این لحظه با فشردن کلید و خاموش‌کردن تایمر، زمان تحمل درد یا بی‌دردی ثبت‌می‌شود. در صورت عدم واکنش حیوان در برابر درد، بعد از ۲۵ ثانیه، آزمایش را خاتمه‌داده (Cut off) حیوان را از صفحه داغ برمی‌داریم (۱۹ و ۲۰)؛ در این آزمون، هر حیوان، پیش از تزریق و همچنین در زمان‌های ۱۵؛ ۳۰؛ ۴۵ و ۶۰ دقیقه پس از دریافت تزریق ماده مورد نظر، روی صفحه داغ قرارمی‌گیرد و مدت زمان تأخیر در پیدایش پاسخ درد هر حیوان (برحسب ثانیه) در هریک از زمان‌های پنج‌گانه در جدول ثبت‌می‌شود.

از داده‌های به‌دست‌آمده و به کمک رابطه زیر، حداکثر تحمل درد ممکن برای هر حیوان در چهار مقطع زمانی پس از تزریق محاسبه‌شده، مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرارمی‌گیرد:

که در آن MPE (Maximum Possible Effect) نشان‌دهنده حداکثر تحمل درد ممکن، Baseline و Test latency به‌ترتیب به معنی زمان تأخیر پیش و بعد از تزریق و Cut off حداکثر زمان مجاز قراردادن موش روی دستگاه (۲۵ ثانیه) است (۲۱ و ۲۲).

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

در این پژوهش، نتایج با استفاده از نرم‌افزار PRISM Graphpad و آزمون‌های به‌کارگیری روش‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی (Tukey) تجزیه‌و-تحلیل‌شد و p<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داربودن اختلاف میانگین‌های شدت درد درنظرگرفته‌شد.

نتایج

الف-اثر تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف صمغ کتیرا بر درد در آزمون قدکشیدن

براساس نتایج حاصل از این تحقیق، صمغ کتیرا باعث کاهش تعداد انقباض‌های شکمی و افزایش درصد مهار درد در دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم نسبت‌به گروه کنترل شد (P< ۰/۰۰۰۱) که حداکثر تأثیر با دوز ۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم مشاهده‌شد (P<۰/۰۰۰۱). با افزایش مقادیر دوز کتیرا همراه با کاهش میزان انقباض‌های شکمی، درصد مهار درد افزایش‌یافت و این به لحاظ آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۰۱)؛ همچنین گروه‌های دریافت‌کننده دوزμg/kg ۵۰۰ کتیرا، ۲mg/kg ، ۴mg/kg ، ۸mg/kg و دیکلوفناک ۳۰mg/kg نسبت‌به گروه دیکلوفناکmg/kg ۱۰ تفاوت معنی‌داری در تعداد انقباض-های شکمی و درصد مهار درد داشته‌اند (P <۰/۰۵) .

طبق جدول ۲ مدت زمان پاسخ درد در آزمون صفحه داغ در زمان صفر(پیش از تزریق مواد) تفاوتی معنی-داری با یکدیگر نداشته، بنابراین حیوانات در گروه‌های مختلف از نظر آستانه درد همگن بودند (P>۰/۰۵). در ۱۵ دقیقه پس از تزریق، گروه کتیرای ۱۲۵μg/kg نسبت-به گروه‌های کنترل، دیکلوفناک mg/kg ۳۰، مرفین mg/kg ۴ تفاوتی معنی‌دار داشته‌است (Pa , c , g ۰/۰۰۱ >)؛ همچنین گروه‌های دریافت‌کننده دوز کتیرای ۵۰۰μg/kg و ۱۲۵μg/kg نسبت‌به گروه مرفین mg/kg ۲ نیز تفاوتی معنی‌دار داشته‌اند (Pb < ۰/۰۰۰۱).

با بررسی زمان واکنش حیوانات به درد، طی دوره‌های زمانی ۱۵،۳۰،۴۵،۶۰ با اختلاف ۱۵ دقیقه در مجموع، در ۱۵ دقیقه پس از تزریق دوزهای مورد استفاده از صمغ کتیرا، دوزهایμg/kg ۱۲۵ و μg/kg ۵۰۰ درد را کاهش‌دادند و زمان پاسخ به درد دوز μg/kg ۱۲۵ نسبت‌به μg/kg ۵۰۰ بیشتر بوده‌است اما گروه کتیرای μg/kg ۲۵۰ با سایر گروه‌ها تفاوتی معنی‌دار نداشته‌است (P>۰/۰۵).

ج- درصد حداکثر تحمل درد ممکن یا Maximum Possible Effect (MPE ٪)

نتایج نشان‌داد که درصد حداکثر تحمل درد ممکن مربوط به اثر ضددرد صمغ کتیرا در مقابل حرارت تنها در ۱۵ دقیقه بعد از تزریق در دوزهای μg/kg ۱۲۵ و μg/kg ۵۰۰ (شکل۱) القاشده‌است و دوز کتیرای μg/kg ۱۲۵ بیشترین اثر ضددرد را نشان‌می‌دهد و درصد

حداکثر تحمل درد آن نسبت‌به گروه کنترل و دوزهای مورفین سولفات ۲ mg/kg و ۴ mg/kg اختلافی معنی‌دار دارد که به‌ترتیب (P<۰/۰۱)، (P <۰/۰۵) است؛ همچنین گروه کتیرای ۵۰۰ µg/kg

جدول شماره ۱. اثر ضددردی صمغ کتیرا بر انقباض‌های شکمی ناشی از اسید استیک در موش سوری

گروه‌های مورد مطالعه	تعداد انقباض‌های شکمی میانگین± انحراف معیار	درصد مهار
کنترل	۱۰۶/۴±۱۲/۵	-
دیکلوفناک۱۰mg/kg	۶۹/۳±۱۵/۶[a]	۳۴/۸[a]
دیکلوفناک۲۰mg/kg	۵۸/۴±۱۶/۵ [a]	۴۵/۱[a]
دیکلوفناک۳۰mg/kg	۳۵/۸±۱۷/۷ [a,e]	۶۶/۳[a,e]
کتیرا۱۲۵µg/kg	۵۶/۲±۱۶ [a]	۴۷/۲[a]
کتیرا۲۵۰µg/kg	۵۳/۶±۹/۵ [a]	۴۹/۶[a]
کتیرا۵۰۰ µg/kg	۴۹/۲±۱۲/۴ [a,e]	۵۳/۷[a,e]
مرفین۲ mg/kg	۳۰/۸±۱۲/۷ [a,e]	۷۱/۰[a,e]
مرفین۴mg/kg	۲۵/۳±۶/۲ [a,e]	۷۶/۲[a,e]
مرفین۸mg/kg	۳±./۸ [a,e]	۹۷/۲[a,e]

جدول شماره ۲. اثر ضددردی صمغ کتیرا درموش سوری با آزمون صفحه داغ در زمان‌های مختلف

گروههای مورد مطالعه	۰	۱۵	۳۰	۴۵	۶۰
کنترل	۱۰/۷±۳/۲	۱۲/۱±۲/۴	۱۰/۰±۲	۱۰/۲±۲/۰	۱۰/۱±۲/۴
کتیرا۵۰۰µg/kg	۹/۱±۳/۳	۱۸/۳±۵[b]	۱۲/۱±۱/۹	۹/۷±۳/۲	۱۰/۹±۲/۶
کتیرا۲۵۰µg/kg	۷/۶±۲/۷	۱۲/۱±۴	۹/۶±۱/۶	۷/۱±۱	۷/۴±۱/۵
کتیرا۱۲۵µg/kg	۹/۰±۲/۸	۱۹/۶±۸/۱ [a,b,c,g]	۹/۳±۲/۳	۱۰/۳±۳/۰	۹/۷±۳/۶
دیکلوفناک۱۰ mg/kg	۹/۳±۲/۵	۱۴/۴±۴/۴	۹/۱±۳/۰	۸/۴±۲/۴	۷/۶±۲/۰
دیکلوفناک۲۰ mg/kg	۹/۱±۱/۲	۱۵/۳±۳/۷	۱۰/۶±۳/۵	۹/۳±۳/۳	۸/۴±۲/۵
دیکلوفناک۳۰ mg/kg	۷/۶±۱/۳	۱۲/۱±۲/۹	۱۲/۱±۳/۸	۸/۴±۱/۷	۸/۳±۲/۱
مرفین۲ mg/kg	۱۰/۰±۳/۳	۹/۳±۲/۴	۱۲/۹±۳/۲	۱۰/۳±۳/۸	۸/۱±۲/۳
مرفین۴ mg/kg	۹/۰±۲/۲	۱۲/۱±۳/۹۰	۱۱/۳±۲/۱	۱۰/۱±۱/۸	۸/۹±۲/۷
مرفین۸ mg/kg	۸/۵±۲	۱۵/۹±۳/۹۰	۱۶/۹±۴/۸	۱۳/۴±۶/۹	۱۶/۸±۵/۵

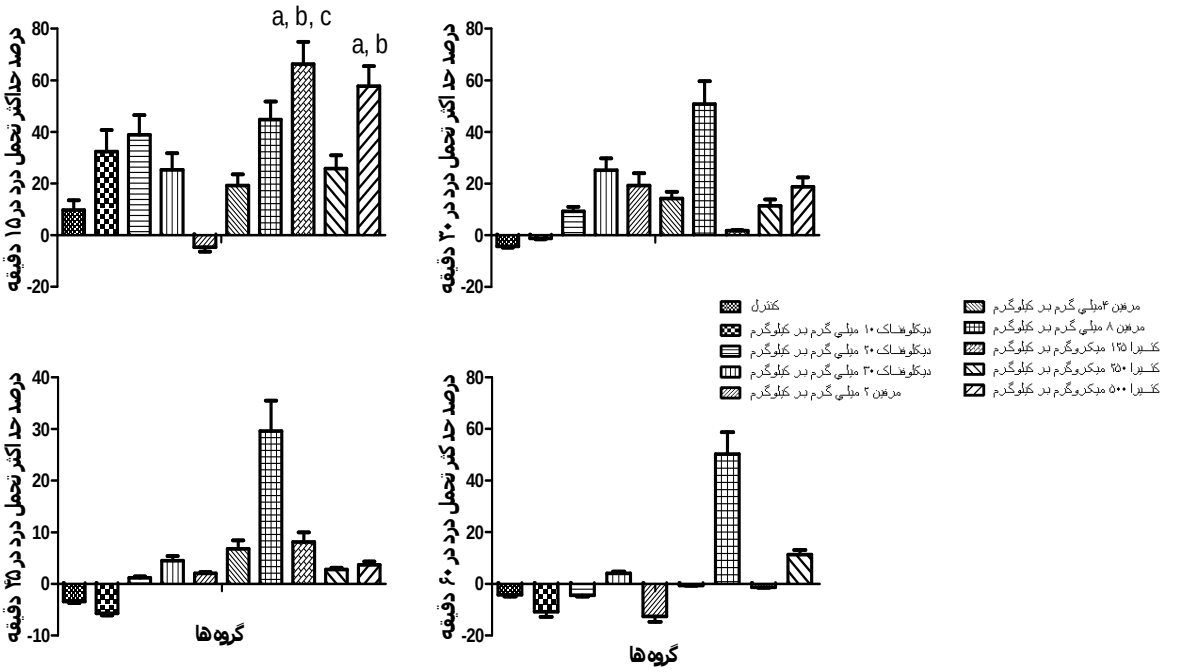
میانگین تعداد انقباض‌های شکمی و درصد مهار درد در آزمون قدکشیدن برحسب گروه‌های مورد مطالعه مقادیر به شکل میانگین ± انحراف معیار ارائه‌شده‌اند. تعداد موش‌ها در هر گروه ۱۰ سر بود(N=10). a و e براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون Tuky به‌ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار نسبت‌به گروه کنترل (P < ۰/۰۵) و گروه دیکلوفناک mg/kg ۱۰ (P < ۰/۰۵) هستند.

ب- اثر تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف صمغ کتیرا بر درد در آزمون صفحه داغ

مقادیر به شکل میانگین ± انحراف معیار ارائه‌شده‌اند. تعداد موش‌ها در هر گروه ۱۰ سر است.

مدت زمان پاسخ به درد در زمان‌های صفر (پیش از تزریق)، ۱۵،۳۰،۴۵،۶۰ دقیقه با اختلاف ۱۵ دقیقه در گروه‌های مختلف

نسبت‌به گروه کنترل و مرفین ۲ mg/kg نیز تفاوتی معنی‌دار را نشان‌می‌دهد (P <۰/۰۱)؛ در مقابل دوز کتیرای ۲۵۰ µg/kg، پایین‌ترین درصد حداکثر تحمل درد را پس از ۱۵ دقیقه نشان‌داد و تفاوتی معنی‌دار با سایر گروه‌ها نداشته‌است (P>۰/۰۵). در زمان‌های ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه پس از تزریق هیچ‌یک از گروه‌های دریافت‌کننده دوز کتیرا تفاوتی معنی‌دار با گروه کنترل نداشته‌اند (P>۰/۰۵).



شکل ۱. مقایسه اثر دوزهای مختلف کتیرا بر درصد حداکثر تحمل درد در زمان‌های مختلف پس از تجویز در آزمون صفحه داغ (n=10).

a براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون **Tuky**، بیانگر اختلاف معنی‌دار با ۰/۰۵ > **Pa** نسبت‌به گروه کنترل است.
b براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون **Tuky**، بیانگر اختلاف معنی‌دار با ۰/۰۵ > **Pb** نسبت‌به گروه مرفین ۲ **mg/kg** است.
c براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون **Tuky**، بیانگر اختلاف معنی‌دار با ۰/۰۵ > **Pc** نسبت‌به گروه مرفین ۴ **mg/kg** است.
d براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون **Tuky**، بیانگر اختلاف معنی‌دار با ۰/۰۵ > **P** نسبت‌به گروه مرفین ۸ **mg/kg** است.
e براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون **Tuky**، بیانگر اختلاف معنی‌دار با ۰/۰۵ > **P** نسبت‌به گروه دیکلوفناک ۱۰ **mg/kg** است.
f براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون **Tuky**، بیانگر اختلاف معنی‌دار با ۰/۰۵ > **P** نسبت‌به گروه دیکلوفناک ۲۰ **mg/kg** است.
g براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون **Tuky**، بیانگر اختلاف معنی‌دار با ۰/۰۵ > **P** نسبت‌به گروه دیکلوفناک ۳۰ **mg/kg** است.

بحث

آزمون‌های قدکشیدن و صفحه داغ برای بررسی آثار ضددرد مزمن و حاد به‌کارمی‌روند؛ در هر دو نوع آزمون، صمغ کتیرا اثر ضددردی قابل‌ملاحظه از خود نشان‌داد که نشان‌دهنده آن است که ترکیب‌های تشکیل‌دهنده این صمغ دارای اثر ضددرد حاد و مزمن هستند. مطالعات پیشین انجام‌شده روی این صمغ، نشان‌می‌دهند که اسیدآمینه‌هایی مختلف ازجمله هیدروکسی پرولین، هیستیدین، اسید اسپاریک و آرژینین در ترکیب کتیرا وجوددارند (۶)؛ علاوه‌براین، اسیدآمینه‌های دیگری مانند پرولین، والین و سرین نیز در کتیرای گونه‌های مختلف یافت‌شده‌اند و هیدروکسی پرولین، هیستیدین و سرین با مقادیر بالا وجوددارند (۷ و ۸). از میان ترکیب‌های شیمیایی بالا سرین، هیستیدین، اسیدآسپارتیک، آرژینین، هیدروکسی پرولین و والین طبق مطالعات متعدد انجام‌شده، ویژگی‌های ضددردی و ضدالتهابی داشته که در ادامه به تعدادی از آنها اشاره‌می‌شود.

در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۷۵ کُویر[1] و همکارانش صورت‌دادند، هیدروکسی L – پرولین و مشتقات آن به‌عنوان عوامل ضددرد و التهاب شناخته‌شدند (۲۳). حریما[2] در سال ۱۹۹۱ با مطالعات فارماکولوژیک در حیوانات نشان‌داد که تجویز آرژینین باعث آثار ضددرد و افزایش انکفالین در سطح مغز می‌شود؛ علاوه‌براین در آزمایشی که روی ۱۲ بیمار مبتلا به انواع مختلف درد در مدت دست‌کم شش ماه صورت‌گرفت. با تزریق داخل وریدی آرژینین در میزان ۵ میلی‌لیتر (۰٫۵ گرم)، درد توسط بیمار با استفاده از مقیاس ۱۰ سانتی‌متر نمره‌دهی مقایسه‌ای بینایی یا visual analog scale (VAS)، پیش و بعد از تزریق آرژینین مورد ارزیابی قرارگرفت. نتایج نشان‌داد که تزریق آرژینین در درمان بی‌دردی خفیف در ۱۰ تا ۱۵ دقیقه پس از شروع تزریق و در بی‌دردی مشخص در ۳۰ تا ۴۰ دقیقه پس از آن، مؤثر بوده‌است (۲۴)؛ در تحقیقی دیگر که پلنلس[3] و همکارانش در سال ۲۰۰۰ انجام‌دادند، نشان‌داده‌شد که پپتیدهای غنی از آرژنین به‌عنوان مسدودکننده‌های کانال VR - 1 مربوط به انواع گیرنده‌های وانیلوئیدی با اثر ضددرد هستند ازآنجاکه گیرنده‌های وانیلوئیدی، نقشی اساسی در انتقال درد ناشی از آسیب بافت‌های محیطی یا التهاب دارند، پپتیدهای غنی از آرژنین، مسدودکننده گیرنده‌های VR - 1 هستند. براساس تحقیق‌های به‌عمل‌آمده، پپتیدهای غنی از آرژنین سوزش چشم تولیدشده موضعی توسط کپسایسین روی چشم حیوانات آزمایشگاهی را تخفیف‌می‌دهد (۲۵)؛ همچنین درپژوهشی دیگر که اونات[4] و همکاران در سال ۱۹۹۵ انجام‌دادند، تزریق مرفین و اسیدآسپارتیک، در دوزهای ترکیبی، به بی‌دردی قابل‌توجه منجرمی‌شود؛ محققان به این نتیجه رسیدند که در سیستم ضددرد اپیوئیدی، آسپارتیک اسید نیز دخیل است؛ همچنین با استفاده از آزمون Tail Flick (پس‌کشیدن دم در اثر درد ایجادشده با تابیدن اشعه) با تزریق دوز ۱۱۵–۲۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم داخل صفاقی اسید آسپارتیک اثر ضددرد آسپارتیک اسید در موش به‌اثبات‌رسیده‌است (۲۶). در مطالعه‌ای که تاکاجی[5] و همکارانش در سال ۱۹۹۷ انجام‌دادند با استفاده از آزمون Tail Flick اثر ضددرد اسید آمینه سرین در تسکین درد حاد و درد مزمن به‌اثبات‌رسید؛ تحقیق‌ها نشان‌دادند که سرین برای درمان دردهایی مانند سردرد، میگرن، درد بعد از عمل جراحی، دردهای روماتیسمی، درد سرطانی، مؤثر است (۲۷). در یک بررسی رفتاری توسط تمدن فرد در سال ۲۰۰۴ انجام‌گرفت، مشخص شد که تزریق داخل صفاقی هیستیدین موجب کاهش پاسخ درد به‌دنبال تزریق کف‌پایی فرمالین در موش‌های سفید کوچک آزمایشگاهی شده‌است (۲۸)؛ در پژوهشی دیگر،آکدا[6] در سال ۲۰۰۰ نشان‌داد هیستیدین دارای آثار بیولوژیک گسترده شامل اثر آنتی‌اکسیدانی، ضدادم، ضدپروستاگلاندین، ضداینترلوکین و ضددرد است؛ همچنین اسیدآمینه هیستیدین ادم مغزی ناشی از جراحی سرما را در

1. Coirre
2. Harima
3 . Planells
4. Onat
5. Onat
6. Ikeda

موش‌های صحرایی کاهش‌داده‌است (۲۹). مطالعات متعدد نشان‌داده‌اند که برخی از اسیدهای آمینه فعالیت‌های ضدالتهابی دارند (۳۰). در پژوهشی به سال ۲۰۱۱ میلادی، امیرعباس فرشید و همکاران، اثر هیستیدین و دگزامتازون بر التهاب موضعی ناشی از هیستامین در موش صحرایی را بررسی‌کردند؛ در این تحقیق، آثار جداگانه و ترکیبی داخل صفاقی (IP) تزریق هیستیدین و دگزامتازون بر التهاب موضعی در موش صحرایی مورد آزمایش قرارگرفت و نتایج نشان‌داد که تزریق IP هیستیدین در دوزهای ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ mg/kg و دگزامتازون در دوز mg/kg ۱ به کاهش التهاب منجرشده و نفوذ نوتروفیل‌ها در بافت ملتهب کاهش‌یافته‌است؛ ازطرفی، تزریق IP هیستیدین ۲۰۰ mg/kg همراه با دگزامتازون ۱ mg/kg در درمان ترکیبی، باعث پاسخ بهتری در کاهش التهاب در مقایسه با هیستیدین و دگزامتازون به‌تنهایی می‌شود. نتایج نشان‌می‌دهند که هیستیدین و دگزامتازون دارای فعالیت‌های ضدالتهابی‌اند و در دوز ترکیبی هیستیدین و دگزامتازون، هیستیدین اثر دگزامتازون را در کاهش التهاب تقویت‌می‌کند (۳۱). در مطالعه‌ای که[1] در سال ۱۹۷۹ انجام‌داد، اثر مهاری اسیدهای آمینه مختلف در التهاب به‌وجودآمده در موش بررسی‌شد که سیتولوژی مایع صفاقی به‌عنوان ابزار تشخیصی بود. نتایج نشان‌دادند که اسیدآمینه‌هایی مختلف ازجمله هیدروکسی پرولین و والین به‌طور قابل‌توجهی در کاهش التهاب نقش‌دارند؛ براساس این نتایج، دی پپتید (L والین – آلانین) دارای اثر قوی ضدالتهابی است (۳۲). نتایج تحقیق حاضر نشان‌دادند که صمغ کتیرا به‌صورت معنی‌دار پاسخ اسید استیک را به‌صورت وابسته به دوز مهارمی‌کند.

انقباضات شکمی‌وابسته به حساسیت گیرنده‌های درد به ترکیباتی از جمله پروستاگلاندین‌ها می‌باشد آسیب بافتی سبب آزادسازی ترکیب‌هایی مانند پروستاگلاندین‌ها، برادی کینین، سروتونین، ماده P و هیستامین می‌شود (۳۲)؛ بنابراین به‌احتمال، گیاه، آثار ضددردی خود را از طریق سنتز مهارکنندگان چنین ترکیب‌هایی ازجمله پروستاگلاندین‌ها القامی‌کند. کاهش در تعداد انقباض‌های شکمی در یک حالت وابسته به دوز صورت‌گرفته‌است و گروه‌های آزمون کتیرا اثری بسیار قابل‌ملاحظه نسبت‌به گروه کنترل از خود نشان‌داده‌اند. براساس نتایج حاصل از این تحقیق، صمغ کتیرا باعث کاهش تعداد انقباض‌های شکمی و افزایش درصد مهار درد در دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم نسبت‌به گروه کنترل شد ($P< ۰/۰۰۰۱$)و دوز ۵۰۰μg/kg کتیرا مؤثرترین دوز در کاهش تعداد انقباض‌های شکمی و افزایش درصد مهار درد است. در آزمون صفحه داغ زمان واکنش حیوانات به درد، طی دوره‌های زمانی ۱۵ ،۳۰، ۴۵ ،۶۰ با اختلاف ۱۵ دقیقه، درمجموع، در ۱۵ دقیقه پس از تزریق دوزهای مورد استفاده از صمغ کتیرا، دوزهای μg/kg ۱۲۵ و μg/kg ۵۰۰ درد را کاهش‌دادند و زمان پاسخ به درد دوز μg/kg ۱۲۵ نسبت‌به μg/kg ۵۰۰ بیشتر بوده‌است؛ اما دوز کتیرای μg/kg ۲۵۰ با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشته‌است ($P>۰/۰۵$). با توجه به اینکه در آزمون صفحه داغ، ساختارهای مرکزی کنترل درد، مطرح (۳۳)، احتمال دخالت گیرنده‌های اوپیوییدی در آثار ضددردی این صمغ وجوددارد، بنابراین به‌نظرمی‌رسد که دست‌کم، قسمتی از آثار ضددردی کتیرا، از طریق ساختارهای مرکزی واسطه‌گری شوند. در خاتمه شاید بتوان این چنین مطرح‌کرد که ترکیب‌های موجود در کتیرا ممکن است ازیک‌طرف با مهار آزادسازی اسید آراشیدونیک و درنتیجه، جلوگیری از سنتز پروستاگلاندین‌ها و ازطرف-دیگر با تأثیرگذاری بر سیستم اپیوئیدی، موجب کاهش درد می‌شوند؛ بنابراین نتایج این مطالعه نشان‌می‌دهند که کتیرا می‌تواند در کنترل درد حاد و مزمن نقش‌داشته‌باشد.

از محدودیت‌های تحقیق حاضر که در سایر مطالعات مشابه هم دیده‌می‌شود، این است که رفتارهای ارزیابی-شده در آزمون‌های پذیرفته‌شده writhing و Tail flick

1. Meyers

ویژگی عمومی دارند و ممکن است با اثر غیرآنالژزیک مختلف مانند بلوکرهای آدرنرژیک، آنتی‌هیستامین‌ها و شل‌کننده‌های عضلانی تداخل کنند؛ ازاین‌رو پیشنهاد-می‌شود که این مطالعات روی مدل‌های دیگر درد و در گونه‌های دیگر نیز بررسی‌شوند.

نتیجه‌گیری

درمجموع، این مطالعه نشان‌می‌دهد که صمغ کتیرا دارای آثاری ضددرد در دو مدل آزمایشگاهی ارزیابی درد است. این مطالعه آثار ضددردی صمغ کتیرا را که در کتب طب سنتی به آن اشاره‌شده‌است، تأییدمی‌کند؛ به‌علاوه، داده‌های به‌دست‌آمده نشان‌دادند که کتیرا اثر بهبوددهندگی در هر دو مدل درد حاد و مزمن ایجاد-می‌کند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری آقای *سید مجید باقری* و سایر کارکنان آزمایشگاه فیزیولوژی و بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده پزشکی که در اجرای این پژوهش ما را یاری‌دادند، بی‌نهایت، سپاسگزاری‌می‌کنیم.

منابع

1. Zargar A, Medical plants. Tehran: Tehran University; 2003.

2. Avecina A, Ghanoon of Medicine, Vol. 2. Tehran: Soroush Publication Co; 1991.

3 . Pistelli LF, Secondary metabolites of genus Astragalus: Structure and biological activity. Studies Nat Prod Chem. 2002; 27: 443-545.

4. Balaghi S, Mohammadifar MA, Zargaraan A. Physicochemical and rheological characterization of gum tragacanth exudates from six species of Iranian Astragalus. Food Biophys 2010; 5: 59-71.

5 . Gennaro AR, Remington: The science and practice of pharmacy. Vol. 20. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000.

6. Anderson DMW, Bridgeman MME. The composition of the proteinaceous polysaccharides exuded by astragalus microcephalus, A. Gummifer and A. Kurdicus the sources of turkish gum tragacanth. Phytochem 1985; 24: 2301-2304.

7. Lalhlenmawia PLH, Mazumder B. Characteristics and composition of Albizia procera Rox b Benth gum. Indus Crops Prod 2012; 40: 90-95.

8 . Anderson DMW, Grant DAD. Chemical compositions of the nitrogen containing gum tragacanth exudates from Asiatic Astragalus species, grown in North America. Food Hydrocolloids 1989; 3: 217-223.

9. AY Leung, Foster S. Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics. No. Ed. 2. John Wiley & Sons, Inc., 1996.

10. Khan IA, Abourashed EA. Leung's encyclopedia of common natural ingredients: used in food, drugs and cosmetics. Wiley, 2011.

11. Vahdani M, Faridi P,. Zarshenas MM, Javadpour S, Abolhassanzadeh Z, Moradi N, et al. Major compounds and antimicrobial activity of essential oils from five Iranian endemic medicinal plants." Pharmacog J 2011; 22 : 48-53.

12. Taherian, AA, Dehghanina M, Vafaei AA, Sadeghi H, Miladi Gorgi H. Effects of aqueous extract of fruit of Foeniculum vulgar on neurogenic and inflamatory pain in mice. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences 2007; 12,: 29-36.

13 . Metzner JI, and Alec Rooke G. Analgesics and Sedatives. Manual of Geriatric Anesthesia 2013; 75-91.

14. Burton TP, Anubhav M, Mattias S. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs and Anastomotic Dehiscence in Bowel Surgery: Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized, Controlled Trials. Diseases of the Colon & Rectum 2013; 56: 126-134.

15. Shamsi Meymandi M, Keyhanfar F. Relative potency of pregabalin, gabapentin, and morphine in a mouse model of visceral pain. Can J Anesth 2012; 1: 1-6.

16. Zendehdel Kheybari M, Ghahhari J, Vaezi GH, Shariatifar N. The study of hydroalcoholic extract of Ziziphora tenuior on visceral pain with writhing test in mice, Ofogh- e - Danesh, 2009; 15: 24-30.

17 . Onasanwo SA, Pal A, George B, Olaleye SB , Pharmacological and toxicity studies of the crude extracts and fractions of Hedranthera barteri leaf in rats and mice , African Journal of Biomedical Research, 2008; 11: 311 – 321.

18. Eddy NB, Leimbach DG. Synthetic analgesics II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines", J Pharmacol Exp Ther, 1953; 107: 385–393.

19. Taherian AA, Vafaee AA, Rashidi Pour A, Imami Abarghouee M, Miladi Gorgi H, Jarrahi M, Sadeghi H. Effect of aqueous extract of seed of Coriandrum sativum on acute pain in mice Hot plante and Tail flick model in mice , , Journal of Medicinal Plants 2005; 13: 30-35.

20. Haghighi N, Kessmati M, fathi Moghadam H. Study of interaction between opioid and α-2 adrenergic systems in analgesic effect of oxytocin in locus coeruleus nucleus, , Physio Pharmacol 2006; 10:259-266 .

21. Bukhari IA, Khan RA, Gilani AH, Shah AJ, Hussain J, Ahmad VU. The Analgesic, Antiinflammatoryand Calcium Antagonist Potential of Tenacetum artemisiodes, Arch Pharm Res 2007; 30: 303-308.

22. VanderahTodd W, Largent-Milnes T, Lai J. Novel D-amino acid tetrapeptides produce potent antinociception by selectively acting at peripheral kappa-opioid receptors , Eur J Pharmacol 2008; 583: 62–72.

23. Coirre Paul, Bertrand C. Anti-inflammatory and analgesic L-hydroxyproline derivatives. U.S. Patent 3,891,765, issued 1975.

24 . Harima Akane, Shimizu H, Takagi H. Analgesic effect of L-arginine in patients with persistent pain. Eur Neuropsychopharmacol 1991; 1: 529-33.

25 . Planells-Casesa R, Aracilb A, Merinoc JM, Gallarb J, Perez-Paya d E, Belmonteb C, Gonzalez-Rosa JM, Ferrer -Montiel AV. Arginine-rich peptides are blockers of VR-1 channels with analgesic activity. FEBS 2000; 481: 131-136.

26. Onat F, Toker F, Aslan N, Oktay BK. Antinociceptive effect of D-Aspartic acid in mice , , Pharmacol Biochem Behav 1995; 51: 715-719 .

27. Takagi, Hiroshi, and Akihiro Harima. "Analgesic effect of l-threo-3, 4-dihydroxyphenylserine (L-DOPS) in patients with chronic pain." Europ neuropsychopharmacol 1996; 6: 43-47.

28. Tamaddonfard E, Rahimi S. Central effect of histamine and peripheral effect of histidine on the formalin- induced pain response in mice. Clin Exp Pharmacol Physiol; 2004; 31: 518-22.

29 . Ikeda Y, Mochizuki Y, Matsumoto H, NakamuraY, Dohi K, Jimbo H. L-histidine but not Dhistidine attenuates brain edema following cryogenic surgery in rats. Acta Neurochir Suppl , 2000; 76:195-7.

30 . Meyers BE, Moonka DK, Davis RH. The effect of selected amino acids on gelatin-induced inflammation in adult male mice. inflammation 1979;3: 225-233.

31. Farshid AA, Tamaddonfard E, Morvaridi A. Effects of Histidine and Dexamethasone on the Local Inflammation Induced by Histamine in Rats. Vet Res 2011; 2: 31-36.

32. Eidi A, Eidi M, Badiei L, Antinociceptive effects of ethanolic extract of parsley (Petroselinum crispum L.) leaves in mice. Med Sci J Islam Azad 2009; 19:181-186

33. Heidari MR, Vahedian M , Moamenzadeh S, Hayatbakhsh Abbasi MM. The Analgesic Effect and Possible Mechanism of Colchicum Szovitsii Methanolic Extract in Mouse. JRUMS 2005; 4: 25-33.

Daneshvar

Medicine

Scientific-Research Journal of Shahed University Twenteeth Year, No.102 December 2012, January 2013

Received: 2012/10/22
Last revised: 2013/1/9
Accepted: 2013/1/28

A comparison between the analgesic effect of tragacanth gum, diclofenac and morphine in mice using writhing and hot-plate analgesic tests

Leila Keihani [1], Mohammad Ebrahim Rezvani[1]*, Mohammad Hossain Dashti- Rahmatabadi[3]

1. Science and Research Branch, Islamic Azad University, Fars, Iran.
2. Associate Professor of Physiology - Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
3. Assistant Professor of Physiology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

E-mail: erezvani@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Some of medicinal plants have been used for pain reliving in Iarnian ancient medicine. *Astragalus gummifer* (AG) is one of them and its gum (tragacanth gum) were used for several health purposes. The present study was conducted to evaluate the analgesic effects of this gum in mice.

Materials and Methods: In this study, the analgesic effect of tragacanth gum was determined using hot-plate and writhing tests. Mice were injected with tragacanth gum at doses of 125, 250 or 500 µg/kg i.p. as treatment groups. Morphine at doses of 2, 4 or 8 µg/kg i.p., and diclofenac at doses of 10, 20 or 30 µg/kg i.p. were used as control groups.

Results: In writhing test, gum tragacanth at different doses (125, 250, and 500 µg/kg) significantly reduced the number of writhings in mice as compared to control group ($p<0.05$). In hot-plate test, maximum possible effect of tragacanth gum significantly increased only after 15 minutes but not in other time periods. In two models of pain assesment, both morphine sulfate and diclofenac sodium had also pain relieving potential.

Coclusion: The present study indicated that tragacanth gum elicits prominent analgesic effects in an experimental model of acute and chronic pain. Additionally, data obtained in this study indicated the presence of some constituents with pain releiving properties that confirms the traditional use of the gum for pain relieving purposes.

Key words: Tragacanth gum, Diclofenac, Morphine, Analgesia, Writhing test, Hot plate test