

## بررسی اثر استرادیول و عصاره هیدروالکلی دانه خرفه بر درد حاصل از القای تست رایتینگ در موش‌های سوری ماده

نویسندگان: رحیم احمدی<sup>۱</sup>، بهروز خاکپور<sup>۲</sup>، مهسا نایب‌هاشمی<sup>۳\*</sup>، الوند الوانی<sup>۴</sup>، خالد کشاورز<sup>۵</sup> و ادريس مهدوی<sup>۶</sup>

۱. استادیار و دکترای فیزیولوژی گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، ایران

۲. استادیار و دکترای فیزیولوژی گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۳. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی پزشکی گروه بیوتکنولوژی پزشکی، سازمان انتقال خون تهران، مؤسسه آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، تهران، ایران

۴. کارشناس ارشد گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، ایران

۵. کارشناس ارشد گروه باغبانی و گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی کرج، ایران

\* نویسنده مسئول: مهسا نایب‌هاشمی E-mail: mahsa\_nayebhashemi@yahoo.com

### چکیده

مقدمه و هدف: مطالعات نشان می‌دهند که عصاره خرفه و همچنین استرادیول، دارای اثرهایی ضد درد هستند. هدف اصلی این مطالعه، بررسی اثرهای تجویز توأم استرادیول و عصاره هیدروالکلی دانه خرفه بر درد حاصل از القای تست رایتینگ در موش‌های سوری ماده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۷۸ سر موش سوری ماده نژاد بالب سی به‌طور تصادفی به گروه‌های کنترل، دریافت‌کننده دوزهای پایین، متوسط و بالای عصاره خرفه و استرادیول و دریافت‌کننده «عصاره خرفه + استرادیول» تقسیم شدند. پس از تزریق درون‌صفاقی عصاره یا هورمون، آستانه درد توسط آزمایش رایتینگ اندازه‌گیری شد و داده‌ها از طریق آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج: تجویز استرادیول با دوز پایین، متوسط و بالا، موجب کاهش تعداد انقباض‌های شکمی شد (به ترتیب:  $P < 0/01$ ،  $P < 0/001$  و  $P < 0/001$ ). تعداد انقباض‌های شکمی در گروه دریافت‌کننده دوز پایین خرفه به افزایشی معنادار، دچار شد ( $P < 0/01$ )؛ اما [تعداد این انقباض‌ها] در گروه‌های دریافت‌کننده دوز متوسط و دوز بالای خرفه کاهش یافت ( $P < 0/001$ ). تجویز توأم دوز پایین عصاره خرفه و دوز پایین استرادیول و نیز تجویز توأم دوز بالای خرفه و دوز بالای استرادیول، سبب کاهش بیشتر تعداد انقباض‌های شکمی در مقایسه با گروه دریافت‌کننده دوز پایین و بالای استرادیول شد ( $P < 0/001$ ).

نتیجه‌گیری: نتایج حاضر نشان می‌دهند که عصاره دانه خرفه و استرادیول در دوزهای مناسب، اثر کاهندگی درد دارند؛ همچنین، عصاره دانه خرفه و استرادیول، دارای اثر هم‌افزایی بر کاهش درد هستند.

واژگان کلیدی: استرادیول، خرفه، آستانه درد، رایتینگ، موش سوری ماده.

## مقدمه

درد، عاملی هشداردهنده است که در صورت احتمال یا وجود خطر، خود را به صورت یک احساس ناخوشایند حاد یا مزمن نشان می‌دهد و از شایع‌ترین مشکلاتی است که انسان همواره با آن دست‌به‌گریبان بوده و سال‌هاست تلاش می‌کند تا برای رهایی از آن، چاره‌ای بیابد. با وجودی که سابقه تشخیص و درمان درد به چندین هزار سال پیش می‌رسد، هنوز هم یکی از مشکلات درمانی در انسان است. درباره سازوکارهای مؤثر در مسیرهای درد، واسطه‌های شیمیایی، ارتباطات نورونی، گیرنده‌های مرتبط با مدارهای تعدیل‌کننده و کنترل درد، هنوز اطلاعاتی آنچنان جامع در دست نیست که بتوان آن را به خوبی کنترل کرد لذا انجام تحقیق‌هایی پیشتر، نیاز است. آزمایش‌های درد با استفاده از موارد انسانی چالش‌برانگیز به طور اجتناب‌ناپذیری غیرعینی و دارای محدودیت‌های اخلاقی است؛ بنابراین از مدل‌های آزمایشگاهی حیوانی برای بررسی درد استفاده می‌شود؛ با این حال، مطالعات درد روی مدل‌های حیوانی، چالش‌ها و محدودیت‌های اخلاقی و کاربردی خود را دارند (۱). استرادیول، یکی از هورمون‌های جنسی اصلی در زنان است؛ این هورمون با اتصال به گیرنده استروژنی در سیتوپلاسم، باعث افزایش میزان ساخته شدن DNA، RNA و پروتئین‌های دیگر در بافت هدف می‌شود (۲)؛ همچنین، استرادیول در زنان، موجب «رشد و تکامل اندام جنسی، حفظ عملکرد طبیعی سیستم ادراری-تناسلی و افزایش ثبات عروق خونی» می‌شود (۳). گرچه نقش اصلی استرادیول در بافت‌های تولیدمثلی مانند رحم است، در سایر بافت‌ها نظیر استخوان، کبد، عروق خونی و مغز نیز تأثیر دارد. استرادیول در مردان به میزانی بسیار کم از متابولیسم تستوسترون ایجاد می‌شود (۴ و ۵)؛ همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که بسیاری از هورمون‌ها، نقشی مهم در درمان و کاهش درد

ایفا می‌کنند؛ در این راستا، نقش هورمون رشد (۶)، گنادوتروپین (۷) و کلسی‌تونین (۸) بر درد بررسی شده‌است. تحقیق‌ها نشان داده‌اند که هورمون‌های جنسی نیز، مانند سایر هورمون‌ها بر درد اثر می‌گذارند (۹ تا ۱۱)؛ گرچه و در مقابل، برخی مطالعات نشان داده‌اند که هورمون‌های جنسی در تنظیم و تعدیل درد، نقشی قابل توجه ندارند (۱۲).

تعدادی از گیاهان، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و دارویی قابل ملاحظه هستند. گیاه خرفه *Portulaca oleracea* L.) از جمله گیاهانی است که مورد توجه متخصصان تغذیه و طب سنتی قرار گرفته‌است؛ محل رویش این گیاه در مزارع کشاورزی و مرغزارهاست (۱۳ و ۱۴). گیاه خرفه دارای برگ و ساقه آبدار و خوردنی با طعمی اسیدی و شور است؛ همچنین، خواص مغذی و آنتی‌اکسیدانی و نیز مصارف دارویی دارد. به دلیل وجود امگا ۳، آلفا توکوفرول، اسید آسکوربیک، بتا کاروتن و گلوکوتایون در خرفه، این گیاه یکی از منابع غذایی با ارزش شناخته شده‌است (۱۵)؛ برای نمونه، امگا ۳ موجود در خرفه، عاملی مهم در جلوگیری از حمله قلبی و تقویت سیستم ایمنی محسوب می‌شود (۱۶). هیچ‌گونه اثر سیتوتوکسیکی در عصاره گیاه خرفه مشاهده نشده؛ بنابراین، مصرف خوراکی این گیاه، به طور کامل، ایمن شناخته شده‌است (۱۷). تحقیق‌ها نشان داده‌اند که بتاسایین‌های جدا شده از خرفه برای درمان اختلال‌های شناختی در مدل حیوان آزمایشگاهی، مؤثرند (۱۸)؛ [استفاده از] گیاه خرفه، همچنین به عنوان نوعی روش درمانی مؤثر برای برخی بیماری‌های پوستی به شمار می‌رود (۱۹). مشخص شده‌است که در بهترین شرایط رشد، می‌توان بیشترین میزان اسید چرب و کمترین میزان اگزالیک اسید را از برگ‌های این گیاه به دست آورد (۲۰ و ۲۱). مطالعاتی فراوان، روی خرفه به عنوان یک گیاه دارویی، در طب سنتی صورت گرفته‌اند اما تحقیق‌هایی بسیار در خصوص اثرهای آن بر درد،

شمارش شدند؛ انقباض‌های شکمی همراه با بازکردن پاهای عقب یا کشیدن تمام بدن مشخص می‌شدند (۲۴). از سوی دیگر، برای تهیه عصاره، دانه خرفه تازه برداشت‌شده در اواسط خرداد ماه استفاده و پس از شستشوی دقیق و چندباره، به مدت یک هفته در سایه خشک شد؛ متعاقب آن، دانه‌های خرفه خشک با آسیاب برقی به پودر تبدیل‌شده، 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، توسط دستگاه روتاری و در دمای ۵۰ درجه، حلال از عصاره جدا شد و عصاره که محلولی غلیظ و به رنگ زرد تیره بود، در داخل پلیت قرار داده و پس از دو تا سه روز، خشک شد؛ در نهایت، ۲۰ گرم عصاره در ۱۰۰ سی‌سی نرمال سالین، حل و محلول ۲۰ درصد عصاره به‌عنوان ذخیره استفاده شد و در مواقع لازم، دوزهای مورد نیاز از این محلول ذخیره تهیه‌شدند و عصاره، پیش از تزریق به‌منظور ضدعفونی‌کردن از فیلتر استریل عبور داده‌شد.

در برنامه مطالعاتی، ۷۸ سر موش سوری ب‌الب سی ماده به‌طور تصادفی به گروه‌های «کنترل»، شامل گروه دریافت‌کننده اسید استیک (به‌عنوان گروه شاهد آزمون رایتینگ)، گروه دریافت‌کننده نرمال سالین (به‌عنوان گروه شاهد متناظر با گروه‌های مورد تزریق) و گروه دریافت‌کننده مورفین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (به‌عنوان شاهد اثرگذاری ضددردی)، گروه دریافت‌کننده استرادیول شامل زیرگروه دوز پایین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دوز متوسط (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دوز بالا (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه دریافت‌کننده عصاره دانه خرفه شامل زیرگروه دوز پایین (۱۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دوز متوسط (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دوز بالا (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه تزریق توأم عصاره دانه خرفه و استرادیول، شامل زیرگروه‌های دریافت‌کننده توأم دوز پایین عصاره خرفه (۱۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دوز

به‌ویژه در مدل آزمایشگاهی انجام‌نگرفته‌اند.

با توجه به نتایج ضدونقیض حاصل از تحقیق‌ها درخصوص بررسی اثرهای هورمون‌های جنسی بر آستانه درد (۱۲) و نیز با توجه به اهمیت کاهش درد به‌عنوان یکی از بزرگ‌ترین و مهم‌ترین دغدغه‌های بشر و همچنین با عنایت به مطالعات بسیار محدود درباره اثر گیاه خرفه بر آستانه درد و نیز با توجه به عدم مشاهده عوارض جانبی قابل‌توجه در استفاده از عصاره خرفه (۱۷) و از آنجاکه طبق اطلاع نگارندگان این مقاله، تا این زمان، تحقیقی درباره اثر توأم عصاره خرفه و استرادیول بر درد صورت‌نگرفته‌است، بر این اساس، این تحقیق به بررسی اثر هورمون استرادیول و خرفه به‌صورت مستقل از هم و نیز توأم با هم بر آستانه درد موش‌های صحرایی در مدل رایتینگ پرداخته‌است؛ نتایج این تحقیق به‌ویژه از نظر بررسی تداخل اثرهای استرادیول و خرفه در تنظیم و تعدیل درد، در نوع خود، یافته‌هایی نوین خواهند بود.

### روش بررسی

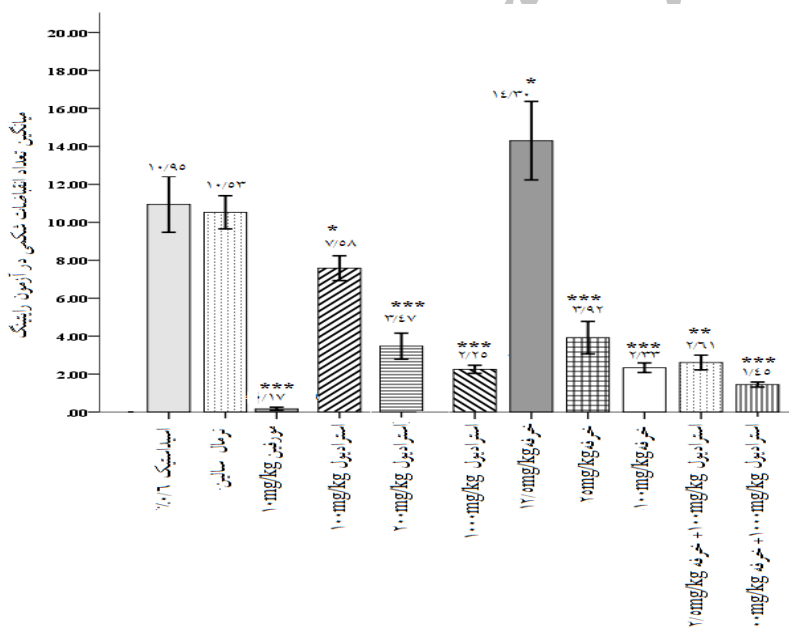
تحقیق حاضر از نوع تجربی بوده و طی آن از موش‌های سوری ماده بالغ به وزن ۲۵ تا ۳۵ گرمی از نژاد ب‌الب سی استفاده‌شده‌است. موش‌ها به مدت یک هفته در اتاق حیوان‌ها برای سازش نگهداری‌شده، به آب و غذای استاندارد به‌صورت آزادانه دسترسی داشتند. موش‌ها در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و در سیکل تاریکی (۱۲ ساعت) و روشنایی (۱۲ ساعت) قرار داده‌شدند و آزمایش‌ها، دور از هرگونه استرس رفتاری روی آنها انجام‌شده‌اند.

بر مبنای مطالعات پیشین (۲۲ و ۲۳)، برای انجام آزمون رایتینگ (Writhing test)، روی نمونه‌ها تزریق داخل‌صفاقی اسید استیک ۰/۶ درصد (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) انجام و متعاقب آن، پس از گذشت ۱۰ دقیقه، تعداد انقباض‌های شکمی به مدت ۳۰ دقیقه

با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه بین گروه‌ها مقایسه شده، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و متعاقب آن، با استفاده از آزمون تعقیبی بن فرنی (Bonferroni)، معناداری اختلاف میان گروه‌ها تعیین شد. در این پژوهش از تحلیل واریانس یک طرفه بین آزمودنی (کاملاً تصادفی) و دوطرفه (وابسته) استفاده و سطح معناداری در حد کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

نمودار ۱، بیانگر میانگین تعداد انقباض‌های شکمی در گروه‌های مورد آزمایش است.



### نمودار ۱. میانگین تعداد انقباض‌های شکمی در مقایسه با گروه دریافت‌کننده اسید استیک

استیک شد که این امر، بیانگر تأثیرگذاری ترکیب‌های ضدردی بر درد القاشده از اسید استیک در تجربیات این مطالعه است. تجویز استرادیول با دوز پایین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دوز متوسط (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دوز بالا (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه دریافت‌کننده اسید استیک، موجب کاهش تعداد انقباض‌های شکمی حاصل از القای اسید

پایین استرادیول (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دریافت‌کننده توأم دوز بالای خرفه (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دوز بالای استرادیول (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. در اجرای برنامه مطالعاتی، ابتدا عصاره یا هورمون تزریق شد و متعاقب آن، ۱ ساعت پس از تزریق عصاره یا هورمون، اسید استیک به صورت درون‌صفافی تزریق شد و پس از گذشت ۱۰ دقیقه، تعداد انقباض‌های شکمی به مدت ۳۰ دقیقه شمارش شدند. در طول مطالعه، تمامی قوانین بین‌المللی حقوق نمونه‌ها بر اساس استانداردهای بین‌المللی رعایت شدند (۲۵).

در بررسی‌های آماری، ابتدا از نرمال بودن داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS<sub>20</sub>، با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف، اطمینان حاصل شد؛ در نهایت، نتایج حاصل

علامت‌های \*، \*\* و \*\*\* به ترتیب، بیانگر  $P < 0/01$ ،  $P < 0/001$  و  $P < 0/0001$  هستند.

مطابق نتایج حاصل از این تحقیق، تزریق نرمال سالین، متعاقب تجویز اسید استیک، اثری معنادار بر درد نداشته‌است؛ بر این مبنا، روند تزریق در این مطالعه بر نتایج تجربیات اثری نداشته‌است؛ ازسویی، تزریق مورفین، سبب کاهش معنادار درد، متعاقب تجویز اسید

نداشت.

### بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش، بیانگر آن هستند که برخلاف تزریق دوز پایین خرفه، تزریق دوز متوسط و بالای خرفه، موجب افزایش آستانه درد می‌شود و بدین ترتیب در تنظیم و تعدیل درد، نقشی کاهنده دارد؛ موافق با این یافته، مطالعات نشان می‌دهند که تجویز عصاره آبی دانه گیاه خرفه می‌تواند اثرهایی گوناگون، روی بخش‌های مختلف سیستم عصبی برجای‌گذارد (۲۶)؛ همچنین، بررسی‌های فارماکولوژیکی عصاره خرفه، نشانگر آن‌اند که این عصاره در تنظیم و تعدیل درد، مؤثر است (۲۷). گیاهان حاوی فلاونوئیدها، بسیاری از آثار خود را با مهار سیکلواکسیژناز اعمال می‌کنند که این امر، بسیاری از آثار درمانی آنها را توجیه می‌کند. با توجه به انتقال دردهای احشایی به مراکز فوق نخاعی، تعدیل در این دردها، ناشی از اثر عامل یا عواملی است که بر سیستم اعصاب مرکزی مؤثرند؛ در این راستا، آثار بالینی ترکیب‌های حاوی فلاونوئید بر اساس مهار مرکزی و محیطی تولید پروستاگلاندین هستند (۲۸) و از طرفی، خرفه گیاهی است که مقادیری قابل توجه، فلاونوئید دارد (۱۴ و ۱۵) که بر این مینا، بخشی از اثرهای ضددردی عصاره خرفه را می‌توان به فلاونوئیدهای موجود در این گیاه نسبت داد که سبب مهار سیکلواکسیژناز می‌شود؛ در واقع، سیکلواکسیژناز، آنزیم اصلی در ساخت اسید آراشیدونیک به‌شمار می‌آید که پیش‌ساز پروستاگلاندین و پروستاگلین است. مهار آنزیم سیکلواکسیژناز، باعث مهار تولید اسید آراشیدونیک می‌شود (۲۹) و بدین واسطه، تولید پروستاگلاندین کم شده، بر این مینا در تعدیل مرکزی درد، نقش ایفای می‌کند؛ همچنین، ترکیب‌های استروئیدی نیز سبب جداسدن سریع گیرنده‌های  $\mu$  اپیوئیدی از G پروتئین‌ها شده، از این

استیک شد (به ترتیب:  $P < 0/01$ ،  $P < 0/001$  و  $P < 0/001$ )؛ در این راستا، تعداد انقباض‌های شکمی در گروه دریافت‌کننده دوز متوسط و بالای استرادیول، نسبت به گروه دریافت‌کننده دوز پایین استرادیول به کاهشی بیشتر، دچار شد (به ترتیب:  $P < 0/01$  و  $P < 0/001$ )؛ اما تعداد انقباض‌های شکمی در گروه دریافت‌کننده دوز بالای استرادیول، نسبت به گروه دریافت‌کننده دوز متوسط استرادیول، تفاوتی معنادار نداشت و از طرفی، تعداد انقباض‌های شکمی در گروه دریافت‌کننده دوز پایین دانه خرفه (۱۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، نسبت به گروه دریافت‌کننده اسید استیک به افزایشی معنادار، دچار شد ( $P < 0/01$ )؛ در صورتی که تعداد انقباض‌های شکمی در گروه‌های دریافت‌کننده دوز متوسط (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دوز بالای (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) خرفه، سبب کاهش تعداد انقباض‌های شکمی نسبت به گروه دریافت‌کننده اسید استیک شد ( $P < 0/001$ )؛ اما در مقایسه با هم، تفاوتی معنادار نداشتند. تجویز توأم دوز پایین عصاره خرفه (۱۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دوز پایین استرادیول (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و نیز تجویز توأم دوز بالای خرفه (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دوز بالای استرادیول (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، سبب کاهش تعداد انقباض‌های شکمی در مقایسه با گروه دریافت‌کننده اسید استیک شد (به ترتیب:  $p < 0/05$  و  $P < 0/001$ )؛ اما تعداد انقباض‌های میان این دو گروه در مقایسه با هم، تفاوتی معنادار نداشت؛ همچنین تعداد انقباض‌ها در گروه‌های دریافت‌کننده توأم دوزهای پایین استرادیول و خرفه نسبت به گروه دریافت‌کننده دوز پایین خرفه و گروه دریافت‌کننده دوز پایین استرادیول به‌طور معناداری کمتر بود ( $P < 0/001$ ) و از سویی، تعداد انقباض‌ها در گروه‌های دریافت‌کننده توأم دوزهای بالای استرادیول و خرفه، نسبت به گروه دریافت‌کننده دوز بالای خرفه و گروه دریافت‌کننده دوز بالای استرادیول، تفاوتی معنادار

دوزهای متوسط و بالای خرفه، موجب افزایش آستانه درد شدند و این امر، بیانگر آن است که غلظت‌های مختلف خرفه می‌توانند اثرهایی متفاوت از هم بر درد داشته باشند و این امر می‌تواند ناشی از ترکیب‌های متنوع ضددردی (۱۴، ۱۵، ۲۹ و ۳۱) موجود در عصاره خرفه باشد که به طبع، براساس غلظت‌های مختلف می‌تواند اثرهایی متفاوت برجای بگذارد؛ همچنین مطالعات نشان می‌دهند که عصاره‌های دیگر نیز می‌توانند با توجه به ترکیب‌های ضددردی موجود در خود، آثاری بهبودی بخش برجای بگذارند (۳۵ و ۳۶).

بنابر یافته‌های این تحقیق، تزریق توأم عصاره دانه خرفه و هورمون استرادیول، آستانه درد را نسبت به خرفه و نیز نسبت به استرادیول به مقداری بیشتر افزایش می‌دهد؛ این امر به احتمال قوی، بیانگر اثر هم‌افزایی استرادیول و خرفه بر کاهش درد است؛ گرچه این امر به دوز وابستگی ندارد. همچنان که بیان شد، قدرت کاهش درد در گروه دریافت‌کننده دوزهای پایین استرادیول و خرفه نسبت به گروه دریافت‌کننده دوزهای بالای استرادیول و خرفه، تفاوتی معنادار نداشت؛ بدین ترتیب، اثرگذاری خرفه و استرادیول در محدوده‌ای از غلظت‌های خاص بوده، ارتباط خطی میان غلظت مصرفی و ضددردی وجود ندارد؛ اما در مجموع، می‌توان چنین پنداشت که با تیمار توأم خرفه و استرادیول، مجموعه غلظت ترکیب‌های مؤثر بر درد افزایش یافته، در نتیجه، آستانه تحمل درد، بیشتر افزایش می‌یابد.

این مطالعه، تنها در محدوده بررسی داده‌های حاصل از آزمون رایتینگ انجام شده و از نظر بررسی‌های سلولی و مولکولی محدودیت دارد؛ بر این اساس، پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آتی، اثرهای توأم خرفه و هورمون‌های جنسی از دیدگاه تغییرهای سلولی و مولکولی مرتبط با درد، مدنظر قرار گیرند.

طریق، اثرهای ضددردی خود را اعمال می‌کنند (۳۰)؛ بر این اساس، با توجه به وجود ترکیب‌های استروئیدی در عصاره خرفه (۳۱)، بخشی از اثر ضددردی خرفه را می‌توان به این ترکیب‌ها نسبت داد. نتایج پژوهش حاضر نشان دادند با افزایش دوز خرفه، سطح آستانه درد بیشتر می‌شود و این امر، بیانگر آن است که شدت اثر عصاره خرفه بر تنظیم و تعدیل درد با دوز مصرفی، مرتبط است.

از سوی دیگر، نتایج حاصل از این پژوهش، بیانگر آن هستند که تزریق دوز متوسط و بالای استرادیول، باعث افزایش آستانه درد و کاهش درد می‌شود. مطالعات نشان می‌دهند که استروئیدهای جنسی ماده، اثرهایی عمده بر فیزیولوژی درد دارند (۳۲)؛ در واقع، استرادیول می‌تواند پاسخ به درد را تنظیم و تعدیل کند (۲۸). مطالعات اخیر نشانگر آن‌اند که استرادیول در بسیاری از مسیرهای عملکردی عوامل فیزیولوژیک و سایکولوژیک بر سیستم درد، به‌عنوان یک میانجی عمل می‌کند (۳۳)؛ در واقع، هورمون‌های جنسی به‌ویژه استرادیول با [ایفای] نقش تنظیمی روی نورون‌های ترشح‌کننده انکفالین‌ها در ستون مهره‌ها و نورون‌های ترشح‌کننده کاتکول‌آمین‌ها در ساقه مغز و مغز میانی در فرایند درد شرکت می‌کند (۳۴). یافته‌های تحقیق حاضر نشان دادند که همانند خرفه با افزایش دوز استرادیول، سطح آستانه درد بیشتر و در نتیجه، اثر ضددردی این هورمون افزایش می‌یابد و این امر، بیانگر آن است که شدت اثر استرادیول بر تنظیم و تعدیل درد با دوز مصرفی هورمون ارتباط دارد؛ همچنین نتایج این تحقیق نشان دادند که اثر دوزهای متوسط و بالای خرفه و استرادیول بر آستانه درد، با هم مشابه‌اند؛ این امر به احتمال، توجیه‌کننده آن است که وجود ترکیب‌های استروئیدی در عصاره خرفه، موجب شده که این عصاره، اثری همانند استرادیول برجای بگذارد.

از سوی دیگر، همچنان که نتایج این پژوهش نشان دادند، دوز پایین عصاره خرفه، سبب افزایش تعداد انقباض‌های شکمی، یعنی، کاهش آستانه درد شده، حال آنکه

## نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش، بیانگر آن‌اند که عصاره خرفه و هورمون استرادیول در دوزهای مناسب می‌توانند باعث کاهش درد شوند؛ از طرفی، کاربرد توأم عصاره خرفه و استرادیول می‌تواند اثر هم‌افزایی داشته، سبب کاهش بیشتر درد شود.

## سپاس و قدردانی

این پژوهش با حمایت‌های معنوی و مادی حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان انجام یافته‌است که بدین‌وسیله تقدیر و تشکر به-عمل می‌آید.

## منابع

- David J, Allan IB, Molecular mechanisms of nociception. *Nature*; 2001. 413: 203-210
- Pereira RT, Porto CS, Abdalla FM. *Mol Cell Endocrinol*. 2014 Jan 25;382(1):227-33.
- Lin YM, Velmurugan BK, Yeh YL, Tu CC, Ho TJ, Lai TY, et al. Activation of estrogen receptors with E2 downregulates peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  in hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep*. 2013 Dec;30(6):3027-31.
- Yuan L, Dietrich AK, Nardulli AM. *Mol Cell Endocrinol*. 2014 Jan 25;382(1):218-26.
- Su HI<sup>1</sup>, Sue LY, Flatt SW, Natarajan L, Patterson RE, Pierce JP. Endogenous estradiol is not associated with poor physical health in postmenopausal breast cancer survivors. *J Womens Health (Larchmt)*. 2013 Dec;22(12):1043-8.
- Kaptein AA. Transjecting growth hormone: continuous nightmare or controlled nuisance? Evaluation of a new needle-free device. *Patient Prefer Adherence*. 2013 Jul 24; 7:703-8.
- Brown J, Pan A, Hart RJ. Gonadotrophin-releasing hormone analogues for pain associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Dec 8; (12):CD008475.
- Butakov SS, Ignatov IuD. The effect of calcium-regulating hormones on pain sensitivity in rats. *Eksp Klin Farmakol*. 1996 Mar-Apr; 59(2):9-11.
- 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 Jul; 153(7):1382-9.
- Slivko SF, Stets VR. Effect of sex hormones on pain sensitivity and on the dynamics of the analgesic effect of morphine. *Anesteziol Reanimatol*. 1978 Jan-Feb; (1):12-4.
- Choi JC, Chung MI, Lee YD. Modulation of pain sensation by stress-related testosterone and cortisol. *Anaesthesia*. 2012 Oct;67(10):1146-51.
- Aloisi AM, Bachiooco V, Costantino A, Stefani R, Ceccarelli I, Bertaccini A, Meriggola MC. Cross-sex hormone administration changes pain in transsexual women and men. *Pain*. 2007 Nov; 132 Suppl 1:S60-7.
- 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.
- 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.
- Wenzel G.E., Fontana J.D., Correa J.B.C. The viscous mucilage from the weed *Portulaca oleracea* L. *Appl. Biochem. Biotech*. 1990;24-25:341-353.
- Simopoulos A.P. Omega-3 fatty acids and antioxidants in edible wild plants. *Biol. Res*. 2004;37:263-277.
- 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.
- 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 Jun; 17(7):527-32.
- 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 Feb; 24 (2): 240-4.
- Palaniswamy U.R., McAvoey 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.
- Palaniswamy U.R., Bible B.B., McAvoey 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
- Bannon AW, Malmberg AB. Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. *Curr Protoc Neurosci*. 2007 Oct; Chapter 8: Unit 8.9.
- 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.
- Koster R, Anderson M, De Beer Ej De EJ. Acetic acid for analgesic screening. *Fed Pro* 1959; 18: 412.
- Institute for Laboratory Animal Research (ILAR). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. Washington, D.C: National Academy Press; 1996.
- Rhudy JL, Bartley EJ, Palit S, Kerr KL, Kuhn BL, Martin SL, et al. *Biol Psychol*. 2013 Oct 17;94(3):534-544. doi: 10.1016/j.biopsycho.2013.10.003.
- 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.

28. 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.
29. Nijveldt R.J., Nood E., Hoorn D., Flavonoids, A review of probable mechanisms of action and potential applications, *Am J Clin Nutr*, 2001, 74 , 418-425.
30. 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.
31. Calixto JB, Beirith A, Ferreira J, Santos AR, Cechinel Filho V, Yunes RA. Naturally occurring anti-nociceptive substances from plants, *Phytother Res*, 2000, 14,401- 418.
32. Tongia SK, Agrawal RP. Modification of thermal pain threshold by testosterone and ethinyloestradiol in male and female rats. *Indian J Physiol Pharmacol*. 1986 Jul-Sep; 30(3):259-60.
33. De Marinis E, Acaz-Fonseca E, Arevalo MA, Ascenzi P, Fiocchetti M, Marino M, Garcia-Segura LM. *J Neuroendocrinol*. 2013 Mar;25(3):260-70. doi: 10.1111/jne.12007.
34. Fester L, Labitzke J, Hinz R, Behem C, Horling K, Bernhard T, et al, Rune GM. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2013 Nov;138:455-61.
35. Khadem Maboudi AK, Zayeri F, Sourteji A, Kariman N, Baghestani AR, SedghiFard Z, Olade Dilmaghanian R. The Effect of Nettle Extract and Mefenamic Acid in Reducing the Symptoms of Menorrhagia Patients by Joint Modeling [Persian] . *Daneshvar Medicine*. 2014, February- March. 109: 1-6.
36. Rahmati B, Khormaizi AB , Khalili M, Roghani M , Ansari F . Effects of hydro-alcoholic extract of *Lavandula officinalis* aerial parts on acquisition and expression of morphine tolerance and dependence in male mice [Persian]. 2013, February- March. 104:27-38.

Archive of SID



Daneshvar  
Medicine

*Scientific-Research  
Journal of Shahed  
University  
22st Year, No.113  
October-November,  
2014*

Received: 20/09/2014

Last revised: 11/10/2014

Accepted: 22/10/2014

## The effect of estradiol and *Portulaca oleracea* seed hydroalcoholic extract on pain induced by writhing test in female mice

Rahim Ahmadi, Behruz Khakpour<sup>2</sup>, Mahsa Nayebhashemi<sup>3\*</sup>, Alvand Alvani<sup>1</sup>, Khaled Keshavarz<sup>1</sup>, Edris Mahdavi<sup>4</sup>

1. Department of Physiology, Faculty of Basic Sciences, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran.

2. Department of Physiology, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.

3. Department of Medical Biotechnology, Educational and Research Institute for Blood Transfusion Medicine, Iran Blood Transfusion Organization, Tehran, Iran.

4. Department of Gardening, Faculty of Agriculture, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

\*E.mail:mahsa\_nayebhashemi@yahoo.com

### Abstract

**Background and Objective:** Studies have shown that estradiol and *Portulaca oleracea* extract have analgesic effects. The main aim of this study was to investigate the effect of co-administration of estradiol and *Portulaca oleracea* seed hydroalcoholic extract on pain induced by writhing test in female mice.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 78 female balb c mice were randomly divided into control and test groups receiving low, moderate and high doses of *Portulaca oleracea* extract and estradiol and their combination. Following intraperitoneal administration of the hormone or extract, pain threshold was measured using writhing test and data were analyzed using ANOVA.

**Results:** Administration of low, moderate and high dose of estradiol resulted in increased number of writhing ( $p<0.01$ ,  $p<0.001$  and  $p<0.01$ , respectively). The number of writhing increased in the group receiving a low dose of *Portulaca oleracea* extract ( $p<0.01$ ), however, it decreased in groups receiving moderate and high doses of *Portulaca oleracea* extract ( $p<0.001$ ). Co-administration of low doses of estradiol and *Portulaca oleracea* extract and co-administration of high doses of estradiol and *Portulaca oleracea* extract resulted in lower number of writhing as compared to groups receiving low and high doses of estradiol ( $p<0.001$ ).

**Conclusion:** Our findings indicate that appropriate doses of *Portulaca oleracea* seed extract and estradiol have pain lowering effects. *Portulaca oleracea* seed extract and estradiol have also synergistic effect on reducing of pain.

**Key words:** Estradiol, *Portulaca oleracea*, Pain threshold, Writhing, Female mice