

● مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره نهم، شماره ۶، بهمن - اسفند ۱۳۸۶، صفحه ۷-۱۲

دریافت: ۸۵/۹/۱۳، ارسال جهت اصلاح: ۸۵/۱۰/۳، پذیرش: ۸۶/۱۱/۳

بررسی اثر ضد دردی مصرف طولانی مدت عصاره آبی خرما بر آستانه درد

حاد و مزمن در موشهای صحرائی نر بالغ

مجید اسدی شنکاري^{۱*}، وحید شیبانی^۲، حسینعلی ابراهیمی^۳، مهدی ریسمانچیان^۴، تاج پری کلانتری پور^۵، محمدرضا آفرینش خاکی^۶

۱- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۲- استادیار گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۳- استاد گروه علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۴- متخصص اعصاب ۵- عضو هیئت علمی گروه فیزیولوژی دانشگاه آزاد واحد کرمان

۶- کارشناس ارشد فیزیولوژی مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان

سابقه و هدف: درد از اولین علائم ناخوشی و بیماری در انسان است. به همین دلیل تلاش های گسترده ای جهت تشخیص درد و راه های تخفیف آن انجام شده است. هدف از این تحقیق بررسی اثر ضد دردی مصرف مزمن عصاره آبی خرما بر آستانه درد حاد و مزمن در موش های صحرائی نر می باشد.

مواد و روشها: مطالعه به صورت تجربی بر روی ۴۸ سر موش صحرائی نر نژاد NMRI با میانگین وزنی 25 ± 250 گرم انجام شد. حیوانات به دو گروه آزمایش و کنترل تقسیم بندی شدند. عصاره آبی ۱۰٪ خرما به مدت ۲۱ روز به آب خوراکی موشهای گروه آزمایش اضافه گردید به دو گروه کنترل آب مقطر داده شد. سپس دو گروه با سه روش Paw Pressure و Tail flick, formalin test و Paw Pressure مورد ارزیابی رفتاری قرار گرفتند.

یافته ها: عصاره ۱۰ درصد خرما در فاز مزمن تست فرمالین اثرات ضد دردی معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ($P < 0.05$). ولی در فاز حاد این تست و نیز در آزمون های Tail flick و Paw pressure رابطه معنی داری بین دو گروه کنترل و آزمایش مشاهده نشد.

بحث و نتیجه گیری: با توجه به فقدان پاسخ در فاز حاد تست فرمالین، تست Tail flick و Paw pressure نتیجه گیری می شود که عصاره خرما فاقد اثرات مرکزی در کاهش درد می باشد همچنین با توجه به مشاهده اثرات ضد دردی آن در فاز مزمن تست فرمالین بنظرمی رسد که اثر ضد دردی عصاره خرما عمدتاً محیطی و ضد التهابی باشد. **واژه های کلیدی:** میوه خرما، antinociception آزمون Tail flick، آزمون paw pressure موش صحرائی.

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره نهم، شماره ۶، بهمن - اسفند ۱۳۸۶، صفحه ۷-۱۲

مقدمه

درد از اولین علائم بروز ناخوشی و بیماری است و بین تمام تجارب حسی برجسته ترین حسی است که انسان از طریق آن به وجود بیماری در خود پی می برد. در حقیقت درد شایعترین علامت هر بیماری است (۱). تجربه و تحقیق در دهه های گذشته نشان داده است که داروهای جدید علیرغم اثر درمانی مناسب و انکار ناپذیر، دارای اثرات جانبی نیز می باشند (۲ و ۳) به همین دلیل امروزه مجدداً استفاده از گیاهان دارویی مورد توجه قرار گرفته است و تلاش بسیاری برای استفاده از آنها به عمل آمده است. درخت خرما

یا Date palm گیاهی است از خانواده Palmaceae که نام علمی

آن Phoenix Dactylifera می باشد (۴). در بررسی منابع اطلاعاتی مقالات متعددی در مورد اثرات گوناگون خرما همچون تقویت سیستم ایمنی، خاصیت ضدباکتری، آنتی اکسیداتیو و آنتی موتاژنیک مشخص گردیده است (۱ و ۵ و ۶). در طب سنتی از میوه خرما برای درمان خشونت سینه، فلج، درد کمر و درمان دردهای رماتیسمی و ...

ماهزین انجام این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۵/۸۳-ع مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان تامین شده است.

استفاده می شد (۴). مصرف طولانی مدت قندهایی نظیر سوکرز میتواند باعث افزایش اثر ضد دردی در پاسخ به محرک های آسیب

تست فرمالین: حیوانات به دو گروه ده تایی کنترل و آزمون تقسیم شدند. برای ایجاد درد میزان ۲۵ میکرو لیتر از محلول فرمالین ۵٪ در کف پای راست موش تزریق گردید. برای ارزیابی درد مجموع زمان هایی که حیوان صرف تکان دادن، لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریق شده بر حسب ثانیه در دو فاصله فاز حاد (۵-۰ دقیقه) و فاز مزمن (۳۰-۲۰ دقیقه) به عنوان پاسخ ضد دردی انجام می داد در نظر گرفته شد (۱۵).

تست Tail flick: در این بخش از آزمایش، حیوانات به دو گروه هفت تایی کنترل و آزمون تقسیم شدند. در این روش هر حیوان در دستگاه مولد حرارت (Panlab اسپانیا) طوری قرار می گرفت که دم حیوان به صورت کاملاً صاف در شیار مخصوص دم قرار بگیرد. یک منبع نورانی روی ۲-۱ سانتی متری انتهای دم حیوان قرار می گرفت تا زمانی که حیوان دم خود را از معرض منبع نورانی خارج نماید. برای جلوگیری از آسیب به دم حیوان بعد از ۲۰ ثانیه منبع نورانی بطور خودبخود قطع می گردید (۱۶). در این تست ما برای تعیین Baseline میانگین ۳ زمان تاخیر در برداشتن دم به فواصل زمانی ۲۰ ثانیه را محاسبه نمودیم و حیوانات دارای Baseline بیش از ۴ ثانیه حذف گردیدند.

تست Paw pressure: در این بخش نیز حیوانات به دو گروه هفت تایی کنترل و آزمون تقسیم شدند. با استفاده از یک پروب (Probe) ۱ میلی متر که به یک موتور مکانیکی کنترل شونده به وسیله کامپیوتر وصل است فشاری با Rise time مشخص به کف پای حیوان وارد می شد و زمانی که حیوان در اثر فشار جیغ می کشید عدد فشار وارد شده بر حسب گرم/ نیرو روی صفحه مانیتور خوانده می شد. در این روش ممکن است علیرغم افزایش فشار، موش جیغ نزند بنابراین یک Cut off point معادل ۷۵۰ گرم نیرو در نظر گرفته شد تا تست پایان پذیرد و فشار بیشتری اعمال نگردد (۱۴). جهت بررسی آماری تست های مذکور از روش T test برای مقایسه میانگین دو گروه آزمون و کنترل استفاده گردید.

یافته ها

نتایج تست فرمالین نشان داد که در فاز حاد (دقیقه ۵-۰) بین دو گروه کنترل و آزمون تفاوت معنی داری وجود ندارد اما در فاز مزمن (دقیقه ۳۰-۲۰) این اختلاف معنی دار بود ($p < 0.05$) (نمودار ۱). بر این اساس عصاره خرما اثرات ضد دردی خود را در این

رسان شود درحالیکه بعضی از محققین گزارش دادند که هگزوزهای نظیر گلوکز باعث افزایش درد در آزمونهای استاندارد سنجش درد می شود (۷-۹). از آنجائی که تاکنون پژوهشی دال بر انجام تحقیق در مورد اثر ضد دردی این میوه با مدل های جدید فارماکولوژیک انجام نگرفته است و با توجه به جایگاه جدید گیاهان دارویی در درمان بیماریها این تحقیق با هدف اثر ضددردی میوه خرما با استفاده از تستهای فرمالین، Tail flick و Paw pressure انجام گرفت.

مواد و روشها

پژوهش به صورت تجربی بر روی ۴۸ سر موش صحرانی نر بالغ از نژاد NMRI در محدوده وزنی 25 ± 25 گرم انجام شد. حیوانات در شرایط استاندارد (دمای 22 ± 1 درجه سانتی گراد و در ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) در حیوان خانه مرکز علوم اعصاب کرمان نگهداری و در تمام مدت به جز زمان آزمایش به راحتی به آب و غذا دسترسی داشتند. حیوانات به دو گروه آزمون و کنترل تقسیم بندی شدند. در گروه آزمایش، عصاره آبی ۱۰٪ خرما به مدت ۲۱ روز به آب خوراکی اضافه گردید. سپس دو گروه با سه روش Formalin test, Tail flick و Paw pressure مورد ارزیابی رفتاری قرار گرفتند.

جهت تهیه عصاره آبی خرما پس از تهیه خرمای مضافتی تازه از باغات شهرستان بهم، هسته خرما جدا شد و به ۲۵۰ گرم از گوشت خرمای آسیاب شده در هاون یک لیتر آب مقطر اضافه شد و پس از ۱۰ دقیقه هم زدن، بخش محلول روئی جدا و مجدداً ۲۵۰ گرم خرما به آن اضافه گشت، هم زدن به مدت ۱۰ دقیقه تکرار و برای بار سوم به محلول روئی جدا شده، ۲۵۰ گرم خرما اضافه شد و هم زدن تکرار گردید آنگاه محلول روئی جدا و در ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه و با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید و بعد از جمع آوری قسمت تغلیظ شده آن، بخش محلول به عنوان عصاره مورد نظر جدا گشته و در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد تا موقع مصرف نگهداری شد (۶).

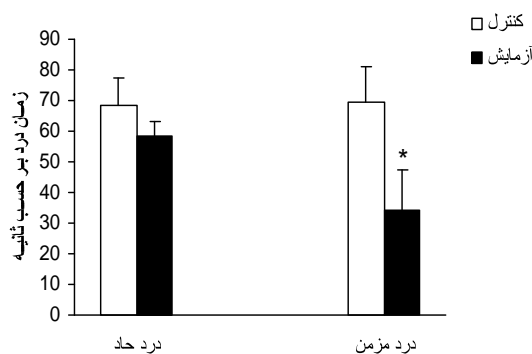
در این تحقیق از آزمون فرمالین با مبنای شیمیایی ایجاد درد (۱۰ و ۱۱) و آزمون Tail flick با مبنای ایجاد درد حرارتی (۱۲ و ۱۳) و تست Paw pressure با مبنای درد مکانیکی (۱۴) برای بررسی اثرات ضد دردی عصاره خرما استفاده گردید.

استفاده از گیاهان به عنوان دارو به دلیل داشتن عوارض جانبی کمتر، اثرات درمانی مناسب و هزینه تولید کمتر می تواند جایگزین خوبی برای داروهای شیمیایی باشد. تست فرمالین یک مدل معتبر برای دردهای بالینی است. این تست دارای دو مرحله است. فاز حاد پنج دقیقه اول را شامل می شود و نشاندهنده درد نوروژنیک است. در این فاز فرمالین از طریق تحریک شیمیایی مستقیم الیاف آوران میلین دار A دلتا باعث ایجاد درد می شود. فاز دوم این تست یا فاز تونیک ۲۰ تا ۳۰ دقیقه بعد از تزریق را شامل می شود و بیان کننده یک درد التهابی است و فیبرهای نوع C در انتقال آن دخیل هستند (۱۱).

داروهای اویپوئیدی مانند مورفین در تست فرمالین هر دو فاز حاد و مزمن را به طور کامل مهار می نمایند در حالیکه دسته ای دیگر از داروهای ضد درد مثل سالیسیلاتها و هیدروکورتیزون که مکانیسم ضد دردشان محیطی است تنها فاز مزمن تست فرمالین را مهار کرده و بر روی فاز حاد تاثیری ندارند (۱۶ و ۱۷). اثرات ضد دردی عصاره خرما در مطالعات انجام شده در فاز تونیک تست فرمالین در راستای مطالعه مذکور است (۱۱). هم چنین تست Tail Flick در واقع برای مشخص نمودن اثرات مرکزی داروی ضد درد به کار می رود. داروهایی با اثر مرکزی، نظیر مورفین در این تست پاسخ بسیار مناسبی ایجاد می کنند در حالیکه داروهایی با اثر محیطی، مثل NSAIDs و سالیسیلاتها به این تست پاسخ نمی دهند (۱۲).

در این مطالعه ما اختلاف معنی داری بین اثرات ضد دردی عصاره خرما و گروه کنترل مشاهده نکردیم هر چند در گروه آزمون زمان تاخیر ناشی از درد حرارتی افزایش یافته بود. در بررسی درد مکانیکی با روش Paw pressure نیز پاسخ معنی داری بین گروه کنترل و آزمون دیده نشد. با توجه به اینکه عصاره خرما تنها در فاز مزمن در تست فرمالین اثر ضد دردی مناسبی ایجاد نموده و در فاز حاد تست فرمالین، در تست Tail Flick و نیز تست Paw pressure موثر نمی باشد می توان نتیجه گرفت که این عصاره فاقد اثر ضد دردی مرکزی می باشد. از آنجائیکه فاز دوم تست فرمالین به عنوان فاز التهابی معرفی شده و با توجه به اینکه اثر ضد دردی عصاره خرما در این فاز مشاهده گشت اثر ضد التهابی این عصاره در کاهش درد محتمل تر است.

فاز نشان می دهد. در تست Tail Flick میانگین ۳ زمان برداشت تاخیری دم در سه پرپود ۲۰ ثانیه محاسبه گردید و اختلاف معنی داری بین گروه آزمون و گروه کنترل مشاهده نگردید (نمودار ۲). در تست Paw pressure ارتباط معنی داری بین اثرات ضد دردی خرما در دو گروه آزمون و کنترل مشاهده نگردید (نمودار ۳).

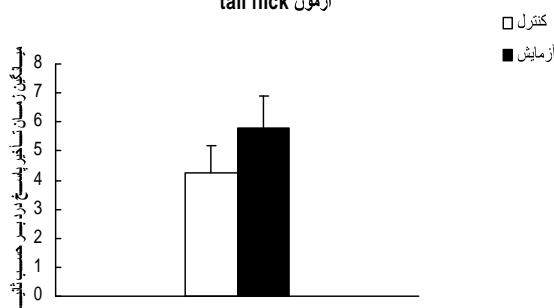


نمودار ۱. مقایسه اثرات ضد دردی عصاره خرما به دنبال تزریق

زیر جلدی فرمالین (الف) در فاز حاد (۵-۰ دقیقه اول) (ب) در

فاز مزمن (دقیقه ۳۰-۲۰). * $p < 0.05$

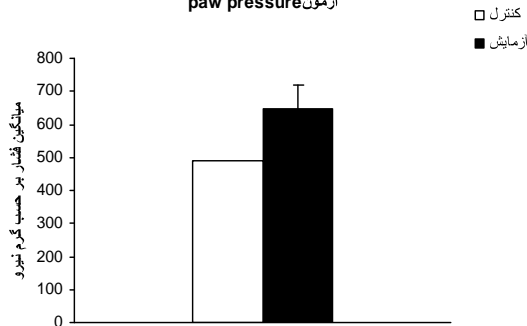
آزمون tail flick



نمودار ۲. مقایسه اثرات ضد دردی عصاره خرما در تست Tail

flick بین گروه کنترل و آزمون.

آزمون paw pressure



نمودار ۳. مقایسه اثرات ضد دردی عصاره خرما در تست

Paw pressure بین دو گروه کنترل و آزمون.

بحث و نتیجه گیری

سوکراز در موش های ماده بر افزایش تأخیر پاسخ در آزمون Tail Flick موثر است (۲۰). اما Ancic و همکارانش این اثر را در موش های نر مشاهده نکردند (۲۱).

همچنین Kanarek و همکاران عنوان کردند که تأخیر پاسخ در آزمون Tail Flick در هیچکدام از دو جنس مشاهده نمی شود (۲۲). از طرفی گزارشات متعددی نشان داده اند که هیپوگلیسمی باعث کاهش تأخیر پاسخ در آزمون Tail Flick می شود. Calcagnetti و همکاران نشان داده اند که محلول های شیرین مزه محتوی ساکارین و گلوکز اثر ضد دردی مورفین را کاهش می دهند (۸). همچنین هیپوگلیسمی ایجاد شده از طریق تزریق استرپتوزوتوسین می تواند سبب هیپرآلژژی ناشی از تحریکات مکانیکی گردد. در این حیوانات آستانه درد مکانیکی کاهش می یابد (۲۳). البته در مطالعه حاضر که از روش Paw pressure برای بررسی درد مکانیکی استفاده گردید آستانه رفلکس عقب کشیدن ناشی از درد مکانیکی افزایش نشان داد هر چند اختلاف معنی داری بین گروه کنترل و آزمون مشاهده نگردید.

بطور کلی از آنجائی که عصاره آبی خرما در فاز حاد تست فرمالین و تستهای Tail Flick و Paw pressure بین گروه کنترل و آزمون اختلاف معنی داری ایجاد نکرد و باتوجه به اینکه عصاره مذکور فقط در فاز مزمن تست فرمالین اثرات ضد دردی با گروه کنترل نشان داد بنظر می رسد که احتمالاً تجویز خوراکی عصاره آبی خرما می تواند از طریق مکانیسم های محیطی باعث بی دردی گردد. آثار مفید داروهای گیاهی در درمان بیماریها در طول قرون متمادی به اثبات رسیده است. امروزه با مطالعه و تحقیقات فراوان که روی اثرات درمانی گیاهان انجام گردیده است زمینه کاربرد مجدد آنها را در درمان بیماریها فراهم کرده است. با توجه به فواید گیاه درمانی، شناخت ماده موثر موجود در گیاهان و میوه جات (از جمله خرما) و جدا نمودن ماده موثر آنها می تواند در شناخت مکانیسم اثر آنها مفید باشد و به صورت یک داروی مناسب به بازار عرضه شوند.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از همکاری خانم مینو محمودی و جمیله مهدوی نیا تشکر و قدردانی می گردد.

به طور کلی اثر ضد التهابی داروها ممکن است از طریق آزاد کردن کورتیزول از قشر آدرنال و مهار ساخت پروستاگلاندین، تثبیت آنزیمهای لیپوزومی، مهار آزاد شدن هیستامین، مهار آزاد شدن سیتوکینین ها و ... باشد (۱۸). اما این مسئله که اجزاء فعال عصاره خرما از چه طریقی التهاب را کاهش می دهند مشخص نگردیده است. لذا بررسی بیشتری بر روی مواد و ترکیبات تشکیل دهنده خرما جهت تعیین هر چه بیشتر ماده یا مواد موثر آن ضروری است. از نظر ترکیبات شیمیایی ۷۰-۶۵٪ خرما رسیده را مواد قندی تشکیل می دهد. ۲۵٪ مواد قندی خرما ساکاروز، ۴۵٪ گلوکز و سایر هیدرات های کربن است. به علاوه این میوه دارای انواع ویتامینهای E, D, B, A می باشد. در هر یک صدگرم قسمت قابل خوردن خرمای خام خشک، آب ۲۲ گرم، پروتئین ۲/۲ گرم، چربی ۰/۵ گرم، هیدرات های کربن ۷۲ گرم، خاکستر ۱/۲ گرم، کلسیم ۵۹ میلی گرم، فسفر ۶۳ میلی گرم و مواد معدنی مثل کلسیم، فسفر، آهن، سدیم، پتاسیم و ویتامینهای مثل A, ریوفلاوین و ... وجود دارد (۴). مطالعات نشان داد که در موشهای ۳۰ روزه ای که به مدت ۳ هفته تا دوره بلوغ با رژیم مکمل حاوی سوکراز ۲۰٪ تغذیه شده بودند آستانه درد تونیک و فازیک در تست فرمالین کاهش یافت (۱۹). با توجه به اینکه از نظر ترکیب شیمیایی، خرمای رسیده دارای مقدار قابل ملاحظه ای مواد قندی (۷۰-۶۵٪) می باشد ممکن است قسمتی از اثرات ضد دردی عصاره مذکور از طریق افزایش سطح هیدرات های کربن خون باشد (۴). از طرف دیگر بررسی ها نیز نشان داده اند که محرک های آسیب رسان در تست فرمالین باعث افزایش ترشح β -اندورفین ها در هیپوتالاموس می شوند. در هنگام تزریق فرمالین و درد ناشی از آن سطح β -اندورفین های مایع خارج سلولی هسته های آرکئات به طور مشخصی افزایش می یابد. بیست دقیقه پس از تجویز مواد شیرین مزه، افزایش مشخصی در ترشح β -اندورفین ها در هیپوتالاموس مشاهده می شود. بنابراین ممکن است اثر ضد دردی عصاره آبی خرما در فاز دوم تست فرمالین ناشی از افزایش ترشح β -اندورفینها باشد (۲۰).

در این بررسی ما هیچگونه اثر ضد دردی متعاقب تجویز عصاره خرما بر آزمون Tail Flick مشاهده نکردیم. در مورد اثر قند سوکراز بر تأخیر پاسخ در آزمون Tail Flick گزارشات متناقض وجود دارد. Frye و همکاران گزارش کردند که رژیم ۳ هفته ای

References

1. Adams RD, Victor M, Ropper AH. Adams and Victor's principle of neurology, 7th ed, Dubuque, Mc Graw Hill 2000; pp: 135-44.
۲. صمصام شریعت ه، افشاری پور س. درمان با گیاه، تهران، انتشارات مشعل ۱۳۷۰؛ ص: ۱۳۵.
3. Chevalier A. The encyclopedia of medicinal plants, 1st ed, New York, DK ADULT Co 1996; p: 171.
۴. میر حیدر ح. معارف گیاهی، کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماری ها، جلد دوم، چاپ دوم، انتشارات نشر و فرهنگ اسلامی ۱۳۷۵؛ ص: ۱۱۸-۲۱.
5. Hammad M, Sallal AK. Effect of date extract on growth and hemolytic of streptococcus pyogen. New Microbial 2002; 25(4): 495-7.
6. Vayalil PK. Antioxidant and antimutagenic properties of aqueous extract of date fruit (Phoenix dactylifera L. arecaceae). J Agric Food Chem 2002; 50(3): 610-7.
7. Kanarek RB, Mandillo S, Wiatr C. Chronic sucrose intake augments antinociception induced by injection of mu but not kappa opioid receptor agonists into the periaqueductal gray matter in male and female rat. Brain Res 2001; 920(1-2): 97-105.
8. Calcagnetti DJ, Holtzman SG. Intake of sweet water attenuates restraint-stress- induced potentiation of morphine analgesia in rats. Brain Res Bull 1992; 29(6): 859-64.
9. Tandon M, Srivastava RK, Nagpal RK, Khosla P, Singh J. Differential modulation of nociceptive responses to mu and kappa opioid receptor directed drugs by blood glucose in experimentally induced diabetes rats. Indian J Exp Biol 2000; 38(3): 242-8.
10. Abbadie C, Taylor BK, Peterson MA, Basbaum AI. Differential contribution of the two phases of the formalin test to the pattern of c-fos expression in the rat spinal cord studies with remifentanyl and lidocaine. Pain 1997; 69(1-2): 101-10.
11. Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non inflammatory pain. Pain 1987; 30(1): 103-14.
12. D'Amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. J Pharmacol Exp Ther 1941; 72: 74-9.
13. Vogel HG, Vogel WH. Drug discovery and evaluation, Berlin, Springer 1997; pp: 368, 370, 376, 382.
14. Hakki Onen S, Alloui A, Jourdan D, Eschalier A, Dubray C. Effect of rapid eye movement sleep deprivation on pain sensitivity in the rat. Brain Res 2001; 900(2): 261-7.
15. Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brain stem stimulation in rats and cats. Pain 1997; 4(2): 161-74.
16. Chen YF, Tasi HY, Wu TS. Anti inflammatory and analgesic activities from roots of Angelica pubescens. Planta Med 1995; 61(1): 2-8.
17. Elisabetsky E, Amador TA, Albuquerque RR, Nunes DS, Carvalho Ado C. Analgesic activity of Psychotria colorata (Willd. ex R & S.) Muell. Arg. alkaloids. J Ethnopharmacol 1995; 48(2): 77-83.

۱۸. بیگدلی م ر، برزنجه ا، انصاری ش، عزیز آقایی ع ر، قدیمی ه، حاجی فتحعلیان ک. فیزیولوژی پزشکی گایتون، جلد دوم، انتشارات تیمورزاده ۱۳۸۴؛ ص: ۶۶۴.
19. Mukherjee K, Mathur R, Nayar U. Hyperalgesic response in rats fed sucrose from weaning to adulthood: role of VMH. *Pharmacol Biochem Behav* 2002; 73(3): 601-10.
20. Frye CA, Cuevas CA, Kanarek RB. Diet and estrous cycle influence pain sensitivity in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1993; 45(1): 225-60.
21. D' Ancis KE. Tolerance to morphine-induced antinociception is decreased by chronic sucrose or polyucose intake. *Pharmacol Biochem Behav* 1999; 63(1): 1-11.
22. Kanarek RB, Homoleski BA, Wiater C. Intake of a palatable sucrose solution modifies the actions of spiradoline, a kappa opioid receptor agonist, on analgesia and feeding behavior in male and female rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2000; 65(1): 97-104.
23. Romanovsky D, Hastings SL, Stimers JR, Dobretsov M. Relevance of hyperglycemia to early mechanical hyperalgesia in streptozotocin-induced diabetes. *J Peripher Nerv Syst* 2004; 9(2): 62-9.