دانشور
پزشکی

ارزیابی اثر ضددردی تجویز تیموکینون در موش صحرایی دیابتی و تعیین نقش پراکسیداسیون لیپیدی سرم

نویسندگان: اورانوس پوردهنده[1]، سیما نصری[1]، مهرداد روغنی[2*]، پروین صالحی[1]، توراندخت بلوچ نژاد مجرد[3]

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران

۲. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

۳. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

* نویسنده مسئول: دکتر مهرداد روغنی **E-mail: mehjour@yahoo.com**

چکیده

مقدمه و هدف: هیپرآلژزی یکی از علائم دیابت قندی محسوب می‌شود که کیفیت زندگی افراد مبتلا را تحت تأثیر قرارمی‌دهد. تیموکینون مشتق از سیاهدانه دارای آثار ضددیابتی و ضدالتهابی است. در این بررسی اثر ضددردی آن در موش‌های صحرایی دیابتی‌شده توسط استرپتوزوتوسین مورد ارزیابی قرارگرفت.

مواد و روش‌ها: موش‌ها به گروه‌های کنترل، کنترل تحت تیمار با دوز بالای تیموکینون، دیابتی، کنترل و دیابتی دریافت‌کننده سدیم سالیسیلات، دیابتی و دیابتی‌های تیمارشده با دوز پایین یا بالای تیموکینون تقسیم شدند. تیموکینون در دو دوز ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم (داخل صفاقی) بعد از یک هفته از القای دیابت توسط استرپتوزوتوسین به مدت ۵ هفته تجویز شد.

یافته‌ها: تیموکینون موجب کاهش معنی‌دار نمرات درد موش‌های دیابتی در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین شد ($p<0/05$) و تزریق سدیم سالیسیلات نمره درد را در مرحله مزمن به‌طور معنی‌دار کاهش‌داد ($p<0/01$). به‌علاوه، تجویز تیموکینون به موش‌های دیابتی یک کاهش معنی‌دار در مدت زمان تأخیر در بیرون کشیدن دم در مقایسه با گروه کنترل ایجادنکرد؛ همچنین، تیموکینون میزان مالون دی‌آلدئید را در سرم موش‌های دیابتی به‌طور معنی‌دار کاهش‌داد ($p<0/05$)

نتیجه‌گیری: تجویز تیموکینون موجب کاهش معنی‌دار شدت درد در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین در مدل تجربی دیابت قندی می‌شود و بر آستانه درد حرارتی تأثیرندارد و بخشی از این اثر از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در نواحی محیطی بدن به‌انجام‌می‌رسد.

واژگان کلیدی: تیموکینون، دیابت قندی، اثر ضددردی، آزمون فرمالین، آزمون غوطه‌ورکردن دم در آب داغ، مالون دی‌آلدئید

دریافت: ۹۱/۱/۱۵
آخرین اصلاح‌ها: ۹۱/۴/۲
پذیرش: ۹۱/۴/۲۱

مقدمه

دیابت قندی، یک بیماری شایع غدد درون‌ریز بدن محسوب می‌شود که با عوارض نامطلوب مرتبط با سیستم عصبی بدن همراه است (۱ و۲). درد ناشی از نوروپاتی اعصاب محیطی، یکی از شکایات مهم بالینی افراد مبتلا به دیابت قندی در چند سال اول پس از ابتلا محسوب می‌شود (۳ و۴). بروز هیپرگلیسمی با اعمال اثرهای سمی روی سیستم عصبی محیطی، یکی از علل بروز نوروپاتی دردناک است (۵ و۶). با توجه به اینکه تاکنون، ترکیب دارویی مناسب (نظیر سالیسیلات‌ها و ترکیب‌های ضدالتهابی غیراستروئیدی) عاری از عوارض جانبی برای درمان برخی حالات درد حاد و مزمن به‌ویژه در حالت دیابت قندی یافت‌نمی‌شود، توجه محققان به ترکیب‌های طبیعی مشتق از گیاهان دارویی معطوف شده‌است (۷)؛ در این خصوص، تیموکینون ترکیبی فیتوشیمیایی است که در گیاه سیاهدانه یافت‌می‌شود و مهم‌ترین ماده مؤثر در آن محسوب می‌شود (۸) و آثار آنتی‌اکسیدانتی آن باعث حفاظت بافت‌های بدن در مقابل آسیب‌های شیمیایی است (۹)؛ این ماده دارای آثار آنتی‌اکسیدانتی (۱۰)، ضدالتهابی (۱۱) و ضدسرطان (۹) بوده، اثر ضددیابتی آن (کاهش گلوکز خون) پیش‌تر مورد تأیید قرارگرفته‌است (۱۲ و۱۳)؛ در این خصوص، تجویز تیموکینون حتی می‌تواند موجب بهبود عملکرد سلول‌های بتای مترشحه انسولین و بازسازی جزائر لانگرهانس بشود (۱۲). نتایج مطالعات انجام‌شده نشان‌می‌دهند که تیموکینون، پراکسیداسیون لیپیدی غیرآنزیمی را مهارمی‌کند و دارای خاصیت حذف‌کنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن است (۱۴)؛ همچنین نشان‌داده‌شده که تیموکنیون موجب کاهش آسیب اکسیداتیو در هیپوکامپ موش‌های صحرایی می‌شود (۱۵)؛ به‌علاوه، این ماده سبب جلوگیری از بیان آنزیم‌های متابولیسم اسید آراشیدونیک در مسیر سنتز پروستاگلاندین‌ها می‌شود که از این طریق می‌تواند از تولید واسطه‌های التهابی جلوگیری‌کرده و بدین ترتیب، اثر ضدالتهابی خود را ایجادکند (۱۶). هرچند آثار ضددردی روغن سیاهدانه در مدل تست رنجش (Writhing test) با استفاده از تزریق داخل صفاقی اسید استیک و آزمون فرمالین در موش‌های نرمال (۱۷) و اثر ضددردی مصرف خوراکی سیاهدانه در مدل تجربی دیابت قندی (۱۸) پیش‌تر گزارش‌شده‌است، تاکنون هیچ‌گونه گزارشی دربارهٔ اثر ضددردی تیموکینون مشتق از آن در حالت دیابت یافت‌نشده، لذا در این تحقیق برای اولین‌بار، اثر ضد-دردی تجویز درازمدت این ماده در مدل تجربی دیابت قندی القاشده توسط داروی استرپتوزوتوسین در موش-های صحرایی نر به کمک دو آزمون فرمالین و غوطه‌ور-کردن دم در آب داغ مورد بررسی قرارگرفت و نقش پراکسیداسیون لیپیدی در سرم با اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید در این رابطه تعیین شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از ۵۶ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی ۲۱۰ تا ۲۸۰ گرم استفاده‌شد. حیوان‌ها در دمای ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های سه یا چهارتایی در هر قفس قرارداده‌شدند. حیوان‌ها آزادانه به آب لوله-کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) دسترسی‌داشتند در این بررسی از آن دسته موش‌های صحرایی نر استفاده‌شد که میزان گلوکز سرم آنها کمتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود؛ در این خصوص از شبکه رترواوربیتال و لوله موئینه برای خون-گیری استفاده‌شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به هفت گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با تیموکینون به میزان ۵ میلی-گرم بر کیلوگرم، دیابتی، دو گروه دیابتی تحت تیمار با تیموکینون در دوزهای ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و دو گروه کنترل و دیابتی دریافت‌کننده سدیم سالیسیلات تقسیم شدند. برای دیابتی‌کردن موش‌ها از داروی استرپتوزوتوسین به‌صورت تک‌دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل‌شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده‌شد. سدیم سالیسیلات ۱ (یک) ساعت پیش از انجام آزمون فرمالین به میزان ۲۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی به حیوانات

تزریق شد؛ یک هفته پس از تزریق، برای اطمینان از دیابتی‌بودن حیوانات، قند ادرار با نوار ادراری (شرکت گلوکو یاب، تهران) کنترل‌شد و فقط حیوانات دیابتی-شده به مرحله بعدی برای شروع تیمار راه‌یافتند. میزان وزن حیوانات و گلوکز سرم (روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست شیمی، تهران)) پیش از انجام کار و طی هفته‌های سوم و ششم پس از آزمایش، اندازه‌گیری‌شد.

آزمون فرمالین

این آزمون در پایان هفته ششم به‌انجام‌رسید. از نظر زمانی، آزمون فرمالین دربارهٔ تمام موش‌ها در میان ساعات ۱۲ تا ۱۷ و دو تا سه روز پس از انجام آزمون غوطه‌ورکردن دم در آب داغ انجام‌پذیرفت؛ برای انجام آن نیز از روش متداول دابیسون و دنیس استفاده‌شد (۱۹)؛ بدین ترتیب که حیوان در محفظه‌ای از جنس پلکسی گلاس (۴۰ × ۴۰ × ۴۰ سانتی‌متر) تحت شرایط آرام قرارگرفته، پس از گذشت ۱۰ دقیقه، ۵۰ میکرولیتر از محلول فرمالین ۲/۵ درصد به‌صورت زیر جلدی به کف پای حیوان تزریق و شدت درد حیوان براساس تقسیم‌بندی زیر به چهار درجه تفکیک شد: ۰ – حیوان بدون توجه به پای تزریق‌شده می‌نشیند یا راه می‌رود؛ ۱– پای حیوان با محفظه تماس داشته ولی حیوان وزن بدن خود را بیشتر روی پای سالم خود می‌اندازد؛ ۲ – حیوان پنجه دردناک را به‌طور کامل از سطح محفظه بلندمی‌کند؛ ۳ – حیوان پنجه تزریق‌شده را از شدت درد می‌لیسد، گاز می‌گیرد یا به‌شدت تکان‌می‌دهد. ثبت پاسخ‌های رفتاری در اینتروال‌های ۱۵ ثانیه‌ای بلافاصله پس از تزریق فرمالین آغاز و تا دقیقه ۶۰ ادامه‌یافت. در این خصوص، پاسخ در هر اینتروال ثبت و به‌عنوان شاخصی از میزان درد در آزمون فرمالین درنظرگرفته‌شد. با استفاده از این روش، اعداد ۰ تا ۳ برای امتیاز درد در زمان‌های مختلف در هر اینتروال به‌دست‌آمد. میانگین درد در ۱۰ دقیقه اول بعد از تزریق فرمالین به‌عنوان مرحله اول یا حاد و در دقایق ۱۶ تا ۶۰ به‌عنوان مرحله دوم یا مزمن درنظرگرفته‌شد.

آزمون غوطه‌وکردن دم در آب داغ

کورتیکس و همکاران (۲۰) این آزمون را به روش توصیف‌شده انجام‌دادند؛ برای انجام این کار حیوان به مدت ۱۵ دقیقه در داخل محفظه محدودکننده موش، تحت شرایط استاندارد آزمایشگاه قرارگرفته، سپس دم حیوان در داخل آب داغ در دمای ۴۹ درجه سانتی‌گراد قرارداده‌شد و میزان تأخیر در بیرون‌کشیدن دم از آب با استفاده ار زمان‌سنج اندازه‌گیری‌شد. هر آزمایش روی هر حیوان چهار مرتبه با فاصله زمانی ۵ دقیقه تکرار و در-نهایت، میانگین داده دربارهٔ هر موش ثبت‌شد. زمان قطع آزمایش در صورت بیرون‌نکشیدن دم نیز ۳۰ ثانیه در-نظرگرفته‌شد.

سنجش مالون دی‌آلدئید سرم

در پایان کار، یک نمونه خون از شبکه رترواربیتال تحت بیهوشی ملایم گرفته، پس از جداسازی سرم، اندازه‌گیری شاخص پراکسیداسیون لیپیدی (مالون دی-آلدئید) دربارهٔ آن انجام‌شد. اندازه‌گیری سطح مالون دی-آلدئید (MDA) طبق روشی است که اساس آن، واکنش تیوباربیتوریک اسید TBA است که در دمای جوش انجام‌می‌گیرد؛ در این آزمایش، مالون دی‌آلدئید یا مواد شبه‌مالون دی‌آلدئید با تیوباربیتوریک اسید واکنش‌داده، رنگ صورتی ایجادمی‌کند که ماکزیمم جذب نوری آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر است؛ این واکنش در PH= 2-3 و در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۵ دقیقه انجام‌شد. بعد از سردکردن نمونه، محلول‌ها در دور ۳۰۰۰ دور به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده، جذب نوری آنها در طول موج ۵۳۲ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده‌شد؛ منحنی استاندارد نیز براساس رقت‌های مختلف تترا اتوکسی پروپان تهیه‌شد و جذب-های نوری به‌دست‌آمده از نمونه‌ها روی منحنی استاندارد تطبیق‌داده‌شد و نتایج به‌صورت میزان مالون دی‌آلدئید به‌ازاء حجم سرم گزارش‌شد.

آنالیز آماری

تمام داده‌ها در بررسی حاضر به‌صورت Mean ± S.E.M. بیان شده‌اند. برای آنالیز آماری دربارهٔ نتایج وزن

و گلوکز از آزمون آنووا با اندازه‌گیری مکرر استفاده‌شد؛ در خصوص نتایج درد و پراکسیداسیون لیپیدی نیز آزمون آنووای یک‌طرفه و آزمون توکی به‌کاررفت؛ به‌علاوه، p<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌دار درنظرگرفته‌شد.

یافته‌ها

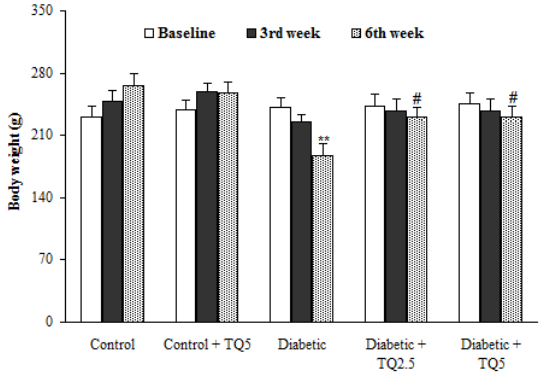
از نظر وزن، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار میان گروه‌ها در هفته قبل از کار (سطح پایه) مشاهده‌نشد. گروه کنترل تحت تیمار با دوز بالای تیموکینون به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشابه با گروه کنترل یک افزایش طبیعی وزن را در پایان هفته ششم نشان‌داد؛ هرچند این افزایش کمتر بود. در گروه دیابتی نیز در هفته ششم، کاهشی معنی‌دار در مقایسه با هفته قبل از بررسی (p<۰/۰۱) مشاهده‌شد؛ از‌طرف‌دیگر، تفاوت موجود میان دو گروه دیابتی و دیابتی تحت درمان با دوز پایین و دوز بالای تیموکینون در پایان هفته ششم نیز در حد معنی‌دار بود (p<۰/۰۵) و میزان وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با تیموکینون کاهشی کمتر را نشان‌داد (نمودار ۱).

درخصوص میزان گلوکز سرم، در هفته پیش از بررسی، تفاوتی معنی‌دار، میان گروه‌ها یافت‌نشد، در هفته‌های سوم و ششم، میزان گلوکز سرم در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با تیموکینون در حد معنی‌دار (p<۰/۰۰۰۵ تا p<۰/۰۵) بیشتر از گروه کنترل بود؛ هرچندکه در گروه دیابتی تحت درمان با دوز پایین و بالای تیموکینون میزان گلوکز سرم به‌طور معنی‌دار در پایان هفته‌های سوم و ششم از گروه دیابتی درمان‌نشده کمتر بود (p<۰/۰۱ تا p<۰/۰۰۵)؛ به‌علاوه، گروه کنترل تحت تیمار با دوز بالای تیموکینون کاهش معنی‌دار این پارامتر را در مقایسه با گروه کنترل نشان‌داد (p<۰/۰۵) (نمودار ۲).

در آزمون فرمالین (نمودار ۳)، تزریق کف‌پایی فرمالین یک پاسخ بارز دوفازی را در تمام گروه‌ها ایجادکند. هیپرآلژزی ظاهرشده به دنبال تزریق کف‌پایی فرمالین در موش‌های دیابتی درمان‌نشده، فقط در مرحله حاد به‌طور معنی‌دار بیشتر از گروه کنترل بود (p<۰/۰۵)؛ به‌علاوه تجویز سدیم سالیسیلات به موش‌های گروه دیابتی موجب کاهش معنی‌دار نمره درد فقط در مرحله دوم آزمون فرمالین در مقایسه با گروه‌های دیابتی تیمار‌نشده شد (p<۰/۰۱)؛ ازطرف‌دیگر، درمان با تیموکینون به‌مدت پنج هفته به‌طور وابسته به دوز، کاهش معنی‌دار در نمرات درد در مقایسه با گروه دیابتی در هر دو مرحله حاد و مزمن آزمون را سبب‌شد (p<۰/۰۵)؛ همچنین، تجویز تیموکینون به موش‌های نرمال، موجب کاهش معنی‌دار شدت درد در مرحله مزمن این آزمون شد (p<۰/۰۵).

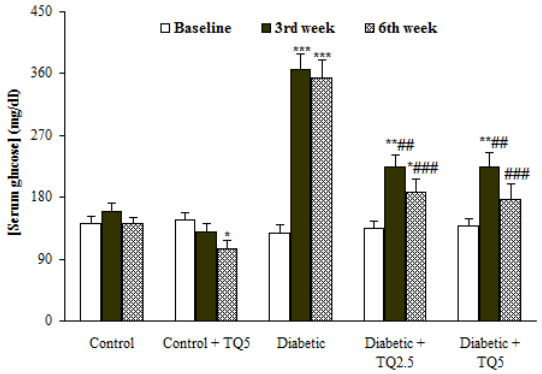
دربارهٔ آزمون غوطه‌کردن دم در آب داغ که برای سنجش آستانه درد حرارتی کاربرددارد (نمودار ۴) در گروه دیابتی، کاهشی معنی‌دار در مدت زمان تأخیر در بیرون‌کشیدن دم در مقایسه با گروه کنترل مشاهده‌شد (p<۰/۰۵) که خود از بروز هیپرآلژزی حرارتی در موش‌های دیابتی شش هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین حاکی است؛ به‌علاوه اگرچه درمان موش‌های دیابتی با سیاهدانه به مدت پنج هفته موجب افزایش مختصر این زمان تأخیر در مقایسه با گروه دیابتی درمان‌نشده شد، تفاوت موجود میان این دو گروه از نظر آماری معنی‌دار نبود؛ همچنین، درمان موش‌های گروه کنترل با تیموکینون نیز تفاوتی معنی‌دار را از این نظر در مقایسه با گروه کنترل ایجادکرد.

با اندازه‌گیری سطح مالون دی‌آلدئید سرم در گروه‌های مختلف در پایان هفته ششم که شاخصی از استرس اکسیداتیو و یک شاخص معتبر پراکسیداسیون لیپیدی در نواحی محیطی بدن محسوب می‌شود، مشخص شد که این پارامتر در گروه کنترل تحت تیمار با تیموکینون در دوز بالا کاهشی مختصر و غیرمعنادار را نسبت‌به گروه کنترل نشان‌می‌دهد. در گروه دیابتی در هفته ششم سطح مالون دی‌آلدئید، افزایشی قابل ملاحظه و معنی‌دار را نسبت‌به گروه کنترل نشان‌داد (p<۰/۰۵) و در گروه دیابتی تحت تیمار با تیموکینون در دوز بالا میزان افزایش مالون دی‌آلدئید نسبت‌به گروه دیابتی کمتر بود به‌طوری‌که در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای این ماده، سطح مالون دی‌آلدئید در هفته ششم به‌طور معناداری از گروه دیابتی تیمارنشده، کمتر بود (p<۰/۰۵) (نمودار ۵).



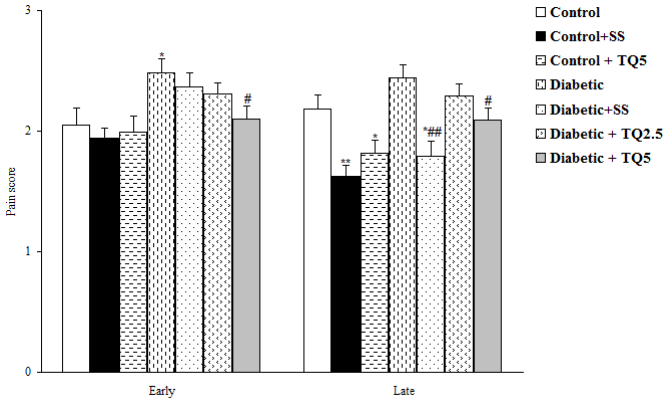
نمودار ۱. تغییرهای وزن بدن در زمان‌های مختلف در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمارشده با تیموکینون در دو دوز ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم

**** p<۰/۰۱ (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)، # p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)**



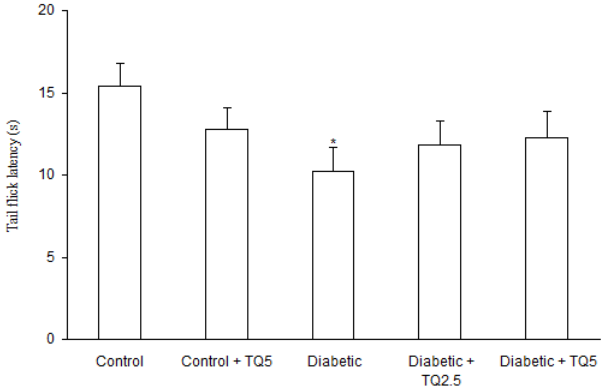
نمودار ۲. تغییرهای گلوکز سرم در زمان‌های مختلف در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار با تیموکینون در دو دوز ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم

*** p<۰/۰۵، ** p<۰/۰۱، *** p<۰/۰۰۰۵ (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)، ## p<۰/۰۱، ### p<۰/۰۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)**



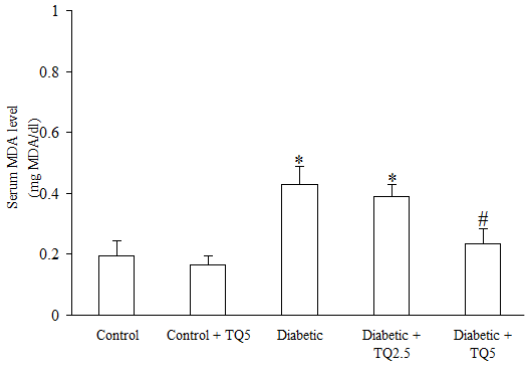
نمودار ۳. شدت درد در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار با تیموکینون در دو دوز ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و یا دریافت‌کننده سدیم سالیسیلات

*** p<۰/۰۵، ** p<۰/۰۱ (در مقایسه با گروه کنترل در همان مرحله)، # p<۰/۰۵، ## p<۰/۰۱ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان مرحله)**



نمودار ٤. مدت زمان تأخیر در بیرون‌کشیدن دم از آب داغ در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار با تیموکینون در دو دوز ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم

*** p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه کنترل)**



نمودار ۵. میزان مالون دی‌آلدئید سرم در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار با تیموکینون در دو دوز ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم

*** p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه کنترل)، # p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی)**

بحث

نتایج بررسی حاضر نشان‌داد که تیموکینون، کاهش معنی‌دار نمرات درد موش‌های دیابتی در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین را موجب می‌شود، تزریق سدیم سالیسیلات نمره درد را در مرحله مزمن به‌طور معنی‌دار کاهش‌می‌دهد، تجویز تیموکینون به موش‌های دیابتی، کاهشی معنی‌دار را طی مدت زمان تأخیر در بیرون-کشیدن دم در مقایسه با گروه کنترل ایجادنمی‌کند و بخشی از آثار سودمند تیموکینون از طریق کاهش گلوکز خون و پراکسیداسیون لیپیدی در نواحی محیطی بدن به-انجام می‌رسد.

نتایج تحقیق‌های پیشین نشان‌داده‌است که موش‌های صحرایی دیابتی‌شده توسط استرپتوزوتوسین به‌طور غیر-منتظره، رفتاری تشدید شده مربوط به درد را در آزمون فرمالین به دنبال تجویز محرک‌های شیمیایی به داخل پنجه پا پس از گذشت دست‌کم سه تا چهار هفته نشان-می‌دهند که خود بر وجود مکانیسم‌های غیرنرمال و متعدد در پردازش سیگنال‌های محیطی درد دلالت‌دارد (۲۰ و۲۱). پیش‌تر، وجود هیپرآلژزی مکانیکی به‌عنوان اولین نشانگان نوروپاتی دیابتیک به‌اثبات‌رسیده‌است که دلیل آن تا حدودی به اثار توکسیک مقادیر بالای گلوکز بر سیستم عصبی محیطی و فعال‌شدن مسیرهای بیوشیمیایی آلدوزر دوکتاز و الکل‌های با چند گروه هیدروکسیل نسبت‌داده‌شده‌است (۲۰)، به‌علاوه، وجود حالت دیابت پردازش سیگنال‌های درد را در ناحیه نخاع تحت تأثیر قرارمی‌دهد (۲۱)؛ همچنین کاهش آستانه درک درد حرارتی در موش‌های دیابتی‌شده در آزمون غوطه‌ورکردن دم در آب داغ نیز اثبات‌شده‌است (۲۰)؛ ازطرف‌دیگر، نتایج تحقیق‌های اخیر نشان‌می‌دهند که

موش‌های صحرایی دیابتی‌شده توسط استرپتوزوتوسین را می‌توان به‌عنوان مدل درد مزمن به‌حساب‌آورد که دربارهٔ آنها نشانه‌های هیپرآلژزی و آلودینی (در کوتاه-مدت (یک تا دو ماه) به‌خوبی مشاهده‌می‌شود (۲۲ و۲۳). آزمون فرمالین که در این بررسی برای پی‌بردن به-شدت درد احساس‌شده مورد استفاده قرارگرفت به‌عنوان یک مدل معتبر ارزیابی درد شناخته‌شده‌است؛ مرحله اول (حاد) آزمون که طی چند دقیقه اول پس از تزریق کف-پایی فرمالین رخ‌می‌دهد و به‌نسبت، زودگذر است، به علت اثر مستقیم ماده محرک فرمالین بر فیبرهای حسی نوع C است و فاز طولانی‌تر و مزمن (ثانویه) این آزمون به سبب ایجاد تغییرهای التهابی ناشی از آزادشدن مدیاتورهای دردزاست. نتایج تحقیق‌های جدید نشان-می‌دهند که در فاز اولیه آزمون فرمالین، ماده P و برادی کینین و در فاز ثانویه آن هیستامین، سروتونین، پروستاگلاندین و برادی کینین نقش‌دارند (۲۴ و۲۵)؛ همچنین، این تست علاوه‌بر سنجش درد تا حدودی مکانیسم اثر مواد با پتانسیل ضددردی را نیز مشخص-می‌کند. با توجه به اینکه در فاز مزمن آزمون فرمالین در موجودات نرمال و دیابتی‌شده مکانیسم‌های محیطی و در فاز حاد آن مکانیسم‌های مرکزی دخالت‌دارند (۲۵) و تزریق داخل صفاقی سدیم سالیسیلات به موش‌های گروه کنترل و دیابتی موجب کاهش میزان احساس درد فقط در فاز دوم آزمون شد، این ماده از طریق ساختاری محیطی، آثار خود را اعمال‌می‌کند که نتایج تحقیق حاضر، مؤید این نظر است؛ همچنین نتایج به‌دست‌آمده در این بررسی نشان‌دادند که تجویز تیموکینون به مدت پنج هفته به گروه دیابتی، موجب کاهش معنی‌دار پاسخ درد در هر دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین در موش‌های دیابتی می‌شدد که خود بر اعمال آثار مرکزی و محیطی این ماده و به‌احتمال، آثار ضدالتهابی آن دلالت‌دارد. در این خصوص مشخص شده‌است که چنین موادی قادرند آنزیم‌های مسیر سنتز پروستاگلاندین‌ها نظیر سیکلواکسیژناز را مهارکنند (۱۶) که این موجب کاهش التهاب در نواحی محیطی بدن و درنتیجه، کاهش شدت درد می‌شود؛ بخش دیگر از اثر ضدالتهابی تیموکینون را می‌توان به توانایی آن در مهار تولید نیتریک اکسید و مهارکردن دگرانولاسیون نوترفیل-ها نسبت‌داد که این خود موجب کاهش فعالیت آنزیم-های پیش‌برنده التهاب می‌شود (۸)؛ همچنین، مشاهده پاسخ ضددردی برای تیموکینون در گروه کنترل به دنبال تزریق فرمالین، خود به‌خوبی نشان‌می‌دهد که اثر این ماده در حالت نرمال نیز به اندازه کافی قوی است؛ همچنین بخشی دیگر از آثار سودمند تیموکینون بر درد در این تحقیق را می‌توان به آثار پایین‌آورندگی گلوکز آن نسبت‌داد که این با کاهش‌دادن روند گلیکوزیلاسیون سوبستراهای مختلف در نواحی بافتی از شدت آسیب بافتی می‌کاهد و این، خود، کاهش تغییرهایی نامطلوب در اعصاب محیطی و التهاب ناشی از آن را موجب می-شود (۲۴ و۲۵).

نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، نتایج بررسی حاضر نشان‌داد که تجویز تیموکینون موجب کاهش معنی‌دار شدت درد در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین در مدل تجربی دیابت قندی می‌شود و بر آستانه درد حرارتی تأثیرندارد و بخشی از این اثر از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در نواحی محیطی بدن و اعمال اثر هیپوگلیسمیک به‌انجام‌می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل پایان‌نامه دانشجوی کارشناسی‌ارشد دانشگاه پیام نور (تهران) مصوب سال ۱۳۸۹ است که با حمایت مالی این دانشگاه به‌انجام‌رسیده‌است؛ نویسندگان مقاله همچنین مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم *فریبا انصاری*، کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد در کمک به انجام آزمایش‌ها اعلام‌می‌کنند.

منابع

1. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. Med. Sci. Monit. 2006: 12:RA130-47.

2. Obrosova IG. Update on the pathogenesis of diabetic neuropathy. Curr Diab Rep 2003; 3: 439-45.

3. Galer BS, Gianas A, Jensen MP. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. Diabetes Res Clin Pract. 2000; 47: 123-128.

4. Dobretsov M, Hastings SL, Romanovsky D, Stimers JR, Zhang JM. Mechanical hyperalgesia in rat models of systemic and local hyperglycemia. Brain Res. 2003; 960: 174-183.

5. Dobretsov M, Hastings SL, Stimers JR, Zhang JM. Mechanical hyperalgesia in rats with chronic perfusion of lumbar dorsal root ganglion with hyperglycemic solution. J Neurosci Methods. 2001; 110: 9-15.

6. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. Endocr Rev 2004; 25: 612-28.

7. Prabhakar PK, Doble M. Mechanism of action of natural products used in the treatment of diabetes mellitus. Chin J Integr Med. 2011; 17(8): 563-74.

8. Banerjee S, Padhye S, Azmi A, Wang Z, Philip PA, Kucuk O, Sarkar FH, Mohammad RM.Review on molecular and therapeutic potential of thymoquinone in cancer. Nutr Cancer. 2010; 62(7):938-46.

9. Randhawa MA, Alghamdi MS. Anticancer activity of Nigella sativa (black seed) - a review. Am J Chin Med. 2011; 39(6): 1075-91.

10. Hosseinzadeh H, Taiari S, Nassiri-Asl M. Effect of thymoquinone, a constituent of Nigella sativa L., on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2012, in press.

11. Ammar el-SM, Gameil NM, Shawky NM, Nader MA. Comparative evaluation of anti-inflammatory properties of thymoquinone and curcumin using an asthmatic murine model. Int Immunopharmacol. 2011; 11(12): 2232-6.

12. Sankaranarayanan C, Pari L. Thymoquinone ameliorates chemical induced oxidative stress and β-cell damage in experimental hyperglycemic rats. Chem Biol Interact. 2011; 190(2-3): 148-54.

13. Pari L, Sankaranarayanan C. Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. Life Sci. 2009; 85(23-26):830-4.

14. Fouda AM, Daba MH, Dahab GM, Sharaf El-Din OA. Thymoquinone ameliorates renal oxidative damage and proliferative response induced by mercuric chloride in rats. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2008; 103(2):109-18.

15. Hosseinzadeh H, Parvardeh S, Asl MN, Sadeghnia HR, Ziaee T. Effect of thymoquinone and Nigella sativa seeds oil on lipid peroxidation level during global cerebral ischemia-reperfusion injury in rat hippocampus. Phytomedicine. 2007; 14(9): 621-7.

16. El Mezayen R, El Gazzar M, Nicolls MR, Marecki JC, Dreskin SC, Nomiyama H. Effect of thymoquinone on cyclooxygenase expression and prostaglandin production in a mouse model of allergic airway inflammation. Immunol Lett. 2006; 106(1):72-81.

17. Hajhashemi V, Ghannadi A, Jafarabadi H. Black cumin. seed essential oil, as a potent analgesic and antiinflammatory drug. Phytother Res. 2004; 18(3):195-9.

18. Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Sajadi M, Kavandi E, Kargar-sharif F. Analgesic effect of chronic oral administration of Nigella sativa in diabetic rats. Yazd Medical University Journal 2007; 14: 38-43.

19. 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 1977; 4: 161-174.

20. Courteix C, Eschalier A, Lavarenne J. Streptozotocin-induced diabetic rats: behavioral evidence for a model of chronic pain. Pain 1993; 53: 81-88.

21. Cesena RM, Caleutt NA. Gabapentin prevents hyperalgesia during the formalin test in diabetic rats. Neurosci Lett 1999; 262: 101-104.

22. Piercy V, Banner SE, Bhattacharyya A, Parsons AA, Sanger GJ, Smith SA, Bingham S. Thermal, but not mechanical, nociceptive behavior is altered in the Zucker Diabetic Fatty rat and is independent of glycemic status. J Diabetes Complications 1999; 13: 163-169.

23. Sharma S, Kulkarni SK, Chopra K. Effect of resveratrol, a polyphenolic phytoalexin, on thermal hyperalgesia in a mouse model of diabetic neuropathic pain. Fundam Clin Pharmacol 2007; 21(1):89-94.

24. Amresh HZG, Rao CV, Singh S. Antinociceptive activity of Amaranthus spinosus in experimental animals. Journal of Ethnopharmacology 2009; 122: 492-496.

25. Khan H, Saeed M, Gilani AH, Khan MA, Dar A, Khan I. The antinociceptive activity of Polygonatum verticillatum rhizomes in pain models. Journal of Ethnopharmacology 2010; 127, 521-527.

Daneshvar

Medicine

Antinociceptive effect of thymoquinone in diabetic rats and the role of serum lipid peroxidation

Uranus Poordahandeh[1], Sima Nasri[1], Mehrdad Roghani[2*], Parvin Salehi[1],Tourandokht Baluchnejadmojarad[3]

1. Department of Biology, Payamenour University, Tehran, Iran.
2. Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran.
3. Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

E-mail: mehjour@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Hyperalgesia is one of the signs of diabetes mellitus that affects the life quality of patients. *Nigella sativa*-derived thymoquinone exhibits antidiabetic and anti-inflammatory effects. This study was designed to investigate the antinociceptive effect of thymoquinone (TQ) in streptozotocin-diabetic rats.

Materials and Methods: Rats were divided into control, high dose TQ-treated control, diabetic, sodium salicylate (SS)-treated control and diabetic, and high and low dose TQ-treated diabetic groups. TQ was administered i.p. at doses of 2.5 and 5 mg/kg one week after diabetes induction by streptozotocin for 5 weeks.

Results: TQ treatment of diabetic rats reduced pain score in acute and chronic phases of the formalin test ($p<0.05$). Meanwhile, SS administration significantly reduced pain score only at chronic phase of the test ($p<0.01$). Regarding hot tail immersion test, diabetic rats showed a significant reduction in tail flick latency as compared to control ones ($p<0.05$) and TQ treatment of diabetic rats slightly increased this latency relative to untreated diabetics but the existing difference was not statistically significant. In addition, high-dose TQ significantly reduced serum level of MDA in diabetic group ($p<0.05$).

Conclusion: Taken together, administration of TQ could attenuate nociceptive score in both phases of formalin test in experimental model of diabetes mellitus and has no obvious effect on thermal pain threshold and part of this effect is exerted through attenuation of lipid peroxidation in peripoheral tissues of the body.

Key words: Thymoquinone, Antinociceptive, Formalin test, Hot tail immersion test, Diabetes mellitus, Malondialdehyde

Received: 4/4/2012
Last revised: 22/6/2012
Accepted: 11/7/2012

Daneshvar(medicine) shahed University/ 19th year/2012/NO.98