جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم پزشکی مدرس: آسیب‌شناسی زیستی
دوره ۱۳، شماره ۲: از ۱۱-۲۱
تابستان ۱۳۸۹

بررسی اثر ضد دردی تجویز دراز مدت فلاونوئید هسپرتین در موش صحرایی دیابتی: شواهد رفتاری

مهرداد روغنی[۱*]، توراندخت بلوچ‌نژادمجرد[۲]، خدیجه امیری[۳]

۱- دانشیار، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲- استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۳- دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

دریافت مقاله: ۸۸/۱۱/۲۱ پذیرش مقاله: ۸۹/۰۳/۲۶

چکیده

هدف: در این بررسی اثر ضد دردی تجویز دراز مدت فلاونوئید هسپرتین در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزتوسین در دو آزمون فرمالین و غوطه‌ور کردن دم در آب داغ ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها: موش‌ها به شش گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با هسپرتین، دیابتی دریافت کننده سدیم سالیسیلات، دیابتی و دیابتی تیمار شده با هسپرتین یا گلیبن کلامید تقسیم شدند. هسپرتین نیز ۱ هفته پس از القای دیابت به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی و یک روز در میان به‌مدت ٦ هفته تجویز شد. در پایان کار، تحمل درد حرارتی با استفاده از آزمون غوطه‌ور شدن دم در آب داغ و میزان احساس درد در آزمون فرمالین ارزیابی شد.

نتایج: نمرات درد در موش‌های دیابتی در دو مرحله حاد و مزمن در آزمون فرمالین به‌طور معنی‌دار بیشتر از موش‌های کنترل بود و درمان با هسپرتین به‌مدت ٦ هفته موجب کاهش معنی‌دار در نمرات درد در دو مرحله حاد و مزمن به‌ویژه مرحله مزمن شد ($P<۰/۰۵$). از نظر تحمل درد حرارتی نیز حالت دیابت موجب کاهش زمان تأخیر در بیرون کشیدن دم از آب شد ($P<۰/۰۱$) و درمان با هسپرتین موجب افزایش معنی‌دار این زمان در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده شد ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: تجویز دراز مدت هسپرتین به‌مدت ٦ هفته موجب افزایش تحمل درد حرارتی و کاهش احساس درد شیمیایی در حد کم در مدل تجربی دیابت قندی القا شده توسط استرپتوزوتوسین شد که این می‌تواند به‌عنوان یک درمان کمکی در هیپرآلژزی دیابتی مطرح شود.

کلیدواژگان: هسپرتین، دیابت قندی، درد، آزمون فرمالین، آزمون غوطه‌ور کردن دم در آب داغ

۱- مقدمه

بیماری دیابت قندی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های سیستم غدد درون‌ریز بدن محسوب می‌شود که براساس پیش‌بینی به‌عمل آمده، شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش خواهد یافت [۱]. کمبود یا کاهش نسبی میزان انسولین در این بیماری، با عوارض متابولیکی حاد نظیر کتواسیدوز (Ketoacidosis) و اغمای هیپراسمولار (Hyperosmolar) و

*نشانی مکاتبه: بلوار کشاورز، خیابان شهید عبدالله زاده (دهکده)، پلاک ۲۹، دانشکده پزشکی شاهد، گروه فیزیولوژی، کدپستی: ۳۳۱۹۱۱۸٦۵۱
Email: mehjour@yahoo.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

با یک اختلال متابولیک مزمن و عوارض نامطلوب در دراز مدت نظیر رتینوپاتی (Retinopathy)، نوروپاتی (Neuropathy)، گرفتاری عروق کلیوی، ضایعات پوستی و اختلالات سیستم قلب و گردش خون همراه است [۲]. درد ناشی از نوروپاتی اعصاب محیطی یکی از شکایات مهم بالینی افراد مبتلا به دیابت قندی محسوب می‌شود [۳، ٤]. بروز هیپرگلیسمی (Hyperglycemia) با اعمال آثار سمی بر سیستم عصبی محیطی یکی از علل بروز نوروپاتی دردناک است [٥، ٦]. با توجه به این‌که تاکنون ترکیب دارویی مناسب (نظیر سالیسیلات‌ها (Salicylates) و ترکیبات ضد التهابی غیراستروئیدی) عاری از عوارض جانبی برای درمان برخی حالات درد حاد و مزمن به‌ویژه در حالت دیابت قندی یافت نشده [۷]، بنابراین توجه محققان به گیاهان دارویی و مواد مؤثر استخراج شده از آن‌ها معطوف شده است. از جمله این مواد می‌توان از پلی‌فنل‌ها (Polyphenols) نام برد که در گیاهان، میوه‌ها و سبزیجات، روغن زیتون و برگ چای یافت می‌شود. فلاونوئیدها (Flavonoids) بزرگترین گروه از پلی‌فنل‌ها است و تاکنون بیشتر از ۲۰۰۰ نوع فلاونوئید خاص شناسایی شده است. فلاونوئیدها براساس ساختار مولکولی‌شان دستجات متنوعی از مواد از جمله فلاونوئید هسپرتین (Hesperetin) را در بر می‌گیرد [۸]. مشخص شده است که مصرف غذاها یا ترکیباتی که غنی از پلی‌فنل‌ها است، می‌تواند سطح سرمی آنتی‌اکسیدان‌ها را در خون افزایش دهد [۸]. در همین راستا مصرف ترکیبات پلی‌فنلیک، آثار مفید بارزی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو دارد. محققان در سال‌های اخیر، توجه خاصی به جنبه‌های بالقوه درمانی و پیشگیری کننده این ترکیبات در بیماری‌های مختلف از جمله انواع سرطان‌ها، بیماری‌های قلبی عروقی، بیماری‌های التهابی و متابولیک شامل دیابت قندی و بیماری‌های تحلیل‌برنده عصبی داشته‌اند [۸]. به‌علاوه، مطالعات اپیدمیولوژیک نمایانگر آن است که تغییر عادات غذایی و مصرف آنتی‌اکسیدان‌های غذایی می‌تواند از شیوع بیماری‌های متابولیک کم کند [۹]. در این خصوص، هسپرتین در خانواده فلاونوئیدها به فراوانی در پوست میوه مرکباتی نظیر پرتقال و گریپ فروت یافت می‌شود که دارای آثار فیزیولوژیک و سودمند متعدد از جمله کاهش دادن آسیب‌پذیری دیواره مویرگی، آثار آنتی‌اکسیدانی و کاهش دادن استرس اکسیداتیو (Oxidative Stress) و آسیب بافتی، کاهش‌دهندگی فشار خون شریانی، پایین آوردن کلسترول خون و بهبود دادن متابولیسم چربی‌ها است. به‌علاوه، این ماده دارای خاصیت محافظت کنندگی اعصاب (نوروپروتکتیو: Neuroprotective)، ضدتومور، ضد تجمع پلاکتی و ضد التهابی است [۱۰–۱۸]. به‌علاوه، اخیراً اثر ضد دیابتی هسپرتین و مشتقات آن شامل آثار هیپوگلیسمیک (Hypoglycemic) و هیپولیپیدمیک (Hypolipidemic) در موش‌های صحرایی دارای دیابت نوع ۲ اثبات شده است [۱۹]. همچنین در یک بررسی مشخص شد که مشتقات هسپرتین به همراه سایر ترکیبات دارای اثر ضد دردی و آرام‌بخش (Sedative) به فرم هم‌افزایی (Synergistic) در موش‌های سوری است که این اثر از طریق گیرنده‌های اوپیوئیدی (Opioid Receptors) اعمال می‌شود [۲۰]. بنابراین با توجه به اثبات آثار ضد التهابی و ضد دردی هسپرتین یا مشتقات آن در حیوانات طبیعی [١٤، ۲۰] و بروز هیپرآلژزی (Hyperalgesia) در دیابت قندی از طرف دیگر [۳، ٤]، در این تحقیق اثر ضد دردی تجویز دراز مدت هسپرتین در مدل تجربی دیابت قندی القا شده توسط داروی استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) در موش صحرایی نر به کمک دو آزمون فرمالین و غوطه‌ور کردن دم در آب داغ بررسی شد.

۲- مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ٤٨ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی ۲۵۰–۲۷۰ گرم استفاده شد. تمام حیوان‌ها در دمای ۲۱–۲۳ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ٤ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان‌ها در طول مدت بررسی آزادانه به آب لوله‌کشی و

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) دسترسی داشتند. در ضمن، بررسی براساس برنامه‌ها و دستورالعمل‌های توصیه شده توسط انستیتو ملی بهداشت آمریکا (NIH) برای نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و راه‌کارهای عملی موجود در داخل کشور انجام شد.

در این بررسی از آن دسته موش‌های صحرایی نر استفاده شد که در شرایط طبیعی بدون برقراری حالت روزه‌داری، میزان گلوکز سرم آن‌ها کمتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. در این خصوص از شبکه رترواوربیتال (Retroorbital) و لوله موئینه برای خونگیری استفاده شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به شش گروه اصلی کنترل، کنترل تحت تیمار با هسپرتین، دیابتی، دیابتی تحت تیمار با هسپرتین یا گلیبن کلامید (Glibenclamide) (کنترل مثبت برای آزمایش‌های ضد دیابتی) و دیابتی دریافت کننده سدیم سالیسیلات (کنترل مثبت برای آزمایش‌های ضد دردی) تقسیم شدند. با انجام بررسی آماری [آنووای یک طرفه (One-Way ANOVA)]، در صورت معنی‌دار نبودن تفاوت بین گروه‌ها از نظر وزن، کار ادامه می‌یافت وگر نه گروه‌بندی مجدداً انجام می‌شد. برای دیابتی نمودن موش‌ها از داروی استرپتوزوتوسین به‌صورت تک دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. داروی هیپوگلیسمیک گلیبن کلامید نیز به میزان ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم در روز تجویز شد. سدیم سالیسیلات یک ساعت قبل از انجام آزمون فرمالین به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق شد. داروی هسپرتین نیز ۱ هفته پس از القای دیابت به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی و یک روز در میان به‌مدت ۶ هفته تجویز شد. دوز هسپرتین براساس مراجع موجود انتخاب شد [۱۲، ۲۱]. یک هفته پس از تزریق، برای اطمینان از دیابتی بودن حیوانات، قند ادرار به روش نوار ادراری (شرکت گلوکو یاب، تهران) کنترل شد و فقط حیوانات دیابتی شده به مرحله بعدی برای شروع تیمار راه یافتند. البته در هفته‌های بعد علایم بارز دیابت نظیر پرخوری، پرنوشی، دیورز (Diuresis)، و کاهش وزن نیز در موش‌ها دیده شد. میزان وزن حیوانات و گلوکز سرم (روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست شیمی، تهران) در هفته قبل از انجام کار و در طی هفته‌های سوم و ششم پس از تزریق استرپتوزوتوسین اندازه‌گیری شد.

۲-۱- آزمون فرمالین

از نظر زمانی این آزمون در مورد تمام موش‌ها در بین ساعات ۱۲-۱۷ و ۲-۳ روز پس از انجام آزمون غوطه‌ور کردن دم در آب داغ انجام پذیرفت. برای انجام آن نیز از روش متداول دابیسون و دنیس (Dubuisson and Dennis) استفاده شد [۲۲]، بدین ترتیب که حیوان در یک محفظه از جنس پلکسی‌گلاس (Plexiglass) (۴۰×۴۰×۴۰ سانتی‌متر) در تحت شرایط آرام قرار گرفته و پس از گذشت ۱۵ دقیقه، ۵۰ میکرولیتر از محلول فرمالین ۲/۵ درصد به‌صورت زیرجلدی به کف پای حیوان تزریق شد و شدت درد حیوان براساس تقسیم‌بندی زیر به چهار درجه تفکیک شد: ۰- حیوان بدون توجه به پای تزریق شده 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 کاملاً از سطح محفظه بلند می‌نماید. ۳- حیوان پنجه تزریق شده را از شدت درد می‌لیسد، گاز می‌گیرد یا به شدت تکان می‌دهد. ثبت پاسخ‌های رفتاری بلافاصله پس از تزریق فرمالین آغاز و تا دقیقه ۶۰ ادامه یافت. در این ارتباط پاسخ در هر ۱۵ ثانیه ثبت و به‌عنوان شاخصی از میزان درد در آزمون فرمالین در نظر گرفته شد. با استفاده از این روش اعداد ۰ تا ۳ برای امتیاز درد در زمان‌های مختلف به‌دست آمد. میانگین درد در ده دقیقه اول بعد از تزریق فرمالین به‌عنوان مرحله اول یا حاد و در دقایق ۱۶ تا ۶۰ به‌عنوان مرحله دوم یا مزمن در نظر گرفته شد.

۲-۲- آزمون غوطه‌ور کردن دم در آب داغ

این آزمون به روش توصیف شده توسط کورتیکس

(Courteix) و همکاران انجام پذیرفت [۲۳]. برای انجام این کار حیوان به‌مدت ۱۵ دقیقه در داخل محفظه محدود کننده موش در تحت شرایط استاندارد آزمایشگاه قرار گرفته و سپس دم حیوان در داخل آب داغ در دمای ٤٩ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و میزان تأخیر در بیرون کشیدن دم از آب با استفاده ار زمان‌سنج اندازه‌گیری شد. هر آزمایش در مورد هر حیوان ٤ بار با فاصله زمانی ۵ دقیقه تکرار شد و در نهایت میانگین داده در مورد هر موش ثبت شد. زمان قطع آزمایش در صورت بیرون نکشیدن دم نیز ۳۰ ثانیه در نظر گرفته شد.

۲-۳- تجزیه و تحلیل آماری

تمام داده‌ها در بررسی حاضر به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. برای تجزیه و تحلیل آماری در مورد نتایج وزن و گلوکز از آزمون آنووا با اندازه‌گیری مکرر و در مورد نتایج درد نیز از آزمون آنووای یک طرفه و آزمون توکی (Tukey's Test) استفاده شد. به‌علاوه، P<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

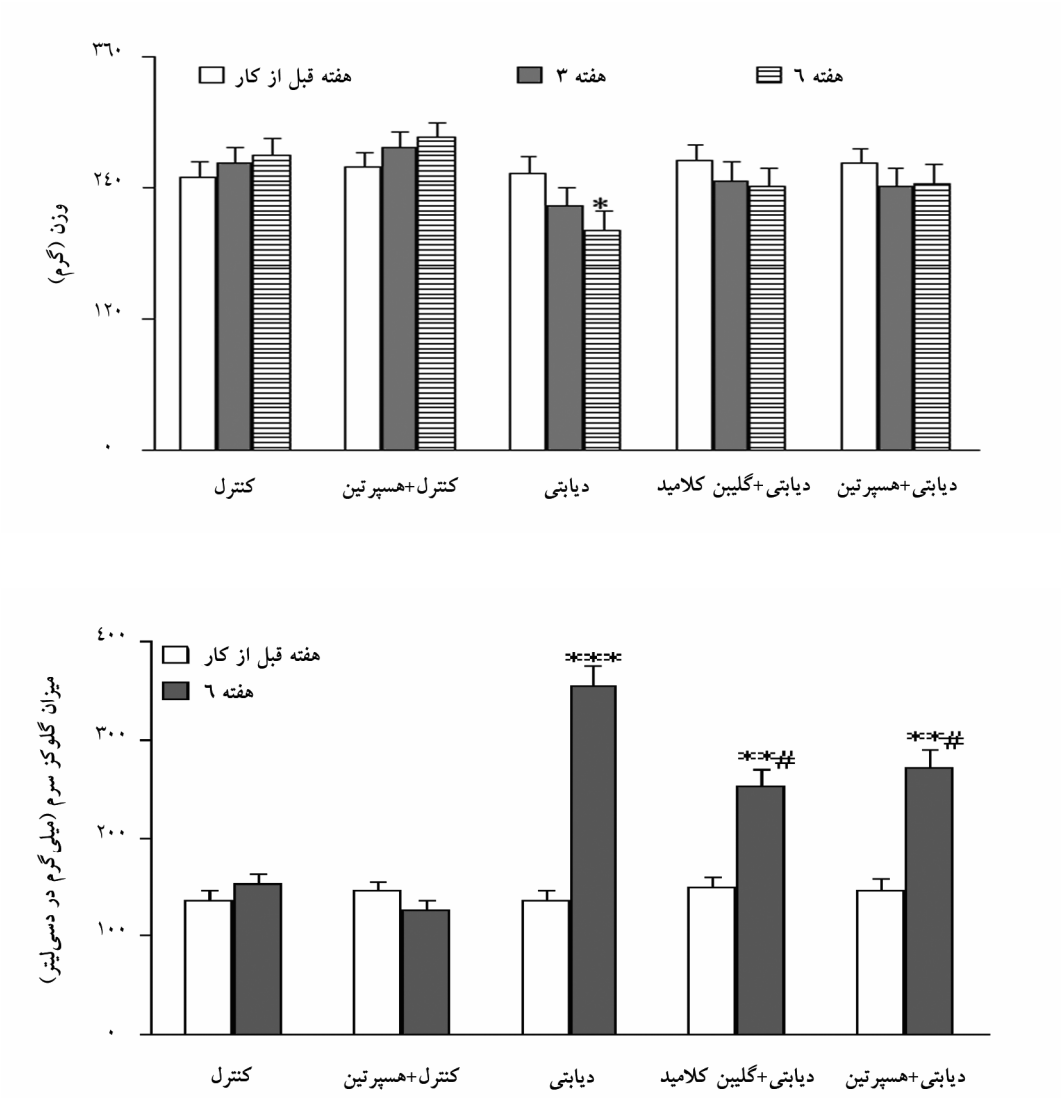
۳- نتایج

از نظر وزن، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها در هفته قبل کار (سطح پایه) مشاهده نشد. دو گروه کنترل و کنترل تحت تیمار با هسپرتین یک افزایش بارز و طبیعی وزن را در پایان هفته ششم به‌ترتیب به میزان ۸/۵ درصد و ۱۰/٤ درصد نشان دادند؛ هر چند این افزایش وزن در هر دو گروه کنترل و کنترل تحت تیمار در مقایسه با هفته قبل از کار در همان گروه از نظر آماری به حد معنی‌دار نرسید. در گروه دیابتی نیز یک کاهش غیرمعنی‌دار وزن به میزان ۹/۱ درصد در هفته سوم و یک کاهش بارز و معنی‌دار به میزان ۲۰/٤ درصد در هفته ششم در مقایسه با هفته قبل بررسی (P<۰/۰۵) مشاهده شد. در گروه دیابتی تحت تیمار با هسپرتین نیز در هفته ششم یک کاهش کم و غیرمعنی‌دار وزن به میزان ۷/۲ درصد در مقایسه با هفته قبل از کار مشاهده شد و این کاهش وزن در گروه دیابتی تحت تیمار هر چند در مقایسه با گروه دیابتی کمتر بود ولی کماکان تفاوت موجود بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت درمان با هسپرتین در هفته ششم در حد معنی‌دار نبود (نمودار ۱). میزان کاهش وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با گلیبن کلامید در هفته‌های ۳ و ٦ نیز در مقایسه با هفته قبل از کار به‌ترتیب ٦/۷ درصد و ۹/۱ درصد بود که این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود و در مقایسه با گروه دیابتی کمتر بود.

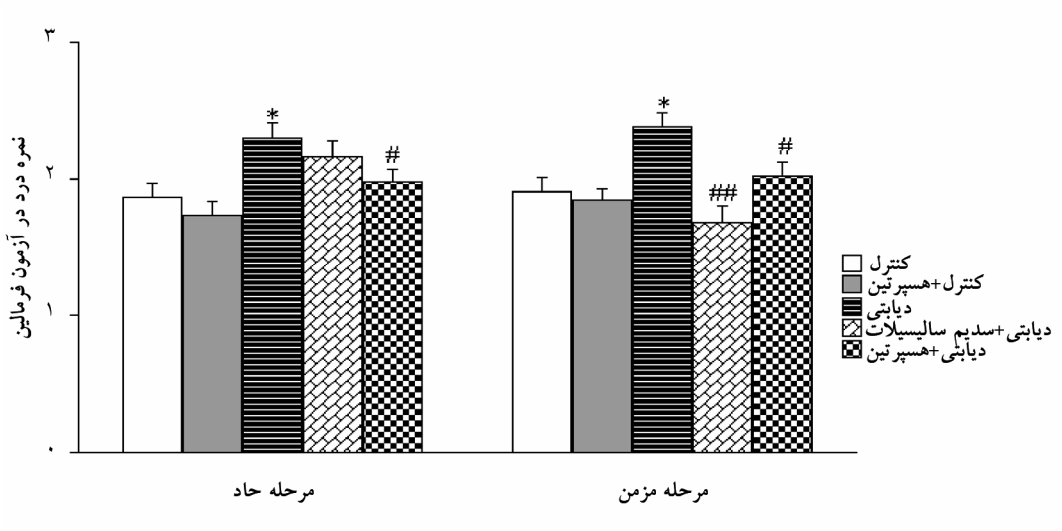
درباره میزان گلوکز سرم در هفته قبل از بررسی تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها مشاهده نشد. در دو گروه کنترل و کنترل تحت تیمار با هسپرتین میزان گلوکز سرم در هفته ششم در مقایسه با هفته قبل کار در همان گروه تفاوت معنی‌دار نشان نداد. به عبارت دیگر؛ تجویز هسپرتین به حیوانات گروه کنترل کاهش محسوس و مطلوب گلوکز سرم را به دنبال نداشت. از طرف دیگر، میزان گلوکز سرم در هفته ششم در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با هسپرتین در حد معنی‌دار (به‌ترتیب P<۰/۰۰۱ تا P<۰/۰۱) و به‌ترتیب به میزان ۱٦۲/۹ درصد و ۸٦/۸ درصد بیشتر از مقادیر گلوکز در هفته قبل از کار در همان گروه بود. میزان گلوکز سرم در هفته ششم در گروه دیابتی تحت درمان به‌طور معنی‌دار و به میزان ۲۳/٦ درصد کمتر از گروه دیابتی درمان نشده بود (P<۰/۰۵) (نمودار ۱). تجویز گلیبن کلامید به حیوانات گروه دیابتی نیز موجب شد که میزان افزایش گلوکز سرم در این گروه در هفته ششم مقایسه با هفته قبل از کار (به میزان ٦۹/۱ درصد) در مقایسه با میزان افزایش گلوکز در گروه دیابتی (۱٦۲/۹ درصد) کمتر باشد که این وضعیت در گروه دیابتی تحت تیمار با هسپرتین نیز مشاهده شد.

در این بررسی همچنین نمرات درد در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین در مورد گروه‌ها ارزیابی شد (نمودار ۲). تزریق کف‌پایی فرمالین، یک پاسخ بارز دو مرحله‌ای را در تمام گروه‌ها ایجاد نمود. هیپرآلژزی ظاهر شده به دنبال تزریق کف‌پایی فرمالین در موش‌های دیابتی درمان نشده در هر دو مرحله حاد و مزمن به‌طور معنی‌دار و به‌ترتیب به میزان

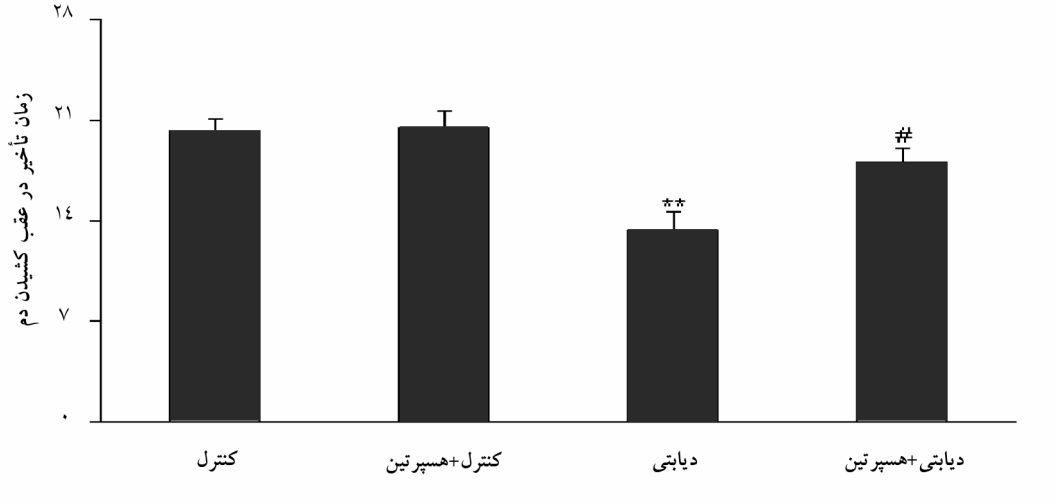
۲۷/۸ درصد و ۲٤/٦ درصد بیشتر از گروه کنترل بود (P<۰/۰۵). به‌علاوه تجویز سدیم سالیسیلات به‌عنوان یک ماده ضد درد مؤثر و رایج در جامعه انسانی به موش‌های گروه دیابتی موجب کاهش معنی‌دار نمره درد فقط در مرحله دوم (مزمن) آزمون فرمالین و به میزان ۲۹/٤ درصد در مقایسه با موش‌های گروه دیابتی شد (P<۰/۰۱). از طرف دیگر، درمان با هسپرتین به‌مدت ٦ هفته موجب کاهش معنی‌دار نمرات درد به‌ترتیب به میزان ۱۳/۹ درصد و ۱۵/۱ درصد در مقایسه با گروه دیابتی در هر دو مرحله حاد و مزمن آزمون به‌ویژه مرحله مزمن شد (P<۰/۰۵).



نمودار ۱ اثر تجویز هسپرتین و گلیبن کلامید (کنترل مثبت) بر میزان وزن و گلوکز سرم در گروه‌های مورد بررسی، *: P<۰/۰۵، **: P<۰/۰۱، ***: P<۰/۰۰۱ (در مقایسه با هفته قبل از بررسی در همان گروه) و #: P<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)



نمودار ۲ شدت درد در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار با هسپرتین و دیابتی تحت تیمار با سدیم سالیسیلات (کنترل مثبت)، *: P<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه کنترل در همان مرحله)، #: P<۰/۰۵، ##: P<۰/۰۱ (در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده در همان مرحله)



نمودار ۳ مدت زمان تأخیر در بیرون کشیدن دم از آب داغ در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار با هسپرتین، **: P<۰/۰۱ (در مقایسه با گروه کنترل در همان مرحله)، #: P<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده در همان مرحله)

در مورد آزمون غوطه‌ور کردن دم در آب داغ که برای سنجش میزان تحمل درد حرارتی کاربرد دارد (نمودار ۳)، در گروه دیابتی یک کاهش معنی‌دار در مدت زمان تأخیر در بیرون کشیدن دم در مقایسه با گروه کنترل به میزان ۳۳/۷ درصد مشاهده شد (P<۰/۰۱) که خود نشان دهنده بروز هیپرآلژزی حرارتی در موش‌های دیابتی ٦ هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین است. به‌علاوه، درمان موش‌های دیابتی با هسپرتین به‌مدت ٦ هفته موجب افزایش معنی‌دار این زمان

تـأخیر در مقایـسه بـا گـروه دیـابتی درمـان نـشده بـه میـزان ۳۵/۱ درصد شد و تفاوت موجـود بـین ایـن دو گـروه از نظـر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). همچنین درمان موش‌های گروه کنترل با هسپرتین نیز هیچ‌گونه تغییر معنی‌دار را از این نظـر در مقایسه با گروه کنترل ایجاد ننمود.

٤- بحث

نتـایج بررسـی حاضـر نـشان داد کـه تجـویز دراز مـدت هسپرتین به‌مدت ٦ هفته اثر هیپوگلیـسمیک دارد و نمـرات درد در موش‌های دیابتی در دو مرحله حاد و مزمن آزمـون فرمـالین بیشتر از موش‌های کنترل بوده و درمان با هسپرتین در حد کـم موجب کاهش معنی‌دار نمرات درد در مقایسه با گـروه دیـابتی در دو مرحله حاد و مزمن مـی‌شـود. ضـمناً بـا تجـویز سـدیم سالیسیلات به موش‌های دیابتی، کاهش معنـی‌دار در نمـره درد فقط در مرحله مزمن آزمـون فرمـالین مـشاهده شـد. در مـورد آزمون غوطه‌ور کردن دم در آب داغ نیز در گـروه دیـابتی یـک کاهش معنی‌دار در مدت زمان تـأخیر در بیـرون کـشیدن دم در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد و درمان موش‌های دیابتی بـا هسپرتین موجب افزایش این زمان تـأخیر در مقایـسه بـا گـروه دیابتی درمان نشده شد.

نتـایج تحقیقـات قبلـی نـشان داده اسـت کـه مـوش‌هـای صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین به‌طور غیرمنتظـره یک رفتار تشدید شده مربوط به درد را در آزمـون فرمـالین بـه دنبال تجویز محرک‌های شـیمیایی بـه داخـل پنجـه پـا پـس از گذشت حداقل ۳-٤ هفته نشان می‌دهنـد کـه خـود دلالـت بـر وجود مکانیـسم‌هـای غیرطبیعـی و متعـدد در پـردازش علایـم (Signals) محیطی درد دارد [۲۳، ٢٤]. در همین ارتباط شواهد زیادی مبنی بر ایـن موضـوع یافـت مـی‌شـود کـه بـرای بـروز نوروپاتی و هیپرآلژزی دیابتی نیاز به گذشت حـداقل یـک مـاه است [۲۵-۲۷]. با توجه به این‌که در بررسی حاضر آزمون‌هـای سنجش درد پـس از گذشـت شـش هفتـه انجـام شـده اسـت، بنابراین با توجه به شواهد قبلی و نتایج به‌دست آمده، نوروپاتی دیابتی در موش‌های دیابتی رخ داده اسـت. وجـود هیپرآلـژزی به‌عنوان اولین نشانگان نوروپاتی دیابتیک به اثبات رسیده اسـت که علت آن تا حدودی به آثـار سـمی (Toxic) مقـادیر بـالای گلـوکز بـر سیـستم عـصبی محیطـی و فعـال شـدن مـسیرهای بیوشیمیایی آلدوز ردوکتاز (Aldose Reductase) و الکل‌های با چند گروه هیدروکسیل نسبت داده شده است [۲۸]. به‌عـلاوه وجود حالت دیابـت، پـردازش علایـم درد را در ناحیـه نخـاع تحت تأثیر قرار می‌دهد و کاهش آسـتانه درک درد حرارتـی در موش‌های دیابتی شده در آزمون غوطه‌ور کـردن دم در آب داغ نیز مورد اثبات قرار گرفتـه اسـت [۲۹]. از طـرف دیگـر نتـایج تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین را می‌تـوان بـه‌عنـوان مـدل درد مـزمن به‌حساب آورد که در مورد آن، نشانه‌های هیپرآلژزی و آلـودینی (Allodynia) به‌خوبی مشاهده می‌شود [٢٦، ۲۸، ۳۰].

آزمون فرمالین که برای پی‌بردن به شدت درد احـساس شـده استفاده شد؛ به‌عنوان یک مدل معتبـر ارزیـابی درد شـناخته شـده است. مرحله اول (حاد) آزمـون کـه در چنـد دقیقـه اول پـس از تزریق کف‌پایی فرمالین رخ می‌دهد و نـسبتاً زودگـذر اسـت، بـه علت اثر مستقیم ماده محرک فرمالین بر فیبرهـای حـسی نـوع C است و مرحله طولانی‌تر و مزمن (ثانویه) ایـن آزمـون بـه علـت ایجـاد تغییـرات التهـابی ناشـی از آزاد شـدن واسـطه‌هـای (Mediators) دردزا است. نتایج تحقیقات جدید نشان مـی‌دهـد کـه در مرحلـه اولیـه آزمـون فرمـالین، مـاده P و بـرادی‌کینـین (Bradykinin) و در مرحله ثانویه آن هیـستامین (Histamine)، سروتونین (Serotonin)، پروسـتاگلاندین (Prostaglandin)، و برادی‌کینین نقش دارد [۳۱، ۳۲]. به‌علاوه، این آزمـون عـلاوه بـر سنجش درد، تا حدودی مکانیسم اثر مواد با پتانـسیل ضـد دردی را نیز مشخص می‌نماید. با توجه به این‌که در مرحله مزمن آزمون فرمالین در موجودات طبیعی و دیابتی شـده بـا استرپتوزوتوسـین مکانیسم‌های محیطی موجود در خارج از سیـستم عـصبی (نظیـر پدیده التهابی) و در مرحله حاد آن مکانیسم‌های مرکـزی موجـود در سیستم عصبی (نظیر بروز تغییرات در پردازش مرکزی علائـم درد) دخالت دارد [۳۱] و تزریق داخل صفاقی سدیم سالیسیلات

به موش‌های گروه دیابتی موجب کاهش میزان احساس درد فقط در مرحله دوم آزمون شد، بنابراین این ماده از طریق یک مکانیسم محیطی اثر خود را اعمال می‌کند که نتایج تحقیق حاضر تأیید کننده این نظر است. همچنین نتایج به‌دست آمده در این بررسی نشان داد که تجویز دراز مدت هسپرتین در گروه دیابتی به‌مدت ٦ هفته موجب کاهش معنی‌دار پاسخ درد در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین در موش‌های دیابتی می‌شود که این خود دال بر اعمال اثرهای مرکزی و محیطی این فلاونوئید و اعمال آثار ضد التهابی آن است. در این راستا فلاونوئیدهای موجود در گیاهان دارویی با اعمال اثرهای آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی می‌تواند آثار ضد دردی هسپرتین را در این بررسی تا حدودی توجیه نمایند. در این مورد مشخص شده که چنین فلانوئیدهایی قادر به مهار آنزیم‌های دخیل در تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن نظیر سیکلواکسیژناز (Cyclooxygenase)، لیپواکسیژناز (Lipooxygenase)، منواکسیژناز میکروزومی (Microsomic Monooxygenase) وگلوتاتیون اس ترانسفراز (Glutation S Transferase) است [٣٣، ٣٤]. بخش دیگر اثر ضد التهابی فلاونوئیدها را می‌توان به توانایی آن‌ها در تنظیم کاهشی تولید نیتریک اکسید و مهار نمودن دگرانولاسیون نوتروفیل‌ها نسبت داد که این خود موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های پیش‌برنده التهاب می‌شود [٣٥]. به‌علاوه، فلاونوئیدها قادر به کاهش دادن فعالیت سیستم کمپلمانت (Complement System) است که از این طریق موجب کاهش اتصال سلول‌های پیش‌برنده التهابی به بافت پوششی ناحیه آسیب دیده یا ناحیه تزریق شده با فرمالین می‌شود که بدین ترتیب از شدت التهاب کاسته شده و در نهایت درد کمتری احساس می‌شود [٣٦]. همچنین عدم مشاهده پاسخ ضد دردی برای هسپرتین در گروه کنترل به دنبال تزریق فرمالین، نشان می‌دهد که اثر این ماده در حالت طبیعی به اندازه کافی قوی نیست و لازمست که قبل از تزریق فرمالین، یک حالت نظیر دیابت قندی دراز مدت، یک‌سری تغییرات بافتی را در ناحیه مورد تزریق ایجاد نماید. همچنین بخشی دیگر از آثار سودمند هسپرتین بر درد در این تحقیق را می‌توان به آثار پایین آورندگی گلوکز آن نسبت داد که موجب کاهش تغییرات در اعصاب محیطی و التهاب ناشی از آن می‌شود که این اثر در تحقیقات دیگر در مورد سایر فلاونوئیدها نیز به‌دست آمده است [٣٧، ٣٨]. همچنین، هسپرتین قادر به مهار آنزیم سیکلواکسیژناز و سرکوب مهار التهابی در بدن بوده و از همین طریق آثار ضد تجمع پلاکتی خود را نیز ایفا می‌نماید [١٤] که این مطلب کاهش درد در آزمون فرمالین در موش‌های صحرایی دیابتی تحت درمان با هسپرتین در تحقیق حاضر را نیز تا حدودی توجیه می‌نماید.

به‌علاوه، مشخص شده است که بروز دیابت قندی در حیوانات آزمایشگاهی دیابتی شده موجب افزایش استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن در نواحی محیطی و مرکزی بدن می‌شود که در نتیجه آن دریافت، انتقال و پردازش نهایی علایم درد به‌طور نامطلوب در راستای افزایش احساس درد تحت تأثیر قرار می‌گیرد [٢٧-٢٩]. از طرف دیگر، هسپرتین موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و حفاظت نورون‌ها در برابر عوامل آسیب‌رسان می‌شود و از این طریق سطح پارامترهای مربوط را کاهش می‌دهد [١٠، ١٢]. با توجه به این موضوع که دیابت قندی با تشدید روند استرس اکسیداتیو همراه بوده و بخشی از تغییرات بیوشیمیایی خون در دیابت قندی به‌ویژه در دیابت وابسته به انسولین از این طریق توجیه می‌شود [١، ٢]، بنابراین بخشی از آثار سودمند هسپرتین در تحقیق حاضر را می‌توان به کاهش دادن پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو نسبت داد.

به‌طور خلاصه تجویز دراز مدت هسپرتین به‌مدت ٦ هفته موجب افزایش تحمل درد حرارتی و کاهش احساس درد شیمیایی در حد کم در مدل تجربی دیابت قندی القا شده توسط استرپتوزوتوسین می‌شود که این می‌تواند به‌عنوان یک درمان کمکی در هیپرآلژزی دیابتی مطرح شود.

٥- تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه دانشجوی پزشکی مصوب دانشگاه شاهد بوده که با حمایت مالی این دانشگاه به انجام

رسیده است که بدین‌وسیله تشکر می‌گردد. نویسندگان مقاله مراتب تشکر فراوان خود را از سرکار خانم فریبا انصاری کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد بابت همکاری در انجام آزمایش‌ها اعلام می‌دارند.

٦- منابع

[1] Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. Med Sci Monit 2006; 12(7): RA130-47.

[2] Amos AF, McCarty DJ, Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. Diabet Med 1997; 14 Suppl 5: S1-85.

[3] Galer BS, Gianas A, Jensen MP. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. Diabetes Res Clin Pract 2000; 47(2): 123-8.

[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(1-2): 174-83.

[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(1-2): 9-15.

[6] Raz I, Hasdai D, Seltzer Z, Melmed RN. Effect of hyperglycemia on pain perception and on efficacy of morphine analgesia in rats. Diabetes 1988; 37(9): 1253-9.

[7] Nakamura-Craig M, Follenfant RL. Effect of lamotrigine in the acute and chronic hyperalgesia induced by PGE2 and in the chronic hyperalgesia in rats with streptozotocin-induced diabetes. Pain 1995; 63(1): 33-7.

[8] Buer CS, Imin N, Djordjevic MA. Flavonoids: new roles for old molecules. J Integr Plant Biol 2010; 52(1): 98-111.

[9] Tang H, Dong X, Day RS, Hassan MM, Li D. Antioxidant genes, diabetes and dietary antioxidants in association with risk of pancreatic cancer. Carcinogenesis 2010; 31(4): 607-13.

[10] Monforte MT, Trovato A, Kirjavainen S, Forestieri AM, Galati EM, Lo Curto RB. Biological effects of hesperidin, a Citrus flavonoid. (note II): hypolipidemic activity on experimental hypercholesterolemia in rat. Farmaco 1995; 50(9): 595-9.

[11] Bok SH, Lee SH, Park YB, Bae KH, Son KH, Jeong TS, Choi MS.. Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. J Nutr 1999; 129(6): 1182-5.

[12] Choi EJ, Ahn WS. Neuroprotective effects of chronic hesperetin administration in mice. Arch Pharm Res 2008; 31(11): 1457-62.

[13] Aranganathan S, Panneer Selvam J, Nalini N. Hesperetin exerts dose dependent chemopreventive effect against 1, 2-dimethyl hydrazine induced rat colon carcinogenesis. Invest New Drugs 2009; 27(3): 203-13.

[14] Jin YR, Han XH, Zhang YH, Lee JJ, Lim Y, Chung JH, Yun YP. Antiplatelet activity of hesperetin, a bioflavonoid, is mainly mediated by inhibition of PLC-gamma2 phosphorylation and cyclooxygenase-1 activity. Atherosclerosis 2007; 194(1): 144-52.

[15] Kuppusamy UR, Das NP. Antilipolytic action of hesperetin in rat adipocytes. Planta Med 1993; 59(6): 508-12.

[16] Borradaile NM, Carroll KK, Kurowska EM. Regulation of HepG2 cell apolipoprotein B metabolism by the citrus flavanones hesperetin and naringenin. Lipids 1999; 34(6): 591-8.

[17] Cha JY, Cho YS, Kim I, Anno T, Rahman SM, Yanagita T. Effect of hesperetin, a citrus flavonoid, on the liver triacylglycerol content and phosphatidate phosphohydrolase activity in orotic acid-fed rats. Plant Foods Hum Nutr 2001; 56(4): 349-58.

[18] Hirata A, Murakami Y, Shoji M, Kadoma Y, Fujisawa S. Kinetics of radical-scavenging activity of hesperetin and hesperidin and their inhibitory activity on COX-2 expression. Anticancer Res 2005; 25(5): 3367-74.

[19] Akiyama S, Katsumata S, Suzuki K, Nakaya Y, Ishimi Y, Uehara M. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of hesperidin and cyclodextrin-clathrated hesperetin in Goto-Kakizaki rats with type 2 diabetes. Biosci Biotechnol Biochem 2009; 73(12): 2779-82.

[20] Loscalzo LM, Wasowski C, Paladini AC, Marder M. Opioid receptors are involved in the sedative and antinociceptive effects of hesperidin as well as in its potentiation with benzodiazepines. Eur J Pharmacol 2008; 580(3): 306-13.

[21] Choi EJ. Antioxidative effects of hesperetin against 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced oxidative stress in mice. Life Sci 2008; 82(21-22): 1059-64.

[22] 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(2): 161-74.

[23] Courteix C, Eschalier A, Lavarenne J. Streptozocin-induced diabetic rats: behavioural evidence for a model of chronic pain. Pain 1993; 53(1): 81-8.

[24] Ceseña RM, Calcutt NA. Gabapentin prevents hyperalgesia during the formalin test in diabetic rats. Neurosci Lett 1999; 262(2): 101-4.

[25] Sameni HR, Panahi M, Sarkaki A, Saki GH, Makvandi M. The neuroprotective effects of progesterone on experimental diabetic neuropathy in rats. Pak J Biol Sci 2008; 11(16): 1994-2000.

[26] Hasanein P, Soltani N. Effects of the endocannabinoid transport inhibitors AM404 and UCM707 on diabetic neuropathy in rats. Clin Exp Pharmacol Physiol 2009; 36(11): 1127-31.

[27] Kuhad A, Chopra K. Tocotrienol attenuates oxidative-nitrosative stress and inflammatory cascade in experimental model of diabetic neuropathy. Neuropharmacology 2009;57(4): 456-62.

[28] Calcutt NA. Potential mechanisms of neuropathic pain in diabetes. Int Rev Neurobiol 2002; 50: 205-228.

[29] 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.

[30] 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(3): 163-9.

[31] Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. Pain 1989; 38(3): 347-52.

[32] Rosland JH, Tjølsen A, Maehle B, Hole K. The formalin test in mice: effect of formalin concentration. Pain 1990; 42(2): 235-42.

[33] Kumar NP, Annamalai AR, Thakur RS. Antinociceptive property of Emblica officinalis Gaertn (Amla) in high fat diet-fed/low dose streptozotocin induced diabetic neuropathy in rats. Indian J Exp Biol 2009; 47(9): 737-42.

[34] Comelli F, Bettoni I, Colleoni M, Giagnoni G, Costa B. Beneficial effects of a Cannabis sativa extract treatment on diabetes-induced neuropathy and oxidative stress. Phytother Res 2009; 23(12): 1678-84.

[35] Zeashan H, Amresh G, Rao CV, Singh S. Antinociceptive activity of Amaranthus spinosus in experimental animals. J Ethnopharmacol 2009; 122(3): 492-6.

[36] Khan H, Saeed M, Gilani AU, Khan MA, Dar A, Khan I. The antinociceptive activity of Polygonatumverticillatum rhizomes in pain models. J Ethnopharmacol 2010; 127(2): 521-7.

[37] Filho AW, Filho VC, Olinger L, de Souza MM. Quercetin: further investigation of its antinociceptive properties and mechanisms of action. Arch Pharm Res 2008; 31(6): 713-21.

[38] Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. Am J Clin Nutr 2001; 74(4): 418-25.