مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره نهم، شماره پنجم، مرداد ۹۴
صفحه ۶۱ الی ۷۰

مقاله پژوهشی
(Original Article)

# تأثیر عصاره آبی سنجد بر درد نوروپاتی دیابتی در موش‌های صحرایی دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین

امیدرضا تمتاجی[۱]، سیدعلیرضا طلایی[۲]، محسن تقی‌زاده[۳*]

## چکیده

**زمینه و هدف:** یکی از عوارض شایع دیابت، اختلال در سیستم عصبی و نوروپاتی دیابتی می‌باشد. در مطالعات مختلف گزارش شده است ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنولی موجود در گیاهان باعث بهبود نوروپاتی دیابت می‌شوند. با توجه به‌وجود مقادیر زیادی از این ترکیبات در میوه سنجد، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر عصاره آبی سنجد بر درد نوروپاتی دیابتی در موش‌های صحرایی دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین انجام گرفت.

**روش بررسی:** این مطالعه تجربی بر روی ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار انجام شد. موش‌ها به سه گروه ۸ تایی شامل: گروه کنترل منفی (بدون مداخله)، گروه کنترل مثبت (دیابتی) و گروه دریافت‌کننده عصاره (دوز ۲۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز) تقسیم شدند. پس از القای دیابت، عصاره آبی سنجد به مدت ۳ هفته به‌صورت خوراکی تجویز شد. از آزمون‌های آلودینیای حرارتی، مکانیکی، هایپر آلژزیای حرارتی و آزمون فرمالین جهت بررسی درد نوروپاتی دیابتی (در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱) پس از تزریق استرپتوزوتوسین استفاده گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس دوطرفه و پس‌آزمون توکی تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری، $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** اختلاف درد بین گروه کنترل منفی و کنترل مثبت در آزمون‌های آلودینیای حرارتی ($p=۰/۰۳۶$) و مکانیکی ($p=۰/۰۲۳$)، هایپر آلژزیای حرارتی ($p=۰/۰۰۱$) و آزمون فرمالین ($p<۰/۰۰۰۱$) قابل‌توجه بود. تجویز عصاره آبی سنجد باعث بهبود درد نوروپاتی دیابتی در مقایسه با گروه کنترل مثبت در آزمون‌های آلودینیای حرارتی ($p=۰/۰۳۶$) و مکانیکی ($p=۰/۰۱۲$)، هایپر آلژزیای حرارتی ($p=۰/۰۱۱$) و آزمون فرمالین ($p<۰/۰۰۰۱$) شد.

**نتیجه‌گیری:** طبق نتایج این مطالعه، عصاره آبی سنجد درد نوروپاتی دیابتی را در موش‌های صحرایی دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین بهبود می‌بخشد.

**کلید واژه‌ها:** سنجد؛ نورالژی دیابتی؛ درد؛ اندازه‌گیری درد ؛ استرپتوزوتوسین.

[۱]کارشناس بهداشت عمومی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

[۲]دانشجوی دکتری علوم اعصاب، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

[۳]دانشیار علوم تغذیه، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
**محسن تقی‌زاده**، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
taghizadeh_m@kaums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۲۹

تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۸

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

**Tamtaji OR, Talaei SAR, Taghizadeh M. The effect of aqueous extract of *Elaeagnus angustifolia* on diabetic neuropathic pain in streptozotocin-induced diabetic rats. Qom Univ Med Sci J 2015;9(5):61-70. [Full Text in Persian]**



www.SID.ir

## مقدمه

دیابت یک بیماری متابولیکی است که عمدتاً به دلیل اختلال در گیرنده‌های انسولین یا کاهش انسولین ایجاد می‌شود و عوامل ژنتیکی و محیطی مختلفی در بروز این بیماری مؤثر هستند. این بیماری دارای عوارض مختلفی مانند بیماری‌های قلبی - عروقی، اختلال بینایی و نوروپاتی دیابتی می‌باشد. در نوروپاتی دیابتی، سرعت هدایت پیام‌های عصبی کاهش یافته و این کاهش سرعت، عدم پاسخ به‌موقع نسبت به محرک‌های آسیب‌زا را درپی دارد (۱). مطالعات نشان می‌دهد افزایش استرس اکسیداتیو، TNF-α، همچنین فعالیت آنزیم سیکلو اکسیژناز- ۲ نقش به‌سزایی در ایجاد عوارض ناشی از دیابت مانند پایین‌آمدن آستانه درد در نوروپاتی دیابتی دارد (۳،۲). در مطالعات مختلف، تأثیر عصاره گیاهانی مانند آویشن و خارخاسک بر درد نوروپاتی دیابتی مورد بررسی قرار گرفته است (۵،۴). عصاره گیاه آویشن می‌تواند با کاهش آپوپتوز و جلوگیری از آسیب نورون‌ها، درد نوروپاتی دیابتی را در موش‌های صحرایی دیابتی بهبود بخشد (۴). گیاه خارخاسک نیز با تأثیر بر سیتوکین‌های التهابی و رادیکال‌های آزاد باعث کاهش درد نوروپاتی دیابتی می‌شود (۵). ترکیبات فلاونوئیدی موجود در گیاهان دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده و رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهند (۶). در مطالعات مختلف، تأثیر مثبت ترکیبات فلاونوئیدی بر درد نوروپاتی دیابتی نشان داده شده است (۹-۷). کوئرستین، درد نوروپاتی را بهبود می‌بخشد که علت آن می‌تواند تأثیر این ترکیب فلاونوئیدی بر سیستم اوپیوئیدی باشد (۷). همچنین جنیستئین می‌تواند باعث کاهش رادیکال‌های آزاد و درد نوروپاتی دیابتی شود (۸). کورکومین و رسوراترول نیز با مهار TNF-α، درد نوروپاتی را در موش‌های سوری کاهش می‌دهند (۹).

درخت سنجد (*Elaeagnus angustifolia*)، درختی با میوه شیرین و قابض بوده که در طب سنتی از آن برای درمان بیماری‌هایی مانند تهوع، زردی، استفراغ، آسم و نفخ استفاده می‌شود (۱۰). در مطالعات مختلف گزارش شده است این گیاه دارای مواد مؤثره مختلفی شامل ترکیبات پلی‌فنولی، فلاونوئیدی، ترپنوئیدها و گلیکوزیدهای قلبی می‌باشد (۱۳-۱۱).

همچنین اثر مثبت این گیاه در بهبود درد و التهاب در موش‌های سالم نیز گزارش شده است (۱۲). در مطالعه‌ای مشخص گردید مصرف موضعی ژل حاوی عصاره آبی سنجد، لیکن پلان دهانی را بهبود می‌بخشد (۱۴). در مطالعه مهربانی نطنزی و همکاران نیز نشان داده شد عصاره آبی سنجد می‌تواند باعث ترمیم زخم پوستی در موش‌های صحرایی شود (۱۵). با توجه به اینکه ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنولی نقش مؤثری در بهبود درد در نوروپاتی دیابتی دارند و با توجه به‌وجود مقادیر زیادی از ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنولی در سنجد، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره آبی سنجد بر درد نوروپاتی دیابتی در موش‌های صحرایی انجام شد.

## روش بررسی

در این مطالعه تجربی پس از القای دیابت به موش‌های صحرایی در روز پنجم پس از تزریق، میزان قند خون آنها جهت اثبات دیابتی‌بودن اندازه‌گیری شد. روز تأیید دیابتی‌بودن حیوانات نیز روز صفر در نظر گرفته شد و گاواژ عصاره آبی سنجد به مدت ۳ هفته انجام گرفت. جهت بررسی نوروپاتی دیابتی از چهار آزمون (آلودینیای حرارتی و مکانیکی، هایپر آلژزیای حرارتی و آزمون فرمالین) در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ استفاده شد.

موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰ گرم به‌طور تصادفی در ۳ گروه ۸تایی به شرح زیر تقسیم‌بندی شدند:

۱- گروه کنترل مثبت (موش دیابتی)؛ ۲- گروه کنترل منفی (که هیچ مداخله‌ای روی آنها صورت نگرفت)؛ ۳- گروه دریافت‌کننده عصاره آبی سنجد (دوز ۲۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن).

در طول مطالعه، حیوانات از نظر دسترسی به آب و غذا آزاد بودند و در شرایط محیطی (دمای ۲۲-۲۰ درجه سانتیگراد، رطوبت ۶۰-۵۰٪ و سیکل روشنایی ۱۲ ساعته) نگهداری شدند. به‌منظور تهیه عصاره آبی، ابتدا سنجد مورد نیاز از فروشگاه‌های شهر کاشان خریداری و پس از بررسی و تأیید از نظر هرباریوم و سلامت، توسط کارشناس ارشد گیاه‌شناسی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی شرکت باریج اسانس، خرد و هسته آن جدا گردید.

Archive of SID


SID.ir

سپس آسیاب شده و پودر به‌دست‌آمده به همراه آب مقطر جوش با نسبت ۱ به ۱، به داخل ارلن مایر ریخته شد تا کاملاً خمیری شکل شود. پس از اینکه پودر آب کافی جذب کرد، مجدداً به آن آب جوش افزوده شد تا جایی‌که سطح آن با آب پوشیده شود. در مرحله بعد، به مدت ۷۲ ساعت در داخل روتاری در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد باقی ماند تا کاملاً مخلوط شده و عصاره آن خارج گردد. سپس عصاره آبی موجود در ارلن به‌وسیله کاغذ صافی، صاف شده و به‌منظور تغلیظ، محلول حاصل در دمای ۴۰ درجه قرار گرفت. در نهایت، مقدار ماده خشک عصاره تغلیظ‌شده اندازه‌گیری شد.

القای دیابت به‌وسیله تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (Sigma-Aldrich, USA) حل‌شده در بافر سیترات (با pH=۴/۵ به مقدار ۵۵ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) انجام شد. پس از ۵ روز، قند خون موش‌ها اندازه‌گیری شد و موش‌هایی که قند خونشان بیش از ۲۵۰ میلی‌گرم در هر دسی‌لیتر بود، دیابتی در نظر گرفته شدند. آزمون‌های رفتاری جهت بررسی درد نوروپاتی دیابتی در موش‌های صحرایی به‌وسیله چهار آزمون آلودینیای حرارتی و مکانیکی، هایپرآلژزیای حرارتی و آزمون فرمالین صورت گرفت.

**آلودینیای حرارتی:** جهت مشخص‌کردن حساسیت حیوان به آلودینیای حرارتی، از پاشیدن استون به کف پا استفاده می‌شود (۱۶). در این روش حیوان بر روی یک شبکه سیمی قرار گرفته و به‌وسیله یک سرنگ انسولین که به جای سوزن آن یک لوله باریک پلی‌پروپیلن قرار دارد، یک قطره استون به کف پای چپ حیوان پاشیده می‌شود. این آزمایش ۵ بار و هر بار به فاصله ۳ دقیقه انجام می‌گیرد. درصورتی‌که با پاشیده‌شدن استون حیوان پای خود را بلند کند، به‌عنوان پاسخ مثبت و در غیر این صورت، پاسخ منفی در نظر گرفته می‌شود. درصد پاسخ از طریق تعداد پاسخ مثبت حیوان نسبت به کل تعداد تحریک محاسبه می‌گردد.

**آلودینیای مکانیکی:** حیوانات بر روی یک شبکه سیمی و در داخل یک محفظه پلکسی‌گلاس (به ابعاد ۲۰×۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر) قرار گرفته و بعد از عادت کردن حیوان به محیط جدید، از تارهای مختلف von–Frey جهت سنجش آلودینیای مکانیکی استفاده می‌شود.

تارهای مورد استفاده در این آزمایش در محدوده ۶۰-۲ گرم (ساخت شرکت Stoelting, USA) قرار دارند. هر آزمایش را با تار دارای کمترین وزن شروع کرده و به ترتیب در صورت عدم پاسخ حیوان، تار با شماره بالاتر انتخاب می‌شود. هر تار، ۳ بار متوالی به فاصله ۵ ثانیه و هر بار به مدت یک ثانیه به کف پای حیوان فشار داده شده و در صورتی‌که ۲ بار متوالی پاسخ دهد (حیوان پای خود را بلند کند)، آستانه پاسخ به حساب می‌آید و بدین ترتیب آزمایش متوقف می‌شود. درصورتی‌که حیوان به تار شماره ۶۰ نیز پاسخ ندهد، عدد ۶۰ به‌عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته می‌شود (۱۷).

**هایپر آلژزیای حرارتی (Radiant Heat Plantar Test):** در این آزمایش از دستگاه Radiant Heat Plantar Test (ساخت UgoBassil, Italy) استفاده می‌شود. با استفاده از این دستگاه با تاباندن اشعه مادون‌قرمز از میان سطح پلکسی‌گلاس به کف پای سالم، میزان تحمل حیوان نسبت به محرک آسیب‌رسان حرارتی مورد سنجش قرار می‌گیرد. این روش توسط Hargreaves و همکاران معرفی شده است (۱۸). در این روش، بخش میانی کف پای حیوان در معرض اشعه قرار گرفته و زمان تأخیر در عقب‌کشیدن پا (Paw Withdrawal Latency, PWL) ثبت می‌گردد. تحریکات حرارتی سه مرتبه و با فواصل ۱۰-۵ دقیقه تکرار شده و نقطه برش آزمایش نیز ۲۲ ثانیه می‌باشد.

**آزمون فرمالین:** این آزمون یک روش استاندارد جهت اندازه‌گیری پاسخ‌های ایجادشده به محرک‌های دردزای شیمیایی بوده که اولین بار توسط Dubission & Dennis معرفی گردید (۱۹). در این آزمون، حیوان در یک جایگاه ویژه که شامل یک چهارپایه آلومینیومی است و روی آن یک صفحه شیشه‌ای قرار دارد، درون اتاقکی مستقر می‌شود. در زیر صفحه شیشه‌ای، آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه تعبیه شده که مشاهدات را آسان‌تر و دقیق‌تر می‌کند.

در مطالعه حاضر، قبل از هر آزمایش، برای سازگاری با محیط جدید، ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمون، حیوان درون جایگاه مشاهده قرار داده شد. سپس با گذاشتن حیوان در محفظه مقیدکننده (Restrainer)، مقدار ۵۰ میکرولیتر محلول فرمالین رقیق‌شده ۲/۵٪ با استفاده از سرنگ انسولین به زیر پوست

Archive of SID


www.SID.ir

کف پای چپ حیوان تزریق گردید. پس از تزریق فرمالین، حیوان بلافاصله به جایگاه مشاهده بازگردانده شد و به مدت ۶۰ دقیقه، پاسخهای حیوان به محرک‌های دردزا ثبت گردید. رفتارهای ناشی از درد به‌صورت قراردادی به شرح زیر امتیازدهی شد:

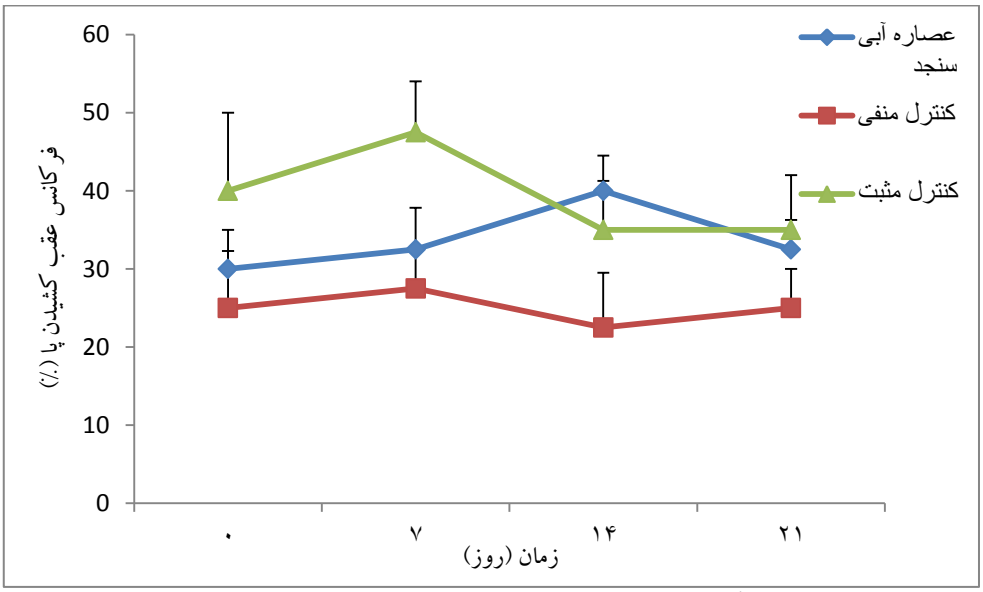
صفر: حیوان کف پای تزریق‌شده را روی زمین گذاشته و هیچ علامتی مبنی بر احساس درد را نشان نمی‌دهد؛ ۱: حیوان کف پای تزریق‌شده یا نوک انگشتان خود را با احتیاط روی زمین گذاشته، اما وزن خود را روی آن قرار نمی‌دهد؛ ۲: حیوان کاملاً پای تزریق‌شده را از زمین بلند کرده و بدون هیچ تماسی به زمین، نزدیک بدن خود قرار می‌دهد؛ ۳: حیوان علاوه بر بالا آوردن پای تزریق‌شده، شروع به تکان دادن، لیسیدن و یا گاز گرفتن آن می‌کند.

نتایج به‌صورت mean±SEM ارائه گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ و با آزمون واریانس دوطرفه و پس‌آزمون توکی تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری، $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

نتایج حاصل از آزمون آلودینیای حرارتی نشان داد در حیوانات گروه‌های تحت مطالعه در طول ۳ هفته، اختلاف معنی‌داری نسبت به فرکانس پس‌کشیدن پا وجود داشته است ($F_{۲و۲۱}=۴/۷۷۹$، $p<۰/۰۵$)، همچنین طبق پس‌آزمون توکی، بین گروه کنترل منفی و گروه کنترل مثبت، این اختلاف فرکانس معنی‌دار بود ($p=۰/۰۳۶$).

در این مطالعه، تجویز خوراکی عصاره آبی سنجد باعث بهبود درد نوروپاتی دیابتی در این آزمون شد ($p=۰/۰۳۶$)، به‌طوری‌که فرکانس پس‌کشیدن پا در این گروه بسیار نزدیک به گروه کنترل منفی بود ($p=۱$)(جدول و نمودار شماره ۱).




**نمودار شماره ۱: تأثیر عصاره آبی سنجد بر فرکانس پس‌کشیدن پا در آزمون آلودینیای حرارتی.**

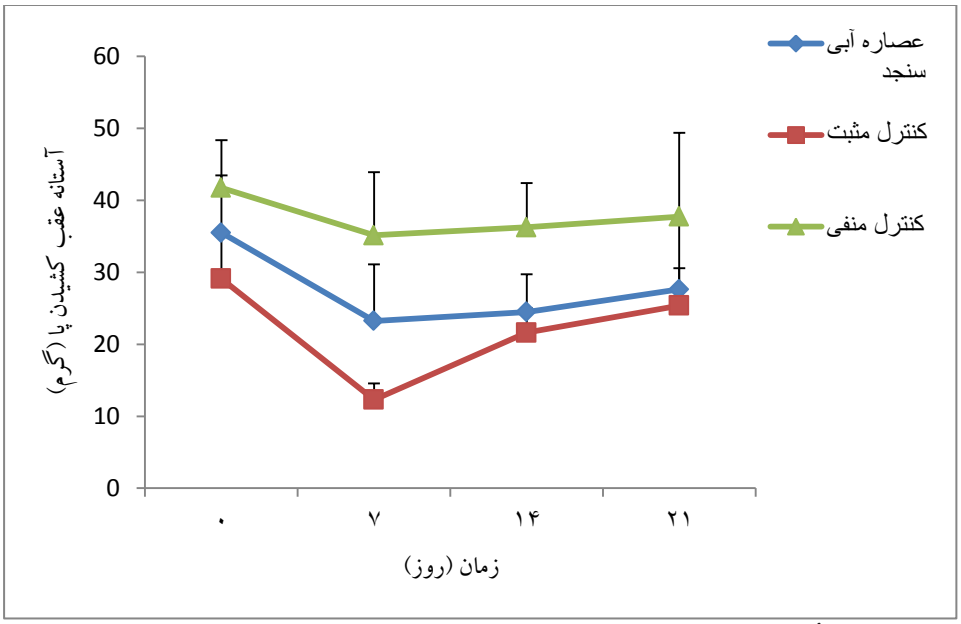
**داده‌ها به‌صورت mean±SEM نمایش داده شده‌اند. اختلاف فرکانس پس‌کشیدن پا بین گروه کنترل مثبت و سایر گروه‌ها معنی‌دار می‌باشد ($p=۰/۰۳۶$).**

**جدول شماره ۱: آزمون آلودینیای حرارتی در موش‌های صحرایی**

| | ۰ | ۷ | ۱۴ | ۲۱ |
|---|---|---|---|---|
| | میانگین ± انحراف معیار | میانگین ± انحراف معیار | میانگین ± انحراف معیار | میانگین ± انحراف معیار |
| **عصاره آبی سنجد** | ۳۰±۵ | ۳۲/۵±۵/۳۴ | ۴۰±۴/۵۳ | ۳۲/۵±۳/۷۷ |
| **کنترل منفی** | ۲۵±۷/۳۱ | ۲۷/۵±۵ | ۲۲/۵±۷ | ۲۵±۵ |
| **کنترل مثبت** | ۴۰±۱۰ | ۴۷/۵±۶/۵۴ | ۳۵±۶/۲۶ | ۳۵±۷ |


www.SID.ir

در آزمون آلودینیای مکانیکی، آستانه پاسخ حیوانات نسبت به تحریک مکانیکی به تارهای Von-Frey، بین گروه‌های مورد مطالعه قابل‌توجه بود ($F_{2,21}$=۶/۱۷۴، p<۰/۰۵). همچنین آستانه پاسخ حیوانات گروه کنترل مثبت نسبت به گروه کنترل منفی، کاهش قابل‌توجهی داشت (p=۰/۰۲۳)، درحالی‌که با تجویز خوراکی عصاره آبی سنجد، افزایش قابل‌توجهی در آستانه پاسخ حیوانات نسبت به گروه کنترل مثبت مشاهده گردید (p=۰/۰۱۲) (جدول و نمودار شماره ۲).



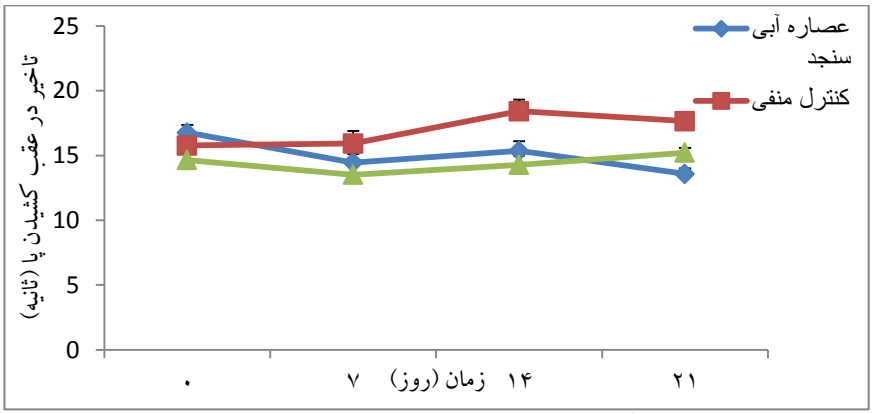

**نمودار شماره ۲: تأثیر عصاره آبی سنجد در پاسخ به تحریک ناشی از تماس von–Frey در آزمون آلودینیای مکانیکی.**
**داده‌ها به‌صورت mean±SEM نمایش داده شده‌اند. اختلاف آستانه پاسخ حیوانات گروه کنترل مثبت با گروه کنترل منفی و گروه دریافت‌کننده عصاره به ترتیب برابر با p=۰/۰۲۳ و p=۰/۰۱۲ می‌باشد.**

**جدول شماره ۲: آزمون آلودینیای مکانیکی در موش‌های صحرایی**

| | ۰ | ۷ | ۱٤ | ۲۱ |
|---|---|---|---|---|
| | میانگین ± انحراف معیار | میانگین ± انحراف معیار | میانگین ± انحراف معیار | میانگین ± انحراف معیار |
| عصاره آبی سنجد | ۳۵/۵±۷/۹۵ | ۲۳/۲۵±۷/۸۴ | ۲۴/۵±۵/۲ | ۲۷/۶۲±۹/۶۷ |
| کنترل مثبت | ۲۹/۱۲±۶/۶۶ | ۱۲/۳±۲/۲۶ | ۲۱/۶۲±۳/۴۴ | ۲۵/۳۷±۵/۱۷ |
| کنترل منفی | ۴۱/۷۵/±۶/۶۳ | ۳۵/۱۴±۸/۷۵ | ۳۶/۲۵±۶/۱۳ | ۳۷/۷۵±۱۱/۶۲ |

بررسی یافته‌های حاصل از زمان عقب کشیدن پا در برابر اشعه مادون قرمز ناشی از دستگاه Radiant Heat Plantar نشان داد در پاسخ حیوانات نسبت به این حرارت، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مطالعه وجود داشته است ($F_{2,21}$=۹/۷۲۵، p<۰/۰۵). طبق پس‌آزمون توکی نیز، اختلاف بین گروه کنترل مثبت و گروه کنترل منفی در زمان عقب کشیدن پا، معنی‌دار بود (p=۰/۰۰۱). این زمان در حیوانات گروه دریافت‌کننده عصاره آبی سنجد در مقایسه با گروه کنترل مثبت، قابل‌توجه می‌باشد (p=۰/۰۱۱) (جدول و نمودار شماره ۳).


www.SID.ir

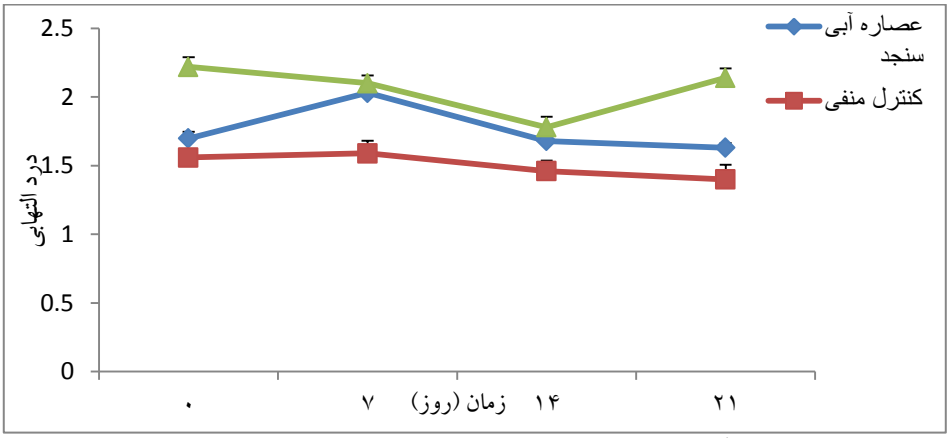



**نمودار شماره ۳: بررسی تأثیر دریافت عصاره آبی سنجد نسبت به تحریک ناشی از Radiant Heat در آزمون هایپرآلژزیای حرارتی. داده‌ها به‌صورت mean±SEM نمایش داده شده‌اند.**
**اختلاف زمان عقب کشیدن پای حیوانات گروه کنترل مثبت در مقایسه با حیوانات گروه کنترل منفی و دریافت‌کننده عصاره آبی سنجد به ترتیب برابر p=۰/۰۰۱ و p=۰/۰۱۱ می‌باشد.**

**جدول شماره ۳: آزمون هایپرآلژزیای حرارتی در موش‌های صحرایی**

| | ۰ | ۷ | ۱٤ | ۲۱ |
|---|---|---|---|---|
| | میانگین ± انحراف معیار | میانگین ± انحراف معیار | میانگین ± انحراف معیار | میانگین ± انحراف معیار |
| عصاره آبی سنجد | ۱۶/۷۶±۰/۴۲ | ۱۴/۴۵±۰/۷۵ | ۱۵/۳۵±۰/۶۶ | ۱۳/۵۸±۰/۶۱ |
| کنترل منفی | ۱۵/۷۷/±۱/۰۲ | ۱۵/۹۳±۰/۹۷ | ۱۸/۴۲±۰/۸۸ | ۱۷/۶۵±۰/۳۷ |
| کنترل مثبت | ۱۴/۵۶±۱/۰۴ | ۱۳/۵۱±۰/۸۴ | ۱۴/۲۸±۰/۷۱ | ۱۵/۲۲±۰/۳۵ |

بررسی داده‌های حاصل از آزمون فرمالین نشان داد اختلاف معنی‌داری در حس درد ناشی از تزریق فرمالین بین هر سه گروه مورد مطالعه وجود دارد ($F_{۲,۲۱}$=۶۱/۶۸۸، p<۰/۰۵). با استفاده از پس‌آزمون توکی مشخص گردید اختلاف درد ناشی از تزریق فرمالین بین گروه کنترل مثبت با گروه کنترل منفی و گروه دریافت‌کننده عصاره برابر با p<۰/۰۰۰۱ می‌باشد (جدول و نمودار شماره ۴).




**نمودار شماره ٤: بررسی تأثیر دریافت عصاره آبی سنجد نسبت به درد ناشی از تزریق فرمالین در آزمون فرمالین.**
**اختلاف درد ناشی از تزریق فرمالین بین گروه کنترل مثبت با کنترل منفی و گروه دریافت‌کننده عصاره برابر با p=۰/۰۰۱ می‌باشد.**

**جدول شماره ٤: آزمون فرمالین در موش‌های صحرایی**

| | ۰ | ۷ | ۱٤ | ۲۱ |
|---|---|---|---|---|
| | میانگین ± انحراف معیار | میانگین ± انحراف معیار | میانگین ± انحراف معیار | میانگین ± انحراف معیار |
| عصاره آبی سنجد | ۱/۶۹±۰/۰۴ | ۲/۰۳±۰/۰۳ | ۱/۶۸±۰/۰۷ | ۱/۶۳±۰/۰۳ |
| کنترل منفی | ۱/۵۶/±۰/۰۶ | ۱/۵۹±۰/۰۹ | ۱/۴۶±۰/۰۷ | ۱/۴±۰/۱ |
| کنترل مثبت | ۲/۲۲±۰/۰۶ | ۲/۱±۰/۰۵ | ۱/۷۸±۰/۰۷ | ۲/۱۴±۰/۰۶ |


www.SID.ir

## بحث

نتایج این مطالعه نشان داد تجویز عصاره آبی سنجد (دوز ۲۰۰ میلی‌گرم) باعث بهبود درد نوروپاتی دیابتی در هر چهار آزمون آلودینیای حرارتی، آلودینیای مکانیکی، هایپر آلژزیای حرارتی و آزمون فرمالین می‌شود. در مطالعات قبلی نیز اثر ضددردی عصاره آبی سنجد در موش‌های صحرایی سالم با استفاده از آزمون‌های فرمالین و غوطه‌وری دم نشان داده شده است (۲۰،۱۲). در گزارشها آمده است فعالیت آنزیم سیکلو اکسیژناز- ۲، افزایش رادیکال‌های آزاد و سیتوکین‌های التهابی مانند TNF-α و IL-6 باعث ایجاد درد نوروپاتی دیابتی می‌شود (۳،۲). همچنین ترکیبات فلاونوئیدی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند (۶)، و ترکیب فلاونوئیدی پلارگونیدین با کاهش رادیکال‌های آزاد باعث کاهش درد نوروپاتی در موش‌های صحرایی می‌شود (۲۱). کورکومین نیز در مهار رادیکال‌های آزاد در موش‌های صحرایی دیابتی نقش دارد (۲۲). در مطالعه‌ای مشخص گردید رسوراترول می‌تواند با کاهش رادیکال‌های آزاد از آسیب نورونی در بیماری دیابت جلوگیری کند (۲۳). به‌علاوه، در مطالعه‌ای نشان داده شد پلی‌فنول‌های گردو باعث مهار رادیکال‌های آزاد در موش‌های سوری دیابتی می‌شود (۲۴). گزارش شده است مهار آنزیم سیکلو اکسیژناز- ۲ می‌تواند در بهبود نوروپاتی دیابتی مؤثر باشد (۲۵). در مطالعه‌ای ثابت گردید ترکیبات فلاونوئیدی باعث کاهش آنزیم سیکلو اکسیژناز- ۲ می‌شوند (۲۶). رزماریک اسید و آپیجنین نیز آنزیم سیکلو اکسیژناز- ۲ را مهار می‌کنند (۲۷). در مطالعه Lee و همکاران نشان داده شد پلی‌فنول‌های موجود در کاکائو باعث مهار این آنزیم می‌شوند (۲۸). همچنین در مطالعات دیگری ثابت گردید پلی‌فنول‌های چای سبز و سیاه باعث مهار آنزیم سیکلو اکسیژناز می‌شود (۳۰،۲۹). در تحقیقات مختلف نشان داده شده است یکی از مکانیسم‌های دیگر که ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنولی از طریق آن می‌توانند باعث بهبود درد نوروپاتی دیابتی شوند، مهار سیتوکین‌های التهابی می‌باشد. ترکیب فلاونوئیدی رسوراترول، سیتوکین‌های التهابی مانند TNF-α و IL-6 را کاهش داده و باعث بهبود درد نوروپاتی دیابتی در موش‌های صحرایی می‌شود (۳۱). همچنین در یک مطالعه دیگر مشخص گردید کورکومین و رسوراترول، با مهار TNF-α، درد نوروپاتی را در موش‌های سوری کاهش می‌دهند (۹). در مطالعه Xie و همکاران نیز نشان داده شد فلاونوئید ولوتین باعث کاهش TNF-α و IL-6 می‌شوند (۳۲). ثابت شده است الاگیک اسید که یک ترکیب پلی‌فنولی است در مهار فاکتورهای التهابی نقش دارد (۳۳). بنابراین، با توجه به اینکه در مطالعات مختلف اثبات شده است ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنولی می‌توانند با مهار آنزیم سیکلو اکسیژناز- ۲، کاهش رادیکال‌های آزاد و کاهش سیتوکین‌های التهابی باعث بهبود درد نوروپاتی دیابتی شوند، لذا علت تأثیر مثبت عصاره آبی سنجد بر درد نوروپاتی دیابتی را می‌توان به‌وجود مقادیر زیادی از ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنولی در عصاره این گیاه نسبت داد.

## نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد عصاره آبی سنجد، درد نوروپاتی دیابتی را در موش‌های صحرایی دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین بهبود می‌بخشد که علت آن می‌تواند مهار رادیکال‌های آزاد، آنزیم سیکلو اکسیژناز- ۲ و سیتوکین‌های التهابی باشد.

## تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی کاشان (با کد ۹۲۰۸۶) می‌باشد. بدین وسیله نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی این دانشگاه به دلیل همکاری و حمایت‌های مالی، کمال تشکر و قدردانی را به عمل می‌آورند.

Archive of SID


www.SID.ir

## References:


1. Forbes JM, Cooper ME. Mechanisms of diabetic complications. Physiol Rev 2013;93(1):137-88.

2. Kandhare AD, Raygude KS, Ghosh P, Ghule AE, Bodhankar SL. Neuroprotective effect of naringin by modulation of endogenous biomarkers in streptozotocin induced painful diabetic neuropathy. Fitoterapia 2012;83(4):650-9.

3. Kellogg AP, Pop-Busui R. Peripheral nerve dysfunction in experimental diabetes is mediated by cyclooxygenase-2 and oxidative stress. Antioxid Redox Signal 2005;7(11-12):1521-9.

4. Hajializadeh Z, Nasri S, Kaeidi A, Sheibani V, Rasoulian B, Esmaeili-Mahani S. Inhibitory effect of Thymus caramanicus Jalas on hyperglycemia-induced apoptosis in in vitro and< i> in vivo models of diabetic neuropathic pain. J Ethnopharmacol 2014;153(3):596-603.

5. Ranjithkumar R, Prathab Balaji S, Balaji B, Ramesh R, Ramanathan M. Standardized aqueous tribulus terristris (Nerunjil) extract attenuates hyperalgesia in experimentally induced diabetic neuropathic pain model: Role of oxidative stress and inflammatory mediators. Phytotherapy Res 2013;27(11):1646-57.

6. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. J Ntur Prod 2000;63(7):1035-42.

7. Anjaneyulu M, Chopra K. Quercetin, a bioflavonoid, attenuates thermal hyperalgesia in a mouse model of diabetic neuropathic pain. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2003;27(6):1001-5.

8. Valsecchi AE, Franchi S, Panerai AE, Rossi A, Sacerdote P, Colleoni M. The soy isoflavone genistein reverses oxidative and inflammatory state, neuropathic pain, neurotrophic and vasculature deficits in diabetes mouse model. Europ J Pharmacol 2011;650(2-3):694-702.

9. Sharma S, Chopra K, Kulkarni SK. Effect of insulin and its combination with resveratrol or curcumin in attenuation of diabetic neuropathic pain: Participation of nitric oxide and TNF-alpha. Phytother Res 2007;21(3):278-83.

10. Mirhydar H. Encyclopedia of plants: Indications of plants in the prevention and treatment of diseases. Tehran: Islamic Farhang; 1998. p. 163-4. (Vol. 2)

11. Hosseinzadeh H, Ramezani M, Namjo N. Muscle relaxant activity of Elaeagnus angustifolia L. fruit seeds in mice. J Ethnopharmacol 2003;84(2-3):275-8.

12. Ahmadiani A, Hosseiny J, Semnanian S, Javan M, Saeedi F, Kamalinejad M, et al. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of elaeagnus angustifolia fruit extract. J Ethnopharmacol 2000;72(1-2):287-92.

13. Ayaz FA, Bertoft E. Sugar and phenolic acid composition of stored commercial oleaster fruits. J Food Compos Analysis 2001;14(5):505-11.

14. Beigom Taheri J, Anbari F, Maleki Z, Boostani S, Zarghi A, Pouralibaba F. Efficacy of Elaeagnus angustifolia topical gel in the treatment of symptomaticoral lichen planus. J Dental Res Dental Clinics Dental Prospects 2010;4(1):29-32.

15. Mehrabani Natanzi M, Pasalar P, Kamalinejad M, Dehpour AR, Tavangar SM, Sharifi R, et al. Effect of aqueous extract of Elaeagnus angustifolia fruit on experimentalcutaneous wound healing in rats. Acta Med Iran 2012;50(9):589-96.

16. Choi Y, Yoon YW, Na HS, Kim SH, Chung JM. Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. Pain 1994;59(3):369-76.

17. Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. J Neurosci Methods 1994;53(1):55-63.

18. Hargreaves K, Dubner R, Brown F, Flores C, Joris J. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. Pain 1988;32(1):77-88.


Archive of SID


www.SID.ir

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(2):161-74.

20. Ramezani M, Hosseinzadeh H, Daneshmand N. Antinociceptive effect of Elaeagnus angustifolia fruit seeds in mice. Fitoterapia 2001;72(3):255-62.

21. Mirshekar M, Roghani M, Khalili M, Baluchnejadmojarad T, Arab Moazzen S. Chronic oral pelargonidin alleviates streptozotocin-induced diabetic neuropathic hyperalgesia in rat: Involvement of oxidative stress. Iran Biomed J 2010;14(1-2):33-9.

22. Suryanarayana P, Satyanarayana A, Balakrishna N, Kumar PU, Reddy GB. Effect of turmeric and curcuminon oxidative stress and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat. Med Sci Monit 2007;13(12):BR286-BR92.

23. Ates O, Cayli SR, Yucel N, Altinoz E, Kocak A, Durak MA, et al. Central nervous system protection by resveratrol in streptozotocin-induced diabetic rats. J Clin Neurosci 2007;14(3):256-60.

24. Fukuda T, Ito H, Yoshida T. Effect of the walnut polyphenol fraction on oxidative stress in type 2 diabetes mice. Biofactors 2004;21(1):251-3.

25. Freshwater JD, Svensson CI, Malmberg AB, Calcutt NA. Elevated spinal cyclooxygenase and prostaglandin release during hyperalgesia in diabetic rats. Diabetes 2002;51(7):2249-55.

26. Raso GM, Meli R, Di Carlo G, Pacilio M, Di Carlo R. Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by flavonoids in macrophage J774A. 1. Life Sci 2001;68(8):921-31.

27. Kelm M, Nair MG, Strasburg GM, DeWitt D. Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory phenolic compounds from Ocimum sanctum Linn. Phytomedicine 2000;7(1):7-13.

28. Lee KW, Kundu JK, Kim SO, Chun KS, Lee HJ, Surh YJ. Cocoa polyphenols inhibit phorbol ester-induced superoxide anion formation in cultured HL-60 cells and expression of cyclooxygenase-2 and activation of NF-κB and MAPKsin mouse skin in vivo. J Nutr 2006;136(5):1150-5.

29. Hong J, Smith TJ, Ho CT, August DA, Yang CS. Effects of purified green and black tea polyphenols on cyclooxygenase-and lipoxygenase-dependent metabolism of arachidonic acid in humancolon mucosa and colon tumor tissues. Biochem Pharmacol 2001;62(9):1175-83.

30. Ahmed S, Rahman A, Hasnain A, Lalonde M, Goldberg VM, Haqqi TM. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits the IL-1β-induced activity and expression ofcyclooxygenase-2 and nitric oxide synthase-2 in human chondrocytes. Free Radic Biol Med 2002;33(8):1097-105.

31. Kumar A, Sharma SS. NF-κB inhibitory action of resveratrol: A probable mechanism of neuroprotection in experimental diabetic neuropathy. Biochem Biophy Res Commun 2010;394(2):360-5.

32. Xie C, Kang J, Li Z, Schauss AG, Badger TM, Nagarajan S, et al. The açaí flavonoid velutin is a potent anti-inflammatory agent: Blockade of LPS-mediated TNF-α and IL-6 production through inhibiting NF-κB activation and MAPK pathway. J Nutr Biochem 2012;23(9):1184-91.

33. Umesalma S, Sudhandiran G. Differential inhibitory effects of the polyphenol ellagic acid on inflammatory mediators NF-κB, iNOS, COX-2, TNF-α, and IL-6 in 1, 2-Dimethylhydrazine-Induced rat colon carcinogenesis. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2010;107(2):650-5.

Archive of SID



www.SID.ir

# *The effect of Aqueous Extract of Elaeagnus angustifolia on Diabetic Neuropathic Pain in Streptozotocin-induced Diabetic Rats*

***Omid Reza Tamtaji[1]; Sayed Alireza Talaei[2]; Mohsen Taghizadeh[3*]***

*[1]Bachelor of Sciences in Public Health; Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.*

*[2]PhD Student of Neuroscience, Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.*

*[3]Associate Professor of Nutrition Sciences, Research Center for Biochemistry & Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.*

[*]***Corresponding Author:***
**Mohsen Taghizadeh,**
Research Center for Biochemistry & Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.

Email:
taghizadeh_m@kaums.ac.ir

Received: 20 Jul, 2014

Accepted: 29 Nov, 2014

***Abstract***

***Background and Objectives:*** One of the common complications of diabetes is nervous system disorder and diabetic neuropathy. In various studies, it has been reported that flavonoid and polyphenolic compounds of plants improve diabetic neuropathy. Due to the presence of large amounts of these compounds in *Elaeagnus angustifolia* fruit, this study was performed with the aim of investigating the effect of aqueous extract of *Elaeagnus angustifolia* on diabetic neuropathic pain in streptozotocin-induced diabetic rats.

***Methods:*** This experimental study was performed on 24 male Wistar rats. The rats were divided into 3 groups of 8 each: negative control group (without any intervention), positive control group (diabetic), and group received the extract (at dose of 200 mg/kg/day). After induction of diabetes, the aqueous extract was administered orally for 3 weeks. Thermal allodynia, mechanical allodynia, hyperalgesia, and formalin tests were used for evaluating diabetic neuropathic pain on days 0, 7, 14, and 21 after injection of Streptozotocin. The data were analyzed by two-way ANOVA and Tukey's post hoc test. The level of significance was considered at $p<0.05$.

***Results:*** The difference of pain between negative and positive controls and diabetic control was significant in thermal allodynia ($p=0.036$), mechanical allodynia ($p=0.023$), thermal hyperalgesia ($p=0.001$), and formalin ($p<0.0001$) tests. Administration of aqueous extract of *Elaeagnus angustifolia* improved diabetic neuropathic pain compared to positive control group in thermal allodynia ($p=0.036$), mechanical allodynia ($p=0.012$), hyperalgesia ($p=0.011$), and formalin ($p<0.0001$) tests.

***Conclusion:*** According to the results of this study, aqueous extract of *Elaeagnus angustifolia* improves diabetic neuropathic pain in streptozotocin-induced diabetic rats.

***Keywords:*** *Elaeagnus*; Diabetic neuralgia; Hyperalgesia; Pain measurement; Streptozotocin.

www.SID.ir