

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

نویسندگان: اورانوس پوردهنده^۱، سیما نصری^۱، مهرداد روغنی^{۲*}، پروین صالحی^۱، توراندخت بلوچ نژاد مجرد^۳

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

E-mail: mehjour@yahoo.com

* نویسنده مسئول: دکتر مهرداد روغنی

چکیده

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

مواد و روش‌ها: موش‌ها به گروه‌های کنترل، کنترل تحت تیمار با دوز بالای تیموکینون، دیابتی، کنترل و دیابتی دریافت‌کننده سدیم سالیسیلات، دیابتی و دیابتی‌های تیمار شده 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 کاهش داد ($p < 0/01$). به‌علاوه، تجویز تیموکینون به موش‌های دیابتی یک کاهش معنی‌دار در مدت زمان تأخیر در بیرون کشیدن دم در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نکرد؛ همچنین، تیموکینون میزان مالون دی‌آلدئید را در سرم موش‌های دیابتی به‌طور معنی‌دار کاهش داد ($p < 0/05$)

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 تأثیر ندارد و بخشی از این اثر از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در نواحی محیطی بدن به‌انجام می‌رسد.

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 و ۲). 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 و ۴). بروز هیپرگلیسمی با اعمال اثرهای سمی روی سیستم عصبی محیطی، یکی از علل بروز نوروپاتی دردناک است (۵ و ۶). 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 به-ویژه در حالت دیابت قندی یافت نمی‌شود، توجه محققان به ترکیب‌های طبیعی مشتق از گیاهان دارویی معطوف شده است (۷)؛ در این خصوص، تیموکینون ترکیبی فیتوشیمیایی است که در گیاه سیاهدانه یافت می‌شود 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 آنتی-اکسیدانتی (۱۰)، ضدالتهابی (۱۱) و ضدسرطان (۹) بوده، اثر ضددیابتی آن (کاهش گلوکز خون) پیش‌تر مورد تأیید قرار گرفته است (۱۲ و ۱۳)؛ در این خصوص، تجویز تیموکینون حتی می‌تواند موجب بهبود عملکرد سلول‌های بتای مترشحه انسولین و بازسازی جزائر لانگرهانس بشود (۱۲). نتایج مطالعات انجام‌شده نشان-می‌دهند که تیموکینون، پراکسیداسیون لیپیدی غیرآنزیمی را مهار می‌کند و دارای خاصیت حذف‌کنندگی رادیکال-های آزاد اکسیژن است (۱۴)؛ همچنین نشان‌داده‌شده که تیموکینون 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 جلوگیری کرده و بدین ترتیب، اثر ضدالتهابی خود را ایجاد کند (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 گزارش شده است، تاکنون هیچ‌گونه گزارشی دربارهٔ اثر ضددردی تیموکینون مشتق از آن در حالت دیابت یافت نشده، لذا در این تحقیق برای اولین بار، 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 استفاده شد. حیوانات در دمای ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های سه یا چهارتایی در هر قفس قرارداد شدند. حیوانات آزادانه به آب لوله-کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) دسترسی داشتند در این بررسی از آن دسته موش‌های صحرایی نر استفاده شد که میزان گلوکز سرم آنها کمتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود؛ در این خصوص از شبکه تر و اوریتال و لوله موئینه برای خون-گیری استفاده شد. 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 حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. سدیم سالیسیلات ۱ (یک) ساعت پیش از انجام آزمون فرمالین به میزان ۲۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی به حیوانات

آزمون غوطه‌ورکردن دم در آب داغ کورتیکس و همکاران (۲۰) این آزمون را به روش توصیف‌شده انجام دادند؛ برای انجام این کار حیوان به مدت ۱۵ دقیقه در داخل محفظه محدودکننده موش، تحت شرایط استاندارد آزمایشگاه قرار گرفته، سپس دم حیوان در داخل آب داغ در دمای ۴۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و میزان تأخیر در بیرون کشیدن دم از آب با استفاده از زمان سنج اندازه‌گیری شد. هر آزمایش روی هر حیوان چهار مرتبه با فاصله زمانی ۵ دقیقه تکرار و در-نهایت، میانگین داده درباره هر موش ثبت شد. زمان قطع آزمایش در صورت بیرون کشیدن دم نیز ۳۰ ثانیه در-نظر گرفته شد.

سنجش مالون دی‌آلدئید سرم در پایان کار، یک نمونه خون از شبکه رترورایتال تحت بیهوشی ملایم گرفته، پس از جداسازی سرم، اندازه‌گیری شاخص پراکسیداسیون لیپیدی (مالون دی-آلدئید) درباره آن انجام شد. اندازه‌گیری سطح مالون دی-آلدئید (MDA) طبق روشی است که اساس آن، واکنش تیوباربتوریک اسید TBA است که در دمای جوش انجام می‌گیرد؛ در این آزمایش، مالون دی‌آلدئید یا مواد شبه‌مالون دی‌آلدئید با تیوباربتوریک اسید واکنش داده، رنگ صورتی ایجاد می‌کند 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 انجام شد. بعد از سرد کردن نمونه، محلول‌ها در دور ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده، جذب نوری آنها در طول موج ۵۳۲ نانومتر در دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد؛ منحنی استاندارد نیز براساس رقت‌های مختلف ترا اتوکسی پروپان تهیه شد و جذب‌های نوری به دست آمده از نمونه‌ها روی منحنی استاندارد تطبیق داده شد و نتایج به صورت میزان مالون دی‌آلدئید به‌ازاء حجم سرم گزارش شد.

آنالیز آماری

تمام داده‌ها در بررسی حاضر به صورت $\text{Mean} \pm \text{S.E.M.}$ بیان شده‌اند. برای آنالیز آماری درباره نتایج وزن

تزریق شد؛ یک هفته پس از تزریق، برای اطمینان از دیابتی‌بودن حیوانات، قند ادرار با نوار ادراری (شرکت گلوکو یاب، تهران) کنترل شد و فقط حیوانات دیابتی-شده به مرحله بعدی برای شروع تیمار راه یافتند. 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، اندازه‌گیری شد.

آزمون فرمالین

این آزمون در پایان هفته ششم به‌انجام رسید. از نظر زمانی، آزمون فرمالین درباره تمام موش‌ها در میان ساعات ۱۲ تا ۱۷ و دو تا سه روز پس از انجام آزمون غوطه‌ورکردن دم در آب داغ انجام پذیرفت؛ برای انجام آن نیز از روش متداول دایسون و دنیس استفاده شد (۱۹)؛ بدین ترتیب که حیوان در محفظه‌ای از جنس پلکسی گلاس (۴۰ × ۴۰ × ۴۰ سانتی‌متر) تحت شرایط آرام قرار گرفته، 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 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 به‌طور کامل از سطح محفظه بلند می‌کند؛ ۳ - حیوان پنجه تزریق شده را از شدت درد می‌لیسد، گاز می‌گیرد یا به‌شدت تکان می‌دهد. ثبت پاسخ‌های رفتاری در اینتروال‌های ۱۵ ثانیه‌ای بلافاصله پس از تزریق فرمالین آغاز و تا دقیقه ۶۰ ادامه یافت. در این خصوص، پاسخ در هر اینتروال 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 در هر اینتروال به‌دست آمد. 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 در نظر گرفته شد.

و گلوکز از آزمون آنووا با اندازه‌گیری مکرر استفاده شد؛ در خصوص نتایج درد و پراکسیداسیون لیپیدی نیز آزمون آنووی یک‌طرفه و آزمون توکی به‌کاررفت؛ به-علاوه، $p < 0/05$ به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از نظر وزن، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار میان گروه‌ها در هفته قبل از کار (سطح پایه) مشاهده نشد. 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 نشان داد؛ هرچند این افزایش کمتر بود. در گروه دیابتی نیز در هفته ششم، کاهش معنی‌دار در مقایسه با هفته قبل از بررسی ($p < 0/01$) مشاهده شد؛ از-طرف دیگر، 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 ($p < 0/05$) و میزان وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با تیموکینون کاهش کمتر را نشان داد (نمودار ۱).

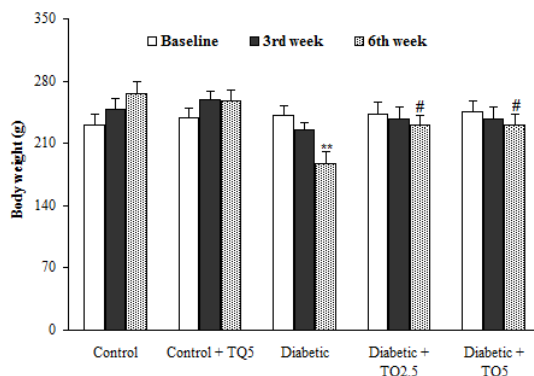
در خصوص میزان گلوکز سرم، در هفته پیش از بررسی، تفاوتی معنی‌دار، میان گروه‌ها یافت نشد، در هفته‌های سوم و ششم، میزان گلوکز سرم در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با تیموکینون در حد معنی‌دار ($p < 0/0005$) تا ($p < 0/05$) بیشتر از گروه کنترل بود؛ هرچند که در گروه دیابتی تحت درمان با دوز پایین و بالای تیموکینون میزان گلوکز سرم به‌طور معنی‌دار در پایان هفته‌های سوم و ششم از گروه دیابتی درمان‌نشده کمتر بود ($p < 0/01$) تا ($p < 0/0005$)؛ به‌علاوه، گروه کنترل تحت تیمار با دوز بالای تیموکینون کاهش معنی‌دار این پارامتر را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ($p < 0/05$) (نمودار ۲).

در آزمون فرمالین (نمودار ۳)، تزریق کف‌پایی فرمالین یک پاسخ بارز دوفازی را در تمام گروه‌ها ایجاد کند. هیپرآلژزی ظاهر شده به دنبال تزریق کف‌پایی فرمالین در موش‌های دیابتی درمان‌نشده، فقط در مرحله حاد به‌طور معنی‌دار بیشتر از گروه کنترل بود ($p < 0/05$)؛ به‌علاوه تجویز سدیم سالیسیلات به موش‌های گروه دیابتی موجب کاهش معنی‌دار نمره درد فقط در مرحله

دوم آزمون فرمالین در مقایسه با گروه‌های دیابتی تیمار-نشده شد ($p < 0/01$)؛ از طرف دیگر، درمان با تیموکینون به مدت 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 سبب شد ($p < 0/05$)؛ همچنین، تجویز تیموکینون به موش‌های نرمال، موجب کاهش معنی‌دار شدت درد در مرحله مزمن این آزمون شد ($p < 0/05$).

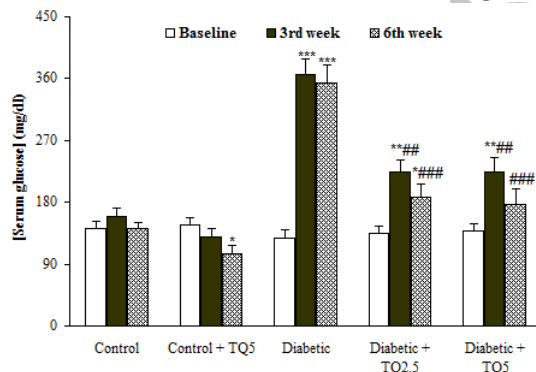
درباره آزمون غوطه‌کردن دم در آب داغ که برای سنجش آستانه درد حرارتی کاربرد دارد (نمودار ۴) در گروه دیابتی، کاهش معنی‌دار در مدت زمان تأخیر در بیرون کشیدن دم در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0/05$) که خود از بروز هیپرآلژزی حرارتی در موش‌های دیابتی شش هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین حاکی است؛ به‌علاوه 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 ایجاد کرد.

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 کاهش مختصر و غیرمعنادار را نسبت به گروه کنترل نشان-می‌دهد. در گروه دیابتی در هفته ششم سطح مالون دی-آلدئید، افزایشی قابل ملاحظه و معنی‌دار را نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p < 0/05$) و در گروه دیابتی تحت تیمار با تیموکینون در دوز بالا میزان افزایش مالون دی‌آلدئید نسبت به گروه دیابتی کمتر بود به طوری که در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای این ماده، سطح مالون دی‌آلدئید در هفته ششم به‌طور معناداری از گروه دیابتی تیمارنشده، کمتر بود ($p < 0/05$) (نمودار ۵).



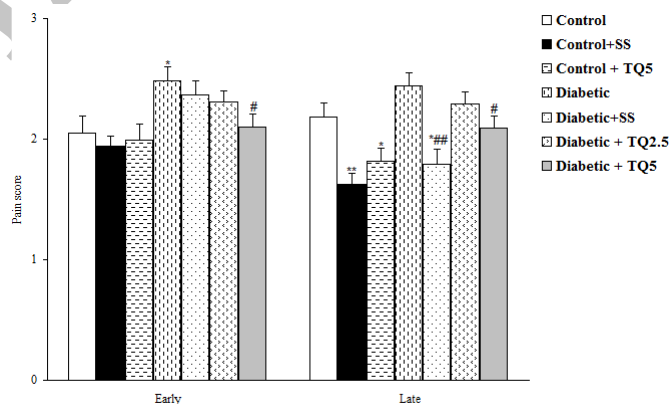
نمودار ۱. تغییرهای وزن بدن در زمان‌های مختلف در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با تیموکینون در دو دوز ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم

** $p < 0.01$ (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)، # $p < 0.05$ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)



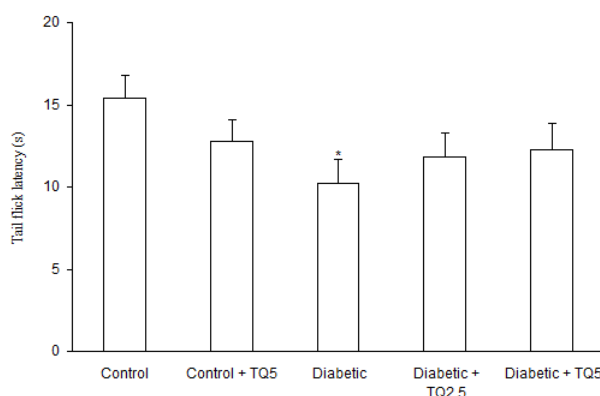
نمودار ۲. تغییرهای گلوکز سرم در زمان‌های مختلف در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار با تیموکینون در دو دوز ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.005$ (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)، ## $p < 0.01$, ### $p < 0.005$ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)

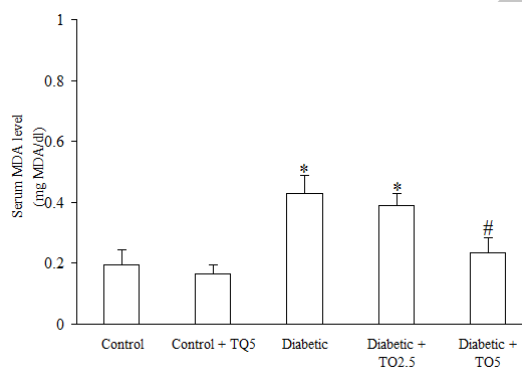


نمودار ۳. شدت درد در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار با تیموکینون در دو دوز ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و یا دریافت‌کننده سدیم سالیسیلات

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (در مقایسه با گروه کنترل در همان مرحله)، # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان مرحله)



نمودار ۴. مدت زمان تأخیر در بیرون کشیدن دم از آب داغ در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار با تیموکینون در دو دوز ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($p < 0.05$ * (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 ($p < 0.05$ * (در مقایسه با گروه کنترل)، # $p < 0.05$ (در مقایسه با گروه دیابتی)

فرمالین به دنبال تجویز محرک‌های شیمیایی به داخل پنجه پا پس از گذشت دست کم سه تا چهار هفته نشان می‌دهند که خود بر وجود مکانیسم‌های غیرنرمال و متعدد در پردازش سیگنال‌های محیطی درد دلالت دارد (۲۰ و ۲۱). پیش‌تر، وجود هیپرالژزی مکانیکی به‌عنوان اولین نشانگان نوروپاتی دیابتیک به اثبات رسیده است که دلیل آن تا حدودی به آثار توکسیک مقادیر بالای گلوکز بر سیستم عصبی محیطی و فعال شدن مسیرهای بیوشیمیایی آلدوز دوکتاز و الکل‌های با چند گروه هیدروکسیل نسبت داده شده است (۲۰). به علاوه، وجود حالت دیابت پردازش سیگنال‌های درد را در ناحیه نخاع تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۱)؛ همچنین کاهش آستانه درک درد حرارتی در موش‌های دیابتی شده در آزمون غوطه‌ور کردن دم در آب داغ نیز اثبات شده است (۲۰)؛ از طرف دیگر، نتایج تحقیق‌های اخیر نشان می‌دهند که

بحث

نتایج بررسی حاضر نشان داد 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 کاهش می‌دهد، تجویز تیموکینون به موش‌های دیابتی، کاهشی معنی‌دار را طی مدت زمان تأخیر در بیرون کشیدن دم در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نمی‌کند و بخشی از آثار سودمند تیموکینون از طریق کاهش گلوکز خون و پراکسیداسیون لیپیدی در نواحی محیطی بدن به انجام می‌رسد.

نتایج تحقیق‌های پیشین نشان داده است که موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین به‌طور غیرمنتظره، رفتاری تشدید شده مربوط به درد را در آزمون

که این موجب کاهش التهاب در نواحی محیطی بدن و در نتیجه، کاهش شدت درد می‌شود؛ بخش دیگر از اثر ضدالتهابی تیموکینون را می‌توان به توانایی آن در مهار تولید نیتریک اکسید و مهار کردن دگرانولاسیون نوترفیل-ها نسبت داد 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 نشان می‌دهد 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 نسبت داد که این با کاهش دادن روند گلیکوزیلاسیون سوپسترهای 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 می‌شود (۲۴ و ۲۵).

نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، نتایج بررسی حاضر نشان داد 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 تأثیر ندارد و بخشی از این اثر از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در نواحی محیطی بدن و اعمال اثر هیپوگلیسمیک به‌انجام می‌رسد.

تشکر و قدردانی

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

موش‌های صحرایی دیابتی‌شده توسط استرپتوزوتوسین را می‌توان به‌عنوان مدل درد مزمن به‌حساب آورد که دربارهٔ آنها نشانه‌های هیپرآلژزی و آلودینی (در کوتاه-مدت (یک تا دو ماه) به‌خوبی مشاهده می‌شود (۲۲) و (۲۳). آزمون فرمالین که در این بررسی برای پی‌بردن به-شدت درد احساس شده مورد استفاده قرار گرفت به‌عنوان یک مدل معتبر ارزیابی درد شناخته‌شده است؛ مرحله اول (حاد) آزمون که طی چند دقیقه اول پس از تزریق کف-پایی فرمالین رخ می‌دهد 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 آزاد شدن مدیاتورهای درد است. نتایج تحقیق‌های جدید نشان-می‌دهند که در فاز اولیه آزمون فرمالین، ماده P و برادی‌کینین و در فاز ثانویه آن هیستامین، سروتونین، پروستاگلاندین و برادی‌کینین نقش دارند (۲۴ و ۲۵)؛ همچنین، این تست علاوه بر 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 دخالت دارند (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 اعمال می‌کند که نتایج تحقیق حاضر، مؤید این نظر است؛ همچنین نتایج به‌دست آمده 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 می‌شود که خود بر اعمال آثار مرکزی و محیطی این ماده و به‌احتمال، آثار ضدالتهابی آن دلالت دارد. در این خصوص مشخص شده است که چنین موادی قادرند آنزیم‌های مسیر سنتز پروستاگلاندین‌ها نظیر سیکلواکسیژناز را مهار کنند (۱۶)

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, Nomiya 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, Eschaliere 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 Poordahandeh¹, Sima Nasri¹, Mehrdad Roghani^{2*}, Parvin Salehi¹, Tourandokht Baluchnejadmojarad³

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