مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره سیزدهم، شمارهٔ ۳، اردیبهشت ۱۳۹۰، صفحه ۲۸-۲۲

اثر ضددردی قره قاط سیاه (Vaccinium myrtillus) در موش صحرائی دیابتی نر

مهرداد روغنی(PhD) [*۱]، **توراندخت بلوچ نژاد مجرد(PhD)** [۲]

۱- گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و گروه پژوهشی علوم اعصاب دانشگاه شاهد، تهران

۲- گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران

دریافت: ۸۹/۴/۱۱، اصلاح: ۸۹/۷/۱۴، پذیرش: ۸۹/۱۱/۲۰

خلاصه

سابقه و هدف: بیماری دیابت قندی در درازمدت با عوارض نامطلوب رتینوپاتی و نوروپاتی و افزایش میزان احساس درد ناشی از نوروپاتی همراه می باشد. شواهدی دال بر اثر حفاظتی و ضد دیابتی گیاه قره قاط سیاه وجود دارد، لذا در این مطالعه اثر ضد دردی تجویز خوراکی این گیاه در موشهای صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزتوسین در دو آزمون فرمالین و غوطه ور کردن دم در آب داغ مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روشها: این مطالعه تجربی بر روی ۴۰ سر موشهای صحرائی نر که به پنج گروه یکسان کنترل, کنترل تحت تیمار با گیاه، دیابتی دریافت کننده سدیم سالیسیلات، دیابتی و دیابتی تیمار شده با گیاه تقسیم شدند، انجام گردید. برای القاء دیابت، استرپتوزوسین با دوز ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم (داخل صفاقی) تزریق شد. دو گروه تحت تیمار با گیاه نیز پودر برگ مخلوط شده این گیاه با غذای استاندارد موش (۵٪) را بدون محدودیت به مدت ۶ هفته دریافت نمودند. در پایان کار، میزان احساس درد با استفاده از آزمونهای فرمالین و غوطه وری دم در آب داغ تعیین شد.

یافته ها: درمان با گیاه موجب کاهش معنی دار نمرات درد موشهای دیابتی در مقایسه با گروه دیابتی در مرحله مزمن و به میزان ۱۷/۹٪ گردید ($p<0/05$). با تجویز سدیم سالیسیلات به موشهای دیابتی، کاهش معنی دار نمره درد در مرحله مزمن بمیزان ۲۳/۶٪ مشاهده گردید ($p<0/05$). در مورد آزمون غوطه ور کردن دم در آب داغ نیز در گروه دیابتی یک کاهش معنی دار در مدت زمان تاخیر بیرون کشیدن دم درمقایسه با گروه کنترل بمیزان ۳۷/۴٪ مشاهده شد($p<0/05$). بعلاوه، اگرچه درمان موشهای دیابتی با گیاه قره قاط سیاه بمدت ۶ هفته موجب افزایش این زمان تاخیر در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده بمیزان ۱۱/۳٪ گردید ولی این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که تجویز خوراکی قره قاط سیاه به مدت شش هفته موجب کاهش معنی دار شدت درد در مرحله مزمن آزمون فرمالین در مدل تجربی دیابت قندی القا شده توسط استرپتوزوتوسین می شود و بر آستانه درد حرارتی تاثیر ندارد.

واژه های کلیدی: ***قره قاط سیاه، دیابت قندی، هیپرآلژزی.***

مقدمه

دیابت قندی با عوارض نامطلوب در درازمدت نظیر رتینوپاتی و نوروپاتی همراه می‌باشد (۲و۱). درد ناشی از نوروپاتی اعصاب محیطی یکی از شکایات مهم بالینی افراد مبتلا به دیابت قندی محسوب می شود (۴و۳). بروز هیپرگلیسمی با اعمال اثرات سمی بر روی سیستم عصبی محیطی یکی از علل بروز نوروپاتی دردناک می باشد (۶و۵). با توجه به اینکه تاکنون ترکیب دارویی مناسب (نظیر سالیسیلاتها و ترکیبات ضد التهابی غیر استروئیدی) عاری از عوارض جانبی برای درمان برخی حالات درد حاد و مزمن بویژه در حالت دیابت قندی یافت نمی شود (۷)، لذا توجه محققان به گیاهان دارویی معطوف شده است. در این خصوص، گیاه قره قاط یک گیاه دارویی با خواص ضد اسهال، جمع کننده رادیکالهای آزاد، محافظ سلول در برابر آسیبهای شیمیایی شامل سموم محیطی، کاهش دادن پراکسیداسیون لیپیدی و محافظت کبد در برابر انواع استرسها می باشد که علت اصلی آن سطح بالای مواد آنتی اکسیدانت در این گیاه می باشد. از طرف دیگر بر اساس منابع طب سنتی، دم کرده برگ و میوه این گیاه برای بیماری قند و فشار خون بالا و تورم قولون و رفع اسهال مفید است. برگ آن نیز در دفع ناراحتی مخاطی مثانه و مجاری ادراری مفید است (۱۲-۸). اثر کاهش دهندگی گلوکز با ترکیب گیاهی حاوی قره قاط سیاه در مدل تجربی دیابت القا شده بر اثر آلوکسان نیز مورد تائید قرار گرفته است (۱۳) و جدیداً اثر ضد دیابتی (اثرات هیپوگلیسمیک و هیپولیپیدمیک) مصرف خوراکی این گیاه در مدل تجربی دیابت القا شده بر اثر استرپتوزوتوسین گزارش شده است (۱۴). همچنین اثرات سودمند مصرف این گیاه بر جلوگیری از اختلالات یادگیری و حافظه در مدل تجربی دیابت قندی نیز مورد تائید قرار گرفته است (۱۵). با توجه به اینکه هیپرآلژزی مشاهده شده در دیابت قندی عمدتاً بعلت اثرات سمی هیپرگلیسمی و محصولات نهائی گلیکوزیلاسیون

* مسئول مقاله:
آدرس: تهران، بلوار کشاورز، خیابان شهید عبداله زاده، پلاک ۲۹، دانشکده پزشکی شاهد، گروه فیزیولوژی، تلفن: ۸۸۹۶۴۷۹۲-۰۲۱
e-mail:mehjour@yahoo.com

ناشی از آن و همچنین افزایش پدیده مخرب استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکال های آزاد اکسیژن در بافت سیستم عصبی مرکزی می باشد که با تغییرات نامطلوب در پردازش سیگنال های درد در بافت عصبی خود را نشان می دهد (۶-۴) و با در نظر گرفتن این مطلب که اثر هیپوگلیسمیک (آنتی هیپرگلیسمیک) این گیاه در مدل تجربی دیابت قندی (۱۴و۱۳) و اثرات ضد استرس اکسیداتیو (۹) آن قبلاً اثبات شده است ، لذا در این تحقیق اثر ضد دردی تجویز خوراکی و درازمدت این گیاه در مدل تجربی دیابت قندی القا شده توسط داروی استرپتوزوتوسین در موش صحرایی نر به کمک دو آزمون فرمالین و غوطه ور کردن دم در آب داغ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

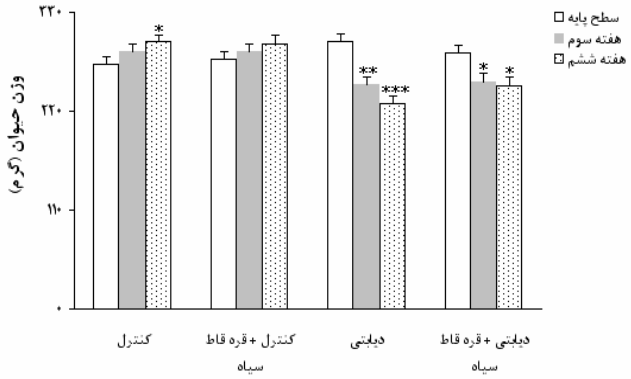
در این مطالعه تجربی از ۴۰ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی ۳۱۵-۲۵۵ گرم استفاده شد. تمام حیوانها در دمای ۲۳-۲۱ درجه سانتی گراد در گروه های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان ها آزادانه به آب لوله کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) و یا غذای مخلوط شده با پودر برگ قره قاط سیاه (گونهٔ واکسینیوم مرتیلوس تهیه شده از دشت مغان در اواخر تابستان و تأیید علمی و سیستماتیک توسط گروه زیست شناسی دانشگاه شهید بهشتی با شماره شناسائی ۲۸-۲۰۰۷) به نسبت ۵٪ بمدت ۶ هفته دسترسی داشتند. برای تهیه غذا، پس از تأئید علمی، پودر بدست آمده از آسیاب نمودن قره قاط سیاه با غذای پودر شده و استاندارد موش مخلوط و مجدداً غذای حیوان تولید گردید (۱۵). در این بررسی از آن دسته موش های صحرایی نر استفاده شد که در شرایط طبیعی بدون برقراری حالت روزه داری، میزان گلوکز سرم آنها کمتر از ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر بود. در این خصوص از شبکه رترواوربیتال و لوله موئینه برای خونگیری استفاده شد. موش ها به طور تصادفی به ۵ گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با گیاه و دیابتی، دیابتی تحت تیمار با گیاه و دیابتی دریافت کننده سدیم سالیسیلات (کنترل مثبت) تقسیم شدند. برای دیابتی نمودن موشها از داروی استرپتوزوتوسین به صورت تک دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. سدیم سالیسیلات یک ساعت قبل از انجام آزمون فرمالین به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق شد. 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. میزان وزن حیوانات و گلوکز سرم (روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست شیمی، تهران)) قبل از انجام کار و در طی هفته های ۳ و ۶ پس از بررسی اندازه گیری شد (۱۶).

آزمون فرمالین: از نظر زمانی این آزمون در مورد تمام موشها در بین ساعات ۱۷-۱۲ و ۳-۲ روز پس از انجام آزمون غوطه ور کردن دم در آب داغ با استفاده از روش متداول Dubaisson و Dennis نجام شد (۱۷)، بدین ترتیب که حیوان در یک محفظه از جنس پلکسی گلاس (۴۰ × ۴۰ × ۴۰ سانتیمتر) تحت شرایط آرام قرار گرفته و پس از گذشت ۱۵ دقیقه، ۵۰ میکرولیتر از محلول فرمالین ۲/۵ درصد بصورت زیر جلدی به کف پای حیوان تزریق شد و شدت درد حیوان بر اساس تقسیم بندی به چهار درجه صفر - حیوان بدون توجه به پای تزریق شده می نشیند و یا راه می رود. ۱- پای حیوان با محفظه تماس داشته ولی حیوان وزن بدن خود را بیشتر روی پای سالم می اندازد. ۲- حیوان پنجه دردناک را کاملا از سطح محفظه بلند می‌نماید. ۳- حیوان پنجه تزریق شده را از شدت درد می لیسد، گاز میگیرد یا به شدت تکان میدهد، تقسیم شد. ثبت پاسخ های رفتاری بلافاصله پس از تزریق فرمالین آغاز و تا دقیقه ۶۰ ادامه یافت. در این ارتباط پاسخ در هر ۱۵ ثانیه ثبت و به عنوان شاخصی از میزان درد در آزمون فرمالین در نظر گرفته شد. با استفاده از این روش اعداد ۰ تا ۳ برای امتیاز درد در زمان های مختلف بدست آمد. میانگین درد در ده دقیقه اول بعد از تزریق فرمالین به عنوان مرحله اول یا حاد و در دقایق ۱۶ تا ۶۰ بعنوان مرحله دوم یا مزمن در نظر گرفته شد. آزمون غوطه ور کردن دم در آب داغ: برای انجام این کار حیوان به مدت ۱۵ دقیقه در داخل محفظه محدود کننده موش تحت شرایط استاندارد آزمایشگاه قرار گرفته و سپس دم حیوان در داخل آب داغ در دمای ۴۹ درجه سانتیگراد قرار گرفت و میزان تاخیر در بیرون کشیدن دم از آب با استفاده ار زمان سنج اندازه گیری شد. هر آزمایش در مورد هر حیوان ۴ بار با فاصله زمانی ۵ دقیقه تکرار شد و نهایتاً میانگین داده در مورد هر موش ثبت شد. زمان قطع آزمایش در صورت بیرون نکشیدن دم نیز ۳۰ ثانیه در نظر گرفته شد (۱۸).

سپس داده ها با استفاده از آزمونهای آماری Repeated Measure ANOVA، One way ANOVA و Tukey Post-Test تجزیه و تحلیل گردید و $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

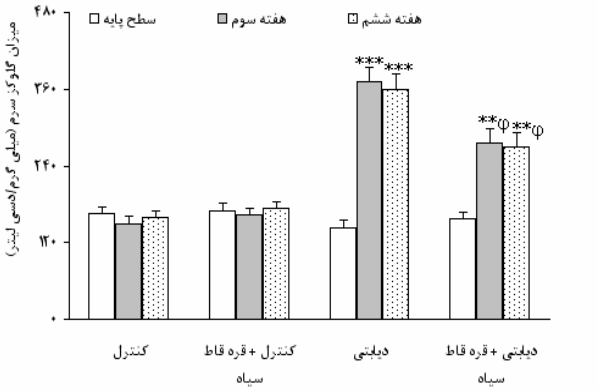
نتایج وزن حیوان ها و میزان گلوکز سرم: هیچگونه تفاوت معنی داری بین گروهها از نظر وزن در هفته قبل از کار (سطح پایه) مشاهده نشد. گروه کنترل تحت تیمار مشابه با گروه کنترل، یک افزایش طبیعی و غیر معنی دار در وزن به میزان ۶/۲٪ را در پایان هفته ششم نسبت به هفته قبل از کار نشان داد هر چند این افزایش کمتر بود، اما در گروه دیابتی نیز در هفته ششم یک کاهش معنی دار به میزان ۲۳/۳٪ در مقایسه با هفته قبل از بررسی مشاهده گردید ($p<۰/۰۰۵$). از طرف دیگر، تفاوت موجود بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت درمان با گیاه در هفته هشتم در حد معنی دار نبود هر چند میزان وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با گیاه کاهش کمتری نشان داد (نمودار ۱).



نمودار ۱. تغییرات وزن در هفته های مختلف در موشهای صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده

* $p<۰/۰۵$ ، ** $p<۰/۰۱$، *** $p<۰/۰۰۵$ (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)

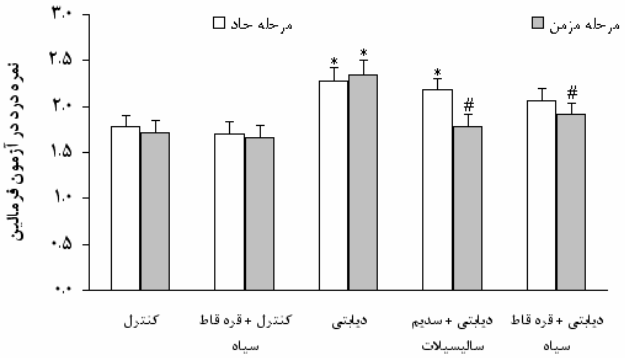
در این رابطه، میزان وزن در گروه دیابتی تیمار شده در هفته ششم به میزان ۸/۷٪ بیشتر از گروه دیابتی تیمار نشده بود.از نظر میزان گلوکز سرم نیز در گروه های مختلف، در هفته قبل از بررسی تفاوت معنی داری بین گروهها وجود نداشت، در هفته های ۳ و ۶ میزان گلوکز سرم در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با گیاه در حد معنی دار و به ترتیب به میزان ۱۲۰/۳٪ و ۱۲۵/۱٪ برای گروه دیابتی تیمار نشده و به میزان ۸۵/۳٪ و ۶۹/۸٪ برای گروه دیابتی تیمار شده (p<۰/۰۰۰۵ تا p<۰/۰۱) بیشتر از گروه کنترل در همان هفته ها بود هر چند که در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه میزان گلوکز سرم بطور معنی داری در هفته های ۳ و ۶ و به ترتیب به میزان ۲۵/۸٪ و ۲۵/۲٪ کمتر از گروه دیابتی درمان نشده بود (p<۰/۰۵). گروه کنترل تحت تیمار کاهش محسوس گلوکز سرم را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد (نمودار ۲).



نمودار ۲. تغییرات گلوکز سرم در هفته های مختلف در موشهای صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار

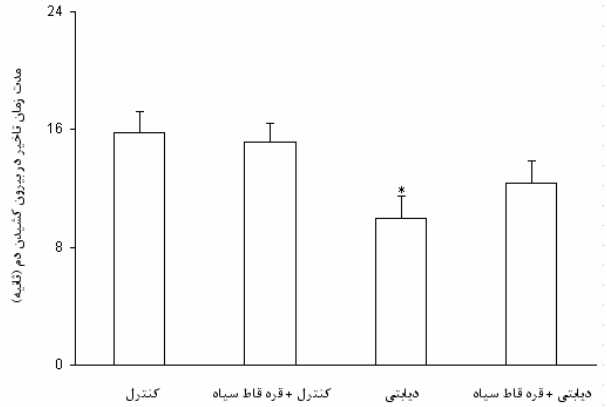
** p<۰/۰۱، *** p<۰/۰۰۰۵ (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)، φ p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)

نتایج آزمون های سنجش درد: تزریق کف پایی فرمالین یک پاسخ بارز دو فازی را در تمام گروهها ایجاد نمود. هیپرآلژزی ظاهر شده بدنبال تزریق کف پائی فرمالین در موشهای دیابتی تیمار نشده در هر دو مرحله حاد و مزمن به ترتیب به میزان ۲۸/۱٪ و ۳۶/۸٪ و بطور معنی دار بیشتر از گروه کنترل بود (p<۰/۰۵). بعلاوه 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 و به میزان ۲۳/۶٪گردید (p<۰/۰۵). از طرف دیگر، تیمار با قره قاط سیاه به مدت شش هفته موجب کاهش معنی دار نمرات درد در مقایسه با گروه دیابتی فقط در مرحله مزمن آزمون به میزان ۱۷/۹٪ گردید (p<۰/۰۵). میزان شدت درد در مرحله حاد در گروه دیابتی تحت تیمار با گیاه بطور غیر معنی دار کمتر از گروه دیابتی درمان نشده بود. همچنین هیچگونه تفاوت معنی داری بین دو گروه دیابتی دریافت کننده سدیم سالیسیلات و قره قاط سیاه از نظر آماری مشاهده نگردید (نمودار ۳). در مورد آزمون غوطه کردن دم در آب داغ، در گروه دیابتی یک کاهش معنی دار در مدت زمان تاخیر در بیرون کشیدن دم در مقایسه با گروه کنترل به میزان ۳۷/۴٪ مشاهده شد (p<۰/۰۵). بعلاوه، اگرچه درمان موشهای دیابتی با گیاه قره قاط سیاه به مدت ۶ هفته موجب افزایش زمان تاخیر در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده به میزان ۱۱/۳٪ گردید ولی تفاوت موجود بین این دو گروه از نظر آماری معنی دار نبود. همچنین، درمان موشهای گروه کنترل با گیاه نیز تفاوت معنی داری را از این نظر در مقایسه با گروه کنترل ایجاد ننمود (نمودار ۴).



نمودار ۳. شدت درد در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین در موشهای صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار

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



نمودار ۴. مدت زمان تاخیر در بیرون کشیدن دم از آب داغ در موشهای صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار

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

بحث و نتیجه گیری

نتایج بررسی حاضر نشان داد که تجویز خوراکی قره قاط سیاه به مدت ۶ هفته دارای اثر آنتی هیپرگلیسمیک بوده و نمرات درد در موشهای دیابتی در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین بیشتر از موشهای کنترل بود و درمان با گیاه موجب کاهش معنی دار نمرات درد در مقایسه با گروه دیابتی فقط در مرحله مزمن گردید. ضمناً با تجویز سدیم سالیسیلات به موشهای دیابتی، کاهش معنی داری در نمره درد فقط در مرحله مزمن مشاهده گردید. در مورد آزمون غوطه کردن دم در آب داغ نیز در گروه دیابتی یک کاهش معنی دار در مدت زمان تاخیر در بیرون کشیدن دم در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. که خود حاکی از بروز هیپرآلژزی حرارتی در موشهای دیابتی ۶ هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین می باشد. بعلاوه، اگرچه درمان موشهای دیابتی با گیاه موجب افزایش این زمان تاخیر در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده گردید ولی تفاوت موجود بین این دو

گروه از نظر آماری معنی دار نبود. نتایج تحقیقات قبلی نشان داد که موشهای صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین بطور غیر منتظره یک رفتار تشدید شده مربوط به درد را در آزمون فرمالین بدنبال تجویز محرکهای شیمیایی بداخل پنجه پا پس از گذشت حداقل ۴-۳ هفته نشان می دهند که خود دلالت بر وجود مکانیسمهای غیر نرمال و متعدد در پردازش سیگنالهای محیطی درد دارد (۱۹و۱۸). قبلاً وجود هیپرآلژزی مکانیکی بعنوان اولین نشانگان نوروپاتی دیابتیک به اثبات رسید که علت آن تا حدودی به اثرات توکسیک مقادیر بالای گلوکز بر سیستم عصبی محیطی و فعال شدن مسیرهای بیوشیمیایی آلدوز ردوکتاز و الکلهای با چند گروه هیدروکسیل نسبت داده شده است (۱۹). بعلاوه وجود حالت دیابت، پردازش سیگنالهای درد را در ناحیه نخاع تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۸). همچنین کاهش آستانه درک درد حرارتی در موشهای دیابتی شده در آزمون غوطه ور کردن دم در آب داغ نیز مورد اثبات قرار گرفته است (۲۰) که همین نتیجه در تحقیق حاضر نیز بدست آمد. آزمون فرمالین که در این بررسی برای پی بردن به شدت درد احساس شده مورد استفاده قرار گرفت به عنوان یک مدل معتبر ارزیابی درد شناخته شده است. مرحله اول (حاد) آزمون که در چند دقیقه اول پس از تزریق کف پائی فرمالین رخ می دهد و نسبتاً زودگذر می باشد بعلت اثر مستقیم ماده محرک فرمالین بر فیبرهای حسی نوع C می باشد و فاز طولانی تر و مزمن (ثانویه) این آزمون بعلت ایجاد تغییرات التهابی ناشی از آزاد شدن مدیاتورهای دردزا می باشد. نتایج تحقیقات جدید نشان می دهد که در فاز اولیه آزمون فرمالین، ماده P و برادی کینین و در فاز ثانویه آن هیستامین، سروتونین، پروستاگلاندین، و برادی کینین نقش دارند (۲۲و۲۱). این تست علاوه بر سنجش درد، تا حدودی مکانیسم اثر مواد با پتانسیل ضد دردی را نیز مشخص می نماید. با توجه به اینکه در فاز مزمن آزمون فرمالین در موجودات نرمال و دیابتی شده، مکانیسمهای محیطی و در فاز حاد آن مکانیسمهای مرکزی دخالت دارند (۱۹) و تزریق داخل صفاقی سدیم سالیسیلات به موشهای گروه کنترل و دیابتی موجب کاهش میزان احساس درد فقط در فاز دوم آزمون گردید، لذا این ماده از طریق یک مکانیسم محیطی اثرات خود را اعمال می کند که نتایج تحقیق حاضر مؤید این نظر است.

بعلاوه، نتایج بدست آمده در این بررسی نشان داد که مصرف خوراکی قره قاط سیاه در گروه دیابتی به مدت ۶ هفته موجب کاهش معنی دار پاسخ درد در مرحله مزمن آزمون فرمالین در موشهای دیابتی می گردد که این خود دال بر اعمال اثرات محیطی این گیاه و احتمالاً اعمال اثرات ضد التهابی آن می باشد. در این رابطه نتایج بررسیهای قبلی نشان می دهد که این چنین گیاهانی بعلت دارا بودن عوامل محافظت کننده قادر به اعمال اثرات ضد التهابی می باشند (۲۳) که از این طریق احتمالا می توانند شدت درد مرحله مزمن آزمون فرمالین را کاهش دهند. در این راستا فلاونوئیدهای موجود در چنین گیاهانی با اعمال اثرات آنتی اکسیدانتی و ضد التهابی می توانند اثرات ضد دردی قره قاط سیاه را در این بررسی تا حدودی توجیه نمایند. در این مورد مشخص شد که چنین فلانوئیدهائی قادر به مهار آنزیمهای دخیل در تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن نظیر سیکلواکسیژناز، لیپواکسیژناز، منواکسیژناز میکروزومی و گلوتاتیون اس ترانسفراز می باشند (۲۳).

بخش دیگر از اثر ضدالتهابی فلاونوئیدها را می توان به توانائی آنها در تنظیم کاهشی تولید نیتریک اکسید و مهار نمودن دگرانولاسیون نوترفیل ها نسبت داد که این خود موجب کاهش فعالیت آنزیمهای پیشبرنده التهابی می گردد (۲۴). بعلاوه، فلاونوئید ها قادر به کاهش دادن فعالیت سیستم کمپلمانت می باشند که از این طریق موجب کاهش اتصال سلولهای پیشبرنده التهابی به اندوتلیوم ناحیه آسیب دیده و یا ناحیه تزریق شده با فرمالین می گردند که بدین ترتیب از شدت التهاب کاسته شده و نهایتاً درد کمتری احساس می شود (۲۴). همچنین، عدم مشاهده پاسخ ضددردی گیاه در گروه کنترل بدنبال تزریق فرمالین، خود به خوبی نشان می دهد که اثر مواد موثره گیاه در حالت نرمال به اندازه کافی قوی نمی باشد و لازمست که قبل از تزریق فرمالین یک حالت نظیر دیابت قندی دراز مدت یک سری تغییرات بافتی را در ناحیه مورد تزریق ایجاد نماید. در همین خصوص بروز دیابت پاسخ درد را در آزمون فرمالین افزایش میدهد (۲۵). همچنین دیگر اثرات سودمند گیاه قره قاط سیاه بر درد در این تحقیق را می توان به اثرات پائین آورندگی گلوکز آن نسبت داد (۱۴) که موجب کاهش تغییرات در اعصاب محیطی و التهاب ناشی از آن می گردد که این اثر در تحقیقات دیگر نیز بدست آمده است (۱۹).

نتایج بررسی حاضر برای اولین بار نشان داد که تجویز خوراکی قره قاط سیاه به مدت شش هفته موجب کاهش معنی دار شدت درد در مرحله مزمن آزمون فرمالین در مدل تجربی دیابت قندی القا شده توسط استرپتوزوتوسین می شود و بر آستانه درد حرارتی تاثیری ندارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از خانم فریبا انصاری کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد که در انجام آزمایشات همکاری داشتند، قدردانی می گردد.

Antinociceptive Effect of Vaccinium Myrtillus in Diabetic Rats

M. Roghani (PhD) [*1], T. Baluchnejadmojarad (PhD) [2]

1. Department of Physiology, School of Medicine, Neurodegenerative Disorders and Medicinal Plant Research Centers, Shahed University, Tehran, Iran
2. Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

J Babol Univ Med Sci; 13(3); May 2011

Received: Jul 2nd 2010, Revised: Oct 6th 2010, Accepted: Feb 9th 2011.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Diabetes mellitus in long-term accompanies with inappropriate complications like retinopathy and neuropathy and increased pain sensation due to neuropathy. Since there is some evidence on protective and antidiabetic effects of Vaccinium myrtillus (VM), this study was designed to investigate the antinociceptive effect of Vaccinium myrtillus (VM) in streptozotocin-diabetic rats using formalin test and hot tail immersion tests.

METHODS: In this experimental study, male rats were divided into equal-sized control, VM-treated control, diabetic, sodium salicylate (SS)-treated diabetic, and VM-treated diabetic groups. For induction of diabetes, streptozotocin at a dose of 60 mg/kg (i.p) was injected. The treatment groups received oral administration of VM-mixed pelleted food (5%) for 6 weeks with no limitation. Finally, hyperalgesia were assessed using standard formalin and hot tail immersion tests.

FINDINGS: VM treatment of diabetic rats reduced pain score in chronic phase up to 17.9% ($p<0.05$). Meanwhile, SS administration significantly reduced pain score at chronic phase of the test up to 23.6% ($p<0.05$). Regarding hot tail immersion test, diabetic rats showed a significant 37.4% reduction in tail flick latency as compared to control ones ($p<0.05$). Although VM treatment of diabetic rats increased this latency relative to untreated diabetics up to 11.3%, but the existing difference was not statistically significant.

CONCLUSION: Six-week administration of VM could attenuate nociceptive score in chronic phase of formalin test in streptozotocin-induced experimental model of diabetes mellitus and has no effect on thermal pain threshold.

KEY WORDS: *Vaccinium myrtillus, Diabetes mellitus, Hyperalgesia.*

[*]**Corresponding Author;**
Address: Department of Physiology, School of Medicine, Shahed University, Dehkadeh St., Keshavarz Blvd.,Tehran, Iran
Tel: +98 21 88964792
E-mail: mehjour@yahoo.com

References

1. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. Med Sci Monit 2006;12(7):RA130-47.
2. Gleckman R, Morr J. Diabetes-related foot infection. J Contemp Intern Med 1994;6(8):57-64.
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. Milbury PE, Graf B, Curran-Celentano JM, Blumberg J. Bilberry (Vaccinium myrtillus) anthocyanins modulate heme oxygenase-1 and glutathione S-transferase-pi expression in ARPE-19 cells. Invest Ophthalmol Vis Sci 2007;48(5):2343-9.
9. Yao Y, Vieira A. Protective activities of vaccinium antioxidants with potential relevance to mitochondrial dysfunction and neurotoxicity. Neurotoxicology 2007;28(1):93-100.
10. Ichiyanagi T, Shida Y, Rahman MM, Hatano Y, Konishi T. Bioavailability and tissue distribution of anthocyanins in bilberry (vaccinium myrtillus L.) extract in rats. J Agric Food Chem 2006;54(18):6578-87.
11. Ramirez MR, Izquierdo I, do Carmo Bassols Raseira M, Zuanazzi JA, Barros D, Henriques AT. Effect of lyophilised Vaccinium berries on memory, anxiety and locomotion in adult rats. Pharmacol Res 2005;52(6):457-62.
12. Mirheydar H. Maarefe Giahie: Application of plants in prevention and treatment of disorders. 1st ed. Tehran: IRIB Press 1996; pp:131-5. [in Persian]
13. Petlevski R, Hadzija M, Slijepcevic M, Juretic D. Effect of 'antidiabetis' herbal preparation on serum glucose and fructosamine in NOD mice. J Ethnopharmacol 2001;75(2-3):181-4.
14. Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Taheri S. The effect of feeding with aerial part of Vaccinium myrtillus on blood glucose and lipids of diabetic rats. Iran J Diabetes Lipid Disord 2007;7(2):151-8. [in Persian]
15. Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Taheri S. The effect of oral feeding of aerial part of Vaccinium myrtillus on learning and memory in diabetic rats. J Iran Univ Med Sci 2007;14(57):69-76. [in Persian]
16. Baluchnejadmojarad T, Roghani M. Garlic extract attenuates time-dependent changes in the reactivity of isolated aorta in streptozotocin-diabetic rats. Life Sci 2003;73(18):2281-9.
17. 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.
18. Courteix C, Eschalier A, Lavarenne J. Streptozotocin-induced diabetic rats: behavioral evidence for a model of chronic pain. Pain 1993;53(1):81-8.
19. Cesena RM, Caleutt NA. Gabapentin prevents hyperalgesia during the formalin test in diabetic rats. Neurosci Lett 1999;262(2):101-4.
20. 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.
21. Zeashan H, Amresh G, Rao CV, Singh S. Antinociceptive activity of Amaranthus spinosus in experimental animals. J Ethnopharmacol 2009;122(3):492-6.

22. Khan H, Saeed M, Gilani AH, Khan MA, Dar A, Khan I. The antinociceptive activity of polygonatum verticillatum rhizomes in pain models. J Ethnopharmacol 2010;127(2):521-7.
23. 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.
24. Nijveldt RJ, Van-Nood E, Van-Hoorn DEC, Boelens PG, Van-Norren K, Van-Leeuwer PAM. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. Am J Clin Nutr 2001;74:418-25.
25. Calcutt NA. Potential mechanisms of neuropathic pain in diabetes. Int Rev Neurobiol 2002;50:205-28.