

اثر ضد دردی تجویز خوراکی ترخون در موش صحرایی دیابتی

دکتر مهرداد روغنی* دکتر توراندخت بلوچ‌نژاد مجرد** بی‌تا صبوری*** نرگس نپاوندی***

The analgesic effect of oral administration of tarragon in diabetic rats

M.Roghani☆ T.Baluchnejadmojarad B.Sabouri N.Nahavandi

*Abstract

Background: Hyperalgesia is one of the major symptoms of diabetic neuropathy in some patients and could affect life quality. Regarding treatment of hyperalgesia, there are some evidence for antidiabetic potential of tarragon in traditional medicine.

Objective: To evaluate the analgesic effect of oral administration of tarragon in streptozotocin-induced diabetic male rats.

Methods: This was an experimental study in which 40 rats were randomly divided into control, tarragon-treated control, salicylate-treated control, diabetic, and tarragon-treated diabetic groups. All treatment periods continued for one month. At the end of the experiment, nociceptive response was evaluated in both acute and chronic phases of the standard formalin test.

Findings: The results showed that there was an increase in the pain scores in both phases of the test and in diabetic rats ($P < 0.05$), and administration of tarragon for one month did produce a significant reduction in nociceptive scores for both phases, especially in the chronic phase of the formalin test ($P < 0.05$). In contrast, sodium salicylate as positive control only reduced pain scores in the chronic phase ($P < 0.05$).

Conclusion: Oral administration of tarragon for one month has a significant analgesic effect in diabetic rats and this may be considered as a potential treatment for diabetic neuropathy.

Keywords: Tarragon, Diabetes Mellitus, Medicine Herbal, Pain

* چکیده

زمینه: هیپرالژی یکی از علائم بارز نوروپاتی ناشی از دیابت محسوب می‌شود که بر کیفیت زندگی افراد مبتلا تأثیر دارد. در طب سنتی، شواهدی مبنی بر اثر ضد دیابتی ترخون یافت می‌شود.

هدف: مطالعه به منظور تعیین اثر ضد درد تجویز خوراکی ترخون در موش‌های دیابتی انجام شد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۴۰ موش صحرایی نر به طور تصادفی به پنج گروه شاهد، شاهد تحت تیمار با ترخون، شاهد دریافت کننده سدیم سالیسیلات، گروه دیابتی و گروه دیابتی تیمار شده با ترخون تقسیم شدند. تمام تیمارها به مدت یک ماه ادامه یافت. در پایان آزمایش، میزان پاسخ درد در مراحل حاد و مزمن با آزمون فرمالین اندازه‌گیری شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری تی زوج، ANOVA یک‌طرفه و توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نمره درد در موش‌های دیابتی پس از گذشت یک ماه در دو مرحله حاد و مزمن به دنبال تزریق فرمالین بیشتر از موش‌های شاهد بود ($P < 0.05$). درمان با ترخون به مدت یک ماه موجب کاهش معنی‌دار در نمره درد در مقایسه با گروه دیابتی در مراحل حاد و مزمن شد ($P < 0.05$). در ضمن با تجویز سدیم سالیسیلات به موش‌های شاهد فقط در مرحله مزمن آزمون فرمالین کاهش معنی‌دار نمره درد مشاهده شد ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تجویز خوراکی گیاه ترخون به مدت یک ماه به طور معنی‌دار میزان احساس درد در موش‌های صحرایی دیابتی را کاهش می‌دهد و به عنوان یک درمان احتمالی در نوروپاتی دیابتی مطرح می‌شود.

کلیدواژه‌ها: ترخون، دیابت شیرین، پزشکی گیاهی، درد

* استادیار فیزیولوژی دانشگاه شاهد و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی

** دانشیار فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران

*** دانشجوی پزشکی دانشگاه شاهد

آدرس مکاتبه: تهران، بلوار کشاورز، خیابان شهید عبدالله زاده (دهکده)، دانشکده پزشکی شاهد، کد پستی ۷۴۳۵-۱۴۱۵۵، تلفن ۸۸۹۶۴۷۹۲

*** مقدمه :**

بیماری دیابت یکی از شایع‌ترین بیماری‌های سیستم غدد درون‌ریز بدن محسوب می‌شود که بر اساس پیش‌بینی به عمل 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، اغمای هیپراسمولار، اختلال متابولیک مزمن و عوارض نامطلوب درازمدت نظیر رتینوپاتی، گرفتاری عروق کلیوی، نوروپاتی، ضایعه‌های پوستی، اختلال‌های سیستم قلب و گردش خون همراه است.^(۲)

درد ناشی از درگیری اعصاب محیطی یکی از شکایت‌های مهم بالینی افراد مبتلا به دیابت محسوب می‌شود و کیفیت زندگی این افراد را تحت تأثیر قرار می‌دهد، بنابراین تعدیل درد در این افراد از اهمیت زیادی برخوردار است.^(۳) نتایج برخی تحقیق‌های اخیر نشان می‌دهد که قند خون بالا با اعمال اثرات سمی بر روی سیستم عصبی محیطی یکی از علل بروز نوروپاتی دردناک است. علاوه بر این اثرات سیستمیک هیپرگلیسمی نیز می‌تواند موجب بروز نوروپاتی شود.^(۴) بر خلاف شواهد موجود، نتایج برخی تحقیق‌های دیگر نشان می‌دهد که هیپرگلیسمی در تغییر آستانه درد تأثیری ندارد.^(۵) از سوی دیگر به کارگیری سالیسیلات‌ها و برخی داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی نسل اول در هیپرآلژزی بیماران دیابتی سبب هیپوگلیسمی شدید می‌شود و ترکیب‌های اخیر با عوارض شدید نظیر زخم معده، نارسایی کلیوی در درازمدت و آلرژی همراه هستند. با توجه به این‌که تاکنون ترکیب دارویی مناسب عاری از عوارض جانبی برای درمان برخی حالت‌های درد حاد و مزمن به ویژه در بیماران مبتلا به دیابت وجود نداشته است، لذا توجه محققان به گیاهان دارویی معطوف شده است.

طب سنتی و گیاهان دارویی منبع مناسبی جهت یافتن داروهای ضد درد هستند.^(۶) در این رابطه گیاه ترخون یک گیاه با پراکندگی وسیع در دنیا و با کاربردهای تغذیه‌ای فراوان است که شواهد مبنی بر اثرات ضد دیابتی

آن در طب سنتی یافت می‌شود.^(۸) به علاوه نتایج مطالعه‌های قبلی نشان داده است که مصرف ترخون مخلوط شده با غذای استاندارد موش به میزان ۶/۲۵ درصد به مدت ۹ روز می‌تواند موجب کاهش معنی‌دار میزان مصرف غذا (کاهش پلی‌فاژی) و آب (کاهش پلی‌دیپسی) در حالت دیابت القا شده بر اثر استرپتوزوتوسین شود و از کاهش بارز وزن در حیوان‌های دیابتی درمان شده جلوگیری نماید، هر چند که با مصرف ترخون کاهش معنی‌دار در میزان گلوکز سرم مشاهده نشده است.^(۸) لذا در تحقیق حاضر اثر آنالژزیک مصرف خوراکی ترخون در مدل تجربی دیابت قندی با استفاده از داروی استرپتوزوتوسین در موش صحرایی نر با استفاده از آزمون فرمالین به روش استاندارد مورد بررسی قرار گرفت.

*** مواد و روش‌ها :**

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۲ در دانشکده پزشکی شاهد انجام شد. تعداد ۴۰ رأس موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور تهران) در محدوده وزنی 240 ± 25 گرم استفاده شد. تمام حیوان‌ها در دمای 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان‌ها آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش یا غذای مخلوط شده با پودر ترخون به نسبت مشخص به مدت یک ماه دسترسی داشتند. به منظور حصول حالت سازش با محیط، تمام آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل دو هفته و پس از استقرار حیوان‌ها انجام شد.

روش تهیه غذای حاوی ترخون به این صورت بود که پس از خریداری ترخون در اوایل مرداد ماه و تأیید علمی آن، برگ‌های سالم، سبز و تازه آن جدا و شسته شده و در درجه حرارت اطاق در سایه خشک شدند. پس از آسیاب نمودن، پودر به دست آمده با نسبت ۱/۱۵ با غذای پودر شده و استاندارد موش مخلوط و غذای مصرفی تولید شد.

در این بررسی از آن دسته موش‌های صحرایی نر استفاده شد که در شرایط طبیعی بدون برقراری حالت روزه‌داری

فرمالین آغاز و تا دقیقه ۶۰ ادامه می‌یافت. در این ارتباط پاسخ در هر ۱۵ ثانیه ثبت و به عنوان شاخصی از میزان درد در آزمون فرمالین در نظر گرفته می‌شد. با استفاده از این روش اعداد ۰ تا ۳ برای امتیاز درد در زمان‌های مختلف به دست می‌آمد. میانگین درد در ده دقیقه اول بعد از تزریق فرمالین به عنوان مرحله ابتدایی یا حاد و در دقایق ۱۶ تا ۶۰ به عنوان مرحله مزمن یا تأخیری در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری با برنامه Graphpad Instat با استفاده از آزمون‌های تی زوج و ANOVA یک‌طرفه انجام و در صورت معنی‌دار شدن از آنالیز توکی استفاده شد. $p < 0.05$ سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

* یافته‌ها :

مقایسه وزن موش‌ها در هفته قبل از بررسی و هفته‌های دوم و چهارم پس از بررسی هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها نشان نداد و در موش‌های دیابتی تیمار نشده، کاهش معنی‌دار وزن در هفته دوم ($p < 0.05$) و هفته چهارم ($p < 0.01$) نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. در گروه شاهد افزایش وزن در هفته‌های دوم و چهارم پس از بررسی نسبت به هفته قبل از بررسی مشاهده شد. گروه شاهد تحت تیمار با ترخون افزایش معنی‌دار وزن را در مقایسه با گروه شاهد نشان داد ($p < 0.05$). گروه دیابتی تحت تیمار با ترخون تغییر معنی‌داری را در وزن نسبت به گروه دیابتی درمان نشده نشان نداد.

میزان گلوکز سرم گروه‌ها در هفته قبل از بررسی تفاوت معنی‌داری نداشت. ولی در موش‌های دیابتی درمان نشده، افزایش معنی‌دار سطح گلوکز در هفته‌های دوم و چهارم پس از بررسی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد ($p < 0.01$). تیمار با ترخون هیچ‌گونه تغییر معنی‌دار در سطح گلوکز گروه‌های شاهد در هفته‌های دوم و چهارم پس از بررسی در مقایسه با گروه شاهد ایجاد نکرد. درمان موش‌های دیابتی با ترخون نیز باعث تغییر معنی‌دار سطح گلوکز سرم هفته‌های دوم و چهارم در مقایسه با گروه دیابتی بدون درمان نشد (جدول شماره ۱).

میزان گلوکز سرم آنها پایین‌تر از حد ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. موش‌ها به طور تصادفی به پنج گروه شاهد، شاهد دریافت کننده ترخون، شاهد دریافت کننده سدیم سالیسیلات (گروه شاهد مثبت)، دیابتی و دیابتی دریافت کننده ترخون تقسیم شدند. گروه شاهد مثبت داروی سدیم سالیسیلات را به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور داخل صفاقی یک ساعت قبل از انجام بررسی دریافت می‌نمود. برای القای دیابت در حیوان‌ها از داروی استرپتوزوتوسین (STZ) به صورت تک‌دوز داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سالیین فیزیولوژیک سرد استفاده شد و حجم تزریق محلول به حیوان‌ها در هر گروه ۰/۵ میلی‌لیتر بود. پس از گذشت یک ماه، آزمون فرمالین بر روی تمام موش‌ها انجام شد. برای هر موش فقط یک بار آزمون فرمالین انجام شد. پس از آماده نمودن نمونه‌های سرم، اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (زیست شیمی) طبق دستورالعمل کیت و با استفاده از اسپکتروفوتومتر مدل اسپکترونیک ۲۰ قبل از انجام کار و در هفته‌های دوم و چهارم انجام شد.

برای آزمون فرمالین از روش متداول Dubuisson and Dennis استفاده شد.^(۹) بدین ترتیب که حیوان در یک محفظه از جنس پلکسی‌گلاس (۳۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر) تحت شرایط آرام قرار گرفت که در قسمت زیر آن آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه قرار داشت تا وضعیت کف پای حیوان مشخص شود. پس از گذشت یک ساعت ۵۰ میکرولیتر از محلول فرمالین ۲/۵ درصد به صورت زیرجلدی به کف پای حیوان تزریق و شدت درد حیوان بر اساس تقسیم‌بندی زیر به چهار درجه تفکیک می‌شد: ۰ (حیوان بدون توجه به پای تزریق شده می‌نشیند یا راه می‌رود؛ ۱) پای حیوان با محفظه تماس دارد، ولی حیوان وزن بدن خود را بیش‌تر روی پای سالم خود می‌اندازد؛ ۲) حیوان پنجه دردناک را به طور کامل 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

جدول ۱- مقایسه میزان وزن و گلوکز سرم در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	وزن بدن (گرم)			میزان گلوکز سرم (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)		
	هفته ۰	هفته ۲	هفته ۴	هفته ۰	هفته ۲	هفته ۴
شاهد	۲۳۸/۱ ± ۴/۲	۲۵۱/۵۲ ± ۷/۳	۲۶۷/۵ ± ۵/۹	۱۳۱/۵ ± ۱۳/۰۵	۱۲۶/۷ ± ۱۱/۰۸	۱۲۳/۴ ± ۹/۷
شاهد + ترخون	۲۵۵/۴ ± ۹/۶	۳۱۶/۸ ± ۱۱/۹*	۳۱۲/۴ ± ۱۰/۱*	۱۴۶/۵۴ ± ۱۵/۳	۱۶۶/۲ ± ۱۲/۸	۱۵۲/۹ ± ۸/۴
دیابتی	۲۴۱/۷ ± ۵/۴	۲۱۱/۳ ± ۷/۲*	۱۹۰/۷ ± ۶/۷**	۱۱۸/۹ ± ۶/۸	۴۰۹/۴ ± ۸/۴۲***	۴۰۱/۳ ± ۸/۴***
دیابتی + ترخون	۲۵۶/۳ ± ۱۳/۲	۲۵۵/۴ ± ۱۳/۷	۲۸۴/۸ ± ۱۵/۸	۱۶۶/۱ ± ۱۶/۱	۳۶۷/۸ ± ۱۵/۱***	۳۳۲/۹ ± ۱۳/۱***

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ و *** $P < 0.001$ (در مقایسه با گروه شاهد)

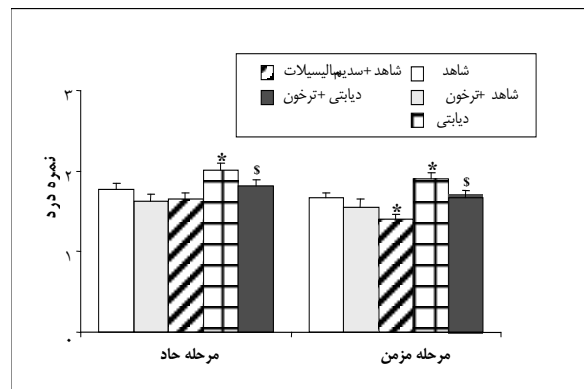
* بحث و نتیجه‌گیری :

این مطالعه نشان داد که تجویز خوراکی ترخون تغییر معنی‌داری در میزان گلوکز سرم گروه دیابتی تحت تیمار در مقایسه با گروه دیابتی شاهد به وجود نمی‌آورد، ولی یک اثر بی‌دردی در موش‌های گروه دیابتی تحت تیمار در آزمون فرمالین اعمال می‌نماید.

نتایج تحقیقات قبلی نشان داده است که موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استریتوزوتوسین به طور غیرمنتظره یک رفتار تشدید شده مربوط به درد را در آزمون فرمالین به دنبال تجویز محرک‌های شیمیایی به داخل پنجه پا پس از گذشت ۳ تا ۴ هفته نشان می‌دهند که خود دلالت بر وجود مکانیسم‌های غیرطبیعی و متعدد در پردازش نشانگان محیطی درد دارد.^(۱۰) پیش از این وجود هیپرالژزی مکانیکی به عنوان اولین نشانه نوروپاتی دیابتیک به اثبات رسیده است که علت آن تا حدودی به اثر سمی مقادیر بالای گلوکز بر سیستم عصبی محیطی و فعال شدن مسیر بیوشیمیایی آلدوز ردوکتاز نسبت داده شده است.^(۱۱) به علاوه وجود دیابت پردازش نشانگان درد را در ناحیه نخاع تحت تأثیر قرار می‌دهد.^(۱۰ و ۱۱) از طرف دیگر نتایج تحقیق‌های اخیر نشان می‌دهد که موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استریتوزوتوسین را می‌توان به عنوان الگوی درد مزمن به حساب آورد که در مورد آن نشانه‌های هیپرالژزی (تشدید پاسخ درد به یک محرک دردناک) و آلودینی (احساس درد به دنبال اعمال یک محرک که در حالت طبیعی دردناک نیست) در کوتاه مدت (۱ الی دو ماه) به خوبی مشاهده می‌شود.^(۱۲)

تزریق کف‌پایی فرمالین یک پاسخ بارز دو مرحله‌ای را در تمام گروه‌ها ایجاد نمود. هیپرالژزی القا شده بر اثر فرمالین در موش‌های دیابتی درمان نشده در هر دو مرحله آزمون فرمالین بیش‌تر از گروه شاهد بود ($P < 0.05$). تجویز سدیم‌سالیسیلات موجب کاهش معنی‌دار نمره درد فقط در مرحله مزمن آزمون فرمالین در مقایسه با گروه شاهد شد ($P < 0.05$). تجویز خوراکی ترخون به مدت یک ماه به موش‌های شاهد و دیابتی شده به ترتیب موجب کاهش نمره درد در هر دو مرحله آزمون فرمالین در مقایسه با گروه شاهد و دیابتی درمان نشده به میزان ۸/۴ و ۷/۱ درصد برای گروه شاهد تیمار شده و به میزان ۹/۴ و ۱۱/۵ درصد برای گروه دیابتی تیمار شده گردید (نمودار شماره ۱).

نمودار ۱- مقایسه میزان احساس درد در گروه‌های مورد مطالعه در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین



* $P < 0.05$ در مقایسه با گروه شاهد

S $P < 0.05$ در مقایسه با گروه دیابتی

2. Gleckman R, Mory J. Diabetes-related foot infection. *J Contemp Int Med* 1994; 6: 57-62
3. Dobretsov M, Hastings SL, Romanovsky D, Stimers JR, Zhang JM. Mechanical hyperalgesia in rat models of systemic and local hyperglycemia. *Brain Res* 2003; 960: 174-83
4. Galer BS, Gianas A, Jensen MP. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetes Res Clin Pract* 2000; 47: 123-8
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. 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: 1253-9
7. Nakamura-Craig, M, Follenfant R L. 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, 33-7
8. Swanston-Flatt SK, Day C, Bailey CJ, Flatt PR. Evaluation of traditional plant treatments for diabetes: studies in streptozotocin diabetic mice. *Acta Diabetol Lat* 1989; 26: 51-5
9. 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: 161-74
10. Cesena RM, Caleutt NA. Gabapentin prevents hyperalgesia during the formalin

با توجه به این‌که در مرحله مزمن آزمون فرمالین مکانیسم‌های محیطی و در مرحله حاد آن مکانیسم‌های مرکزی دخالت دارند^(۱۴و۱۳) و تزریق داخل صفاقی سدیم‌سالیسیلات به موش‌های گروه شاهد موجب کاهش میزان احساس درد فقط در مرحله مزمن آزمون شد، لذا این ماده از طریق یک مکانیسم محیطی اثرات خود را اعمال می‌کند که این نتیجه در تحقیق حاضر مشاهده می‌شود.

نتایج به دست آمده در این بررسی نشان داد که مصرف خوراکی ترخون به مدت یک ماه موجب کاهش معنی‌دار پاسخ نوسیسپتینو در هر دو مرحله آزمون فرمالین می‌شود. نتایج تحقیق‌های قبلی نشان داده است که ترخون حاوی مقدار زیادی از فلاونوئیدها با خاصیت محافظت‌کننده در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از حالت هیپرگلیسمی و موادی با خاصیت مشابه بنزودیازپین‌ها است.^(۱۵و۸) لذا اثرات بی‌دردی ترخون در گروه دیابتی در این تحقیق را می‌توان به وجود چنین موادی نسبت داد و انجام تحقیق‌های بیش‌تر جهت روشن نمودن مکانیسم بی‌دردی و ضد هیپرآلژزیک آن توصیه می‌شود.

تجویز خوراکی ترخون به مدت یک ماه در موش‌های صحرائی دیابتی شده هر چند نمی‌تواند موجب بهبود حالت هیپرگلیسمیک و کاهش میزان گلوکز سرم شود، ولی قادر به تخفیف معنی‌دار هیپرآلژزی ناشی از دیابت قندی در آزمون فرمالین است.

* سپاسگزاری :

از همکاری سرکار خانم فریبا انصاری در انجام آزمایش‌ها قدردانی می‌شود.

* مراجع :

1. ADA. Clinical practice recommendation, screening for diabetes. *Diabetes Care* 1997; 20: 22-4

formalin concentration. Pain 1990;42:235-42

14. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. Pain 1989; 38: 347-52

15. Kavvadias D, Abou-Mandour A A, Czygan F C, Beckmann H, Sand P, Riederer P, Schreier P. Identification of benzodiazepines in artemisia dracunculoides and solanum tuberosum rationalizing their endogenous formation in plant tissue. Biochem Biophys Res Commun 2000; 269: 290-5

test in diabetic rats. Neurosci Lett 1999; 262: 101-4

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

12. 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 Complic 1999; 13: 163-9

13. Rosland J H, Tjolsen A, Maehle B, Hole K. The formalin test in mice-effect of