magiran.com

مجلهٔ غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
سال پنجم، شمارهٔ ۴، صفحه‌های ۲۵۹ - ۲۵۵ (زمستان ۱۳۸۲)

مقالهٔ پژوهشی

اثر آنالژزیک عصارهٔ آبی برگ گشنیز در موش‌های صحرایی نر دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین

دکتر مهرداد روغنی، علی باقری، سید مسعود اطیابی، علی هداوند خانی

چکیده

مقدمه: هیپرآلژزی یکی از علایم مهم نوروپاتی دیابتی است که از شکایات بالینی افراد مبتلا محسوب می‌شود و نحوهٔ زندگی این افراد را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تعدیل درد در این افراد از اهمیت زیادی برخوردار است، از این رو، در این مطالعه اثر آنالژزیک عصارهٔ آبی برگ گشنیز در موش‌های صحرایی نر که با استرپتوزوتوسین (STZ) در آنها دیابت قندی ایجاد شده بود، با استفاده از آزمون فرمالین در دو فاز حاد و مزمن بررسی شد. مواد و روش‌ها: در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدودهٔ وزنی ۳۵۰ –۲۵۰ گرم استفاده شد. موش‌ها به طور تصادفی به سه گروه شاهد، گروه دیابتی و گروه دیابتی درمان شده با عصارهٔ آبی برگ گشنیز تقسیم شدند. برای القای دیابت در حیوانات از داروی استرپتوزوتوسین (STZ) به صورت تک دوز به میزان mg/Kg ۶۰ استفاده گردید. پس از گذشت یک ماه، آزمون فرمالین روی تمام موش‌ها انجام گرفت. یافته‌ها: نتایج به دست آمده از آزمون فرمالین نشان داد که میزان درد در موش‌های دیابتی پس از گذشت یک ماه در اینتروال دوم از فاز حاد آزمون فرمالین (فاصلهٔ زمانی ۱۰-۵) افزایش معنی‌داری (p<۰/۰۰۱) نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد (افزایش ۷۶٪). در حالی که تفاوت موجود بین دو گروه شاهد و دریافت کنندهٔ عصاره آبی برگ گشنیز در همین فاصلهٔ زمانی کمتر معنی‌دار (p<۰/۰۵) است. با وجود این، میزان درد در موش‌های دیابتی دریافت کنندهٔ عصاره در دو فاز حاد و مزمن آزمون فرمالین هیچ گونه تفاوت معنی‌داری نسبت به هم نشان نداد. نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تجویز عصارهٔ آبی برگ گشنیز به میزان mg/Kg ۱۰۰ به مدت یک ماه به موش‌های دیابتی کاهش معنی‌داری در میزان گلوکز خون و میزان احساس درد در مراحل حاد و مزمن آزمون فرمالین به وجود نمی‌آورد.

واژگان کلیدی: دیابت تیپ ۱، گشنیز، هیپرآلژزی، آزمون فرمالین، موش صحرایی

مقدمه

دیابت قندی یکی از شایعترین بیماری‌های آندوکرین به شمار می‌رود که هیپرگلیسمی ناشی از آن با عوارض متعددی از جمله افزایش احساس درد (هیپرآلژزی) و علایم نوروپاتی محیطی همراه است. درد ناشی از نوروپاتی اعصاب محیطی یکی از شکایات مهم بالینی افراد مبتلا به دیابت قندی است و کیفیت زندگی این افراد را تحت تأثیر قرار می‌دهد. بنابراین تعدیل درد در این افراد از اهمیت زیادی برخوردار است.[۱،۲] نتایج برخی تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که قند خون بالا با اعمال اثرات توکسیک بر سیستم عصبی محیطی یکی از علل بروز نوروپاتی دردناک است. علاوه بر این اثرات سیستمیک هیپرگلیسمی نیز می‌تواند موجب بروز نوروپاتی شود.[۳] به علاوه، نتایج برخی تحقیقات دیگر نشان می‌دهد که هیپرگلیسمی تأثیری در تغییر آستانهٔ درد ندارد.[۴]

گروه فیزیولوژی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه شاهد
نشانی مکاتبه: تهران، بلوار کشاورز، خیابان شهید عبدالله زاده (دهکده)، دانشکدهٔ پزشکی شاهد، دکتر مهرداد روغنی
E-mail: mehjour@yahoo.com

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

magiran.com

با توجه به اینکه گیاه گشنیز[i] در درمان سنتی دیابت مورد استفاده قرار گرفته است و نتایج بررسی‌های اخیر نشان می‌دهد که عصارهٔ گیاه گشنیز دارای خاصیت پایین‌آورندگی قند خون است،[۵-۷] به نظر می‌رسد که عصارهٔ این گیاه می‌تواند در درمان هیپرآلژزی ناشی از نوروپاتی دیابتی مؤثر واقع شود. عصارهٔ گشنیز با افزایش فعالیت آنزیم گلیکوژن سنتاز و افزایش غلظت گلیکوژن کبدی و تحریک مسیر گلیکولیز و پنتوز فسفات از طریق افزایش آنزیم‌های گلیکولیتیک و گلوکز ۶-فسفات دهیدروژناز و مهار آنزیم‌های گلوکونئوژنیک و گلیکوژن فسفریلاز و در نتیجه مهار روندهای گلیکونئوژنز و گلیکوژنولیز بر متابولیسم کربوهیدرات‌ها مؤثر است و سطح گلوکز خون را کاهش می‌دهد.[۵] همچنین فعالیت شبه انسولین و خاصیت آزاد کنندگی انسولین در گیاه گشنیز در تحقیقات اخیر به اثبات رسیده است.[۶] لذا در این پژوهش اثر عصارهٔ آبی برگ گشنیز بر میزان احساس درد در موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت قندی القا شده توسط استرپتوزوتوسین با استفاده از آزمون فرمالین در دو مرحلهٔ حاد و مزمن مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

حیوانات

در این تحقیق از موش صحرایی نر آلبینو نژاد ویستار[ii] در محدودهٔ وزنی ۳۵۰ –۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط نوری طبیعی در دمای ۱۹ تا ۲۳ درجهٔ سانتیگراد نگهداری شدند[۴] و آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. تمامی موش‌ها حداقل یک هفته قبل از شروع آزمایش‌ها به حیوانخانهٔ دانشکدهٔ پزشکی و یک ساعت قبل از انجام آزمون فرمالین به آزمایشگاه منتقل می‌شدند تا با شرایط آزمایشگاهی سازش حاصل نمایند.

روش تهیهٔ عصارهٔ آبی برگ گشنیز

پس از تهیهٔ گشنیز در فصل تابستان و تأیید علمی و سیستماتیک آن، برگ‌های سبز و تازهٔ آن جدا و سپس در درجه حرارت اتاق و در سایه خشک شدند. ۱۰۰ گرم از پودر برگ خشک شده به یک لیتر آب ۶۰ درجهٔ سانتیگراد اضافه گردید. پس از ۴ ساعت محلول به دست آمده از صافی رد شد و روی بن ماری خشک گردید. عصاره تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجهٔ سانتیگراد نگهداری شد. محلول عصاره با غلظت‌های پایین‌تر از طریق حل نمودن آن در محلول سالین فیزیولوژیک به دست آمد.

روش انجام کار

در این بررسی از آن دسته موش‌های صحرایی نر استفاده شد که در شرایط طبیعی بدون برقراری حالت روزه‌داری میزان گلوکز سرم آنها پایین‌تر از حد ۲۰۰mg/dL بود. به علاوه، ملاک دیابتی شدن موش، میزان گلوکز بالاتر از این حد در نظر گرفته شد.[۸] موش‌ها به طور کاملاً تصادفی به سه گروه تقسیم شدند. گروه شاهد شامل موش‌های سالمی که عصاره دریافت نکرده بودند، گروه دیابتی شامل موش‌های دیابتی که عصاره دریافت نکرده بودند و گروه دیابتی تحت تزریق عصارهٔ آبی برگ گشنیز که با تزریق ۱۰۰mg/Kg عصارهٔ آبی برگ گشنیز به صورت یک روز در میان به مدت یک ماه تحت درمان قرار گرفتند. تعداد متوسط موش در هر گروه چهارده سر بود. برای دیابتی نمودن حیوانات از داروی استرپتوزوتوسین به صورت داخل صفاقی و تک دوز به میزان ۶۰ mg/Kg حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده گردید. حجم تزریق محلول به حیوانات در هر گروه ۰/۵ میلی‌لیتر بود. پس از گذشت یک ماه، آزمون فرمالین روی تمام موش‌ها انجام گرفت. در این ارتباط در مورد هر موش، آزمون فرمالین فقط یک بار انجام پذیرفت. اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (زیست شیمی) و با استفاده از اسپکتروفتومتر به انجام رسید.

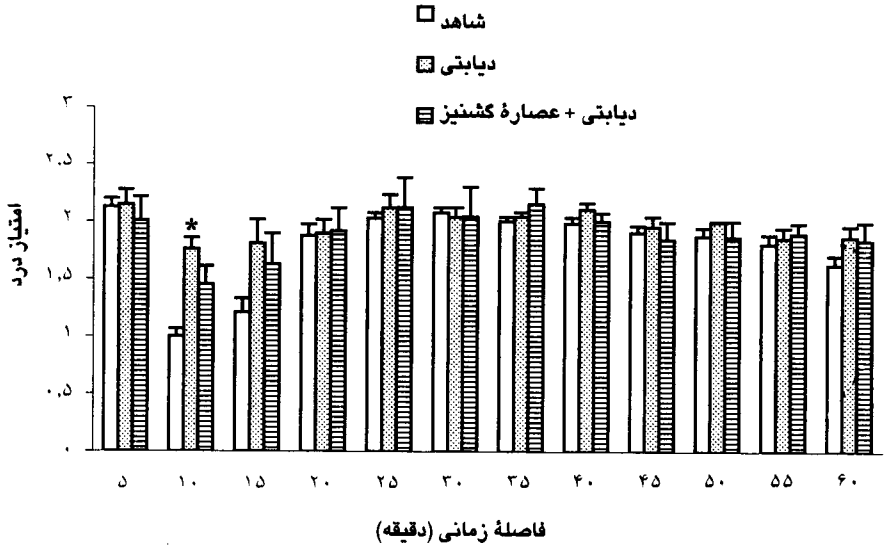
آزمون فرمالین

برای این آزمون از روش متداول دوبوئیسون و دنی استفاده گردید.[۹] بدین ترتیب که حیوان در یک محفظه از جنس پلکسی گلاس (۳۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر) قرار می‌گیرد. پس از گذشت یک ساعت ۵۰ میکرولیتر از محلول فرمالین ۲/۵ درصد به صورت زیر جلدی به کف پای حیوان تزریق شد و شدت درد حیوان بر اساس تقسیم‌بندی زیر به چهار درجه تفکیک گردید: صفر- حیوان بدون توجه به پای تزریق شده می‌نشیند یا راه می‌رود؛ ۱- پای حیوان با محفظه تماس داشته، ولی حیوان وزن بدن را بیشتر روی پای سالم خود می‌اندازد؛ ۲- حیوان پنجهٔ دردناک را کاملاً از سطح محفظه

i- Coriandrum sativum
ii- Wistar

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

magiran.com



نتایج به صورت mean±SE نشان داده شده‌اند. * p<۰/۰۰۱

نمودار ۱- اثر تزریق عصارهٔ آبی برگ گشنیز به میزان mg/Kg ۱۰۰ بر میزان احساس درد در فواصل زمانی ۱۰ دقیقه‌ای در موش‌های صحرایی دیابتی شده پس از گذشت یک ماه در آزمون فرمالین.

بلند می‌کند؛ و ۳ - حیوان پنجهٔ تزریق شده را از شدت درد می‌لیسد، گاز می‌گیرد یا به شدت تکان می‌دهد. ثبت پاسخ‌های رفتاری بلافاصله پس از تزریق فرمالین آغاز و تا دقیقهٔ 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 می‌آید. میانگین درد در ده دقیقهٔ اول بعد از تزریق فرمالین به عنوان مرحلهٔ ابتدایی[i] یا حاد و در دقایق ۱۶ تا ۶۰ به عنوان مرحلهٔ مزمن یا تأخیری[ii] در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری

تمام داده‌ها در بررسی حاضر به صورت میانگین± انحراف معیار بیان شده است. برای آنالیز آماری از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و در صورت معنی‌دار شدن از آنالیز توکی[iii] استفاده گردید. به علاوه p<۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای آنالیز آماری از برنامهٔ Instat Graphpad و برای رسم نمودار از برنامهٔ Microsoft Excel 97 استفاده گردید.

یافته‌ها

در مطالعهٔ حاضر اثر ضد درد عصارهٔ آبی برگ گشنیز به میزان mg/Kg ۱۰۰ (یک روز در میان) به صورت داخل صفاقی پس از گذشت یک ماه در موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین (۶۰mg/Kg) با استفاده از آزمون فرمالین مورد بررسی قرار گرفت. با اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم مشخص شد که میزان قند خون در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت درمان با عصاره، بالاتر از mg/dL ۴۰۰ می‌باشد و گروه درمان تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی از این نظر نشان نداد (جدول ۱). نتایج به دست آمده از آزمون فرمالین نشان داد (نمودار ۱) که میزان درد در موش‌های دیابتی پس از گذشت یک ماه در اینتروال دوم از فاز حاد آزمون فرمالین (فاصلهٔ زمانی ۱۰-۵) افزایش معنی‌داری (p<۰/۰۰۱) نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد (افزایش ۷۶٪)، در حالی که تفاوت موجود بین دو گروه شاهد و دریافت کنندهٔ عصارهٔ آبی برگ گشنیز در همین فاصلهٔ زمانی کمتر معنی‌دار (p<۰/۰۵) است. با این وجود میزان درد در موش‌های دیابتی دریافت کنندهٔ عصاره در دو فاز حاد و مزمن آزمون فرمالین تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه

i- First phase
ii- Latent phase
iii- Tukey

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

magiran.com

دیابتی درمان نشده نشان نداد. جدول (۲) میزان درد را در دو مرحلهٔ حاد و مزمن و نمودار (۱) میزان درد را در فواصل زمانی مختلف طی یک ساعت در گروه‌های مختلف در آزمون فرمالین نشان می‌دهد.

جدول ۱- اثر عصارهٔ آبی برگ گشنیز بر میزان گلوکز سرم در گروه‌های مختلف

هفته	شاهد	دیابتی	دیابتی+ عصاره گشنیز
۰	۱۰۷/۴ ±۵/۸*	۹۹/۸ ±۶/۱	۱۰۸/۹ ±۴/۷
۴	۱۰۱/۹ ± ۵/۶	۴۵۷/۱ ±۱۷/۸†	۴۳۹/۶ ±۱۹/۲†

* نتایج به صورت Mean ± S.E.M. بیان شده است.

† $p<۰/۰۰۰۵$ در مقایسه با گروه شاهد

جدول ۲- اثر عصارهٔ آبی برگ گشنیز بر میزان درد در گروه‌های مختلف در آزمون فرمالین

مرحله	شاهد	دیابتی	دیابتی+عصارهٔگشنیز
حاد	۱/۵۶ ± ۰/۰۷*	۱/۹۵ ± ۰/۱۲†	۲/۱۱ ± ۰/۱۸†
مزمن	۱/۹۱ ± ۰/۰۶	۱/۹۹ ± ۰/۰۸	۱/۹۷ ± ۰/۱۶

* نتایج به صورت Mean ± S.E.M. بیان شده است.

† $p<۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه شاهد

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تجویز عصارهٔ آبی برگ گشنیز به میزان ۱۰۰ mg/Kg (یک روز در میان) به صورت داخل صفاقی پس از گذشت یک ماه به موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین (۶۰mg/Kg) تغییر معنی‌دار در میزان گلوکز خون و میزان احساس درد در آزمون فرمالین (دو فاز حاد و مزمن) در مقایسه با گروه دیابتی (که عصاره دریافت نمی‌کند) به وجود نمی‌آورد. نتایج تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین به طور غیر منتظره یک رفتار تشدید شدهٔ مربوط به درد را در آزمون فرمالین به دنبال تجویز محرک‌های شیمیایی به داخل پنجهٔ پا پس از گذشت ۴-۳ هفته نشان می‌دهند که خود دلالت بر وجود مکانیسم‌های غیر طبیعی و متعدد در پردازش سیگنال‌های محیطی درد دارد.[۱۰] قبلاً وجود هیپرآلژزی مکانیکی به عنوان اولین نشانهٔ نوروپاتی دیابتی به اثبات رسیده است که علت آن تا حدودی به اثرات توکسیک مقادیر بالای گلوکز بر سیستم عصبی محیطی و فعال شدن مسیرهای بیوشیمیایی آلدوز ردوکتاز و مسیر سنتز الکل‌های با چند گروه هیدروکسیل نظیر اینوزیتول نسبت داده شده است.[۱۱-۱۳] به علاوه وجود دیابت پردازش سیگنال‌های درد را در ناحیهٔ نخاع تحت تأثیر قرار می‌دهد.[۱۲] با این وجود شواهدی یافت می‌شود که بر آن اساس هیپرگلیسمی به تنهایی نمی‌تواند در برخی مدل‌های تجربی دیابت هیپرآلژزی ایجاد نماید.[۱۳] شواهد تحقیقاتی متعددی مبنی بر اثربخشی عصارهٔ گیاه گشنیز در گیاه درمانی دیابت قندی یافت می‌شود که در این ارتباط وجود مواد پایین آورندهٔ قند خون در آن به اثبات رسیده است و خود عصاره فعالیت آزادکنندگی انسولین و فعالیت شبه انسولینی نشان می‌دهد.[۶] به علاوه نتایج تحقیقات متعدد مشخص نموده است که عصارهٔ گیاهانی نظیر گشنیز می‌تواند قند خون را کاهش دهد و این عمل را عمدتاً از طریق افزایش تجزیهٔ مواد قندی، افزایش تحمل گلوکز، افزایش فعالیت آنزیم‌های هگزوکیناز و فسفوگلوکوموتاز در راه گلیکولیز، افزایش سنتز گلیکوژن و کاهش تجزیهٔ آن (کاهش فعالیت آنزیم گلیکوژن فسفریلاز) در کبد، افزایش مصرف گلوکز در راه پنتوز فسفات (افزایش فعالیت آنزیم گلوکز ۶-فسفات دهیدروژناز) و کاهش گلوکونئوژنز (کاهش فعالیت آنزیم گلوکز ۶-فسفاتاز در کبد) انجام می‌دهند.[۱۱] نتایج تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین را می‌توان به عنوان مدل درد مزمن به حساب آورد که در مورد آن نشانه‌های هیپرآلژزی و آلودینی[i] در کوتاه مدت (۱ الی دو ماه) به خوبی مشاهده می‌شود.[۱۳،۱۴] در بررسی حاضر با توجه به این موضوع که هیچ گونه کاهش معنی‌دار در میزان گلوکز سرم در موش‌های دیابتی درمان شده با عصارهٔ آبی برگ گشنیز در مقایسه با گروه دیابتی مشاهده نشد، منطقی به نظر می‌آید که میزان درد در گروه تحت درمان نیز کاهش معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی نشان ندهد که این بخوبی در نتایج به دست آمده مشهود است.

به طور خلاصه، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تجویز عصارهٔ آبی برگ گشنیز به میزان ۱۰۰ mg/Kg به مدت یک ماه به موش‌های دیابتی کاهش معنی‌داری در میزان گلوکز خون و میزان احساس درد در مراحل حاد و مزمن آزمون فرمالین ایجاد نمی‌کند؛ بنابراین تجویز عصاره در دوزهای

i- Allodynia

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

magiran.com

بالاتر و برای مدت طولانی‌تر در مدل تجربی دیابت در تحقیقات آتی به عنوان یک پیشنهاد توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم فریبا انصاری کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکدهٔ پزشکی شاهد در تهیهٔ عصاره و کمک به انجام آزمایش‌ها اعلام می‌دارند.

References

1. Galer BS, Gianas A, Jensen MP. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. Diabetes Res Clin Pract 2000; 47:123-8.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. Chithra V, Leelamma S. Coriandrum sativum--effect on lipid metabolism in 1,2-dimethyl hydrazine induced colon cancer. J Ethnopharmacol 2000; 71:457-63.
6. Gray AM, Flatt PR. Insulin-releasing and insulin-like activity of the traditional anti-diabetic plant Coriandrum sativum (coriander). Br J Nutr 1999; 81:203-9.
7. Genet S, Kale RK, Baquer NZ. Effects of vanadate, insulin and fenugreek (Trigonella foenum graecum) on creatine kinase levels in tissues of diabetic rat. Indian J Exp Biol 1999; 37:200-2.
8. Swanston-Flatt SK, Day C, Bailey CJ, Flatt PR. Traditional plant treatments for diabetes. Studies in normal and streptozotocin diabetic mice. Diabetologia 1990; 33:462-4.
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, Calcutt NA. Gabapentin prevents hyperalgesia during the formalin test in diabetic rats. Neurosci Lett 1999;262:101-4.
11. Chithra V, Leelamma S. Coriandrum sativum changes the levels of lipid peroxides and activity of antioxidant enzymes in experimental animals. Indian J Biochem Biophys 1999; 36:59-61.
12. Calcutt NA. Potential mechanisms of neuropathic pain in diabetes. Int Rev Neurobiol 2002; 50:205-28.
13. Piercy V, Banner SE, Bhattacharyya A, Parsons AA, Sanger GJ, Smith SA, et al. Thermal, but not mechanical, nociceptive behavior is altered in the Zucker Diabetic Fatty rat and is independent of glycemic status. J Diabetes Complications 1999; 13:163-9.
14. Courteix C, Bardin M, Chantelauze C, Lavarenne J, Eschalier A. Study of the sensitivity of the diabetes-induced pain model in rats to a range of analgesics. Pain 1994; 57: 153-60.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]