اثر عصاره آبی خرما و ملاتونین بر آستانه درد نوروپاتی در موشهای صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

ماندانا جعفری [1] دکتر ناصر زنگی‌آبادی [2] دکتر هاله تاج‌الدینی [3] دکتر محمد شعبانی [4] دکتر وحید شیبانی [4] دکتر امیرحسین قاسمی [5] دکتر میثم شهیدی [5]

[1] کارشناس گروه زیست‌شناسی، مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس [2] استادیار گروه نورولوژی، [3] استادیار گروه فیزیولوژی، [4] دانشیار گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب [5] پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

مجله پزشکی هرمزگان سال هفدهم شماره چهارم مهر و آبان ۹۲ صفحات ۲۹۷-۲۸۹

چکیده

مقدمه: *دیابت قندی اغلب با درد نوروپاتیک مزمن همراه است. بررسی تأثیر آنتی اکسیدانها در تسکین درد نوروپاتیک دیابتی حائز اهمیت است. هدف از انجام این مطالعه مقایسه اثر عصاره آبی خرما و ملاتونین در پیشگیری از هیپرآلژزی نوروپاتیک در موشهای صحرایی نر دیابتی شده با تزریق تک دوز استرپتوزوتوسین(STZ) بود.*

روش کار: *این مطالعه تجربی بر روی موشهای نژاد Spraque dawley در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرمی انجام شد. موشهای صحرایی به پنج گروه: کنترل، شم (sham)، دیابتی دریافت کننده ملاتونین، عصاره خرما و حلال تقسیم شدند. القای دیابت با تزریق داخل صفاقی ٤٥ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استرپتوزوتوسین حل شده در بافر سیترات M ۰/۰۵ انجام شد. پس از تأیید دیابتی بودن موشها، موشهای گروه دیابتی به مدت ٦ هفته ملاتونین (10 mg/kg/day)، عصاره خرما (4 ml/kg/day) و حلال دریافت کردند. در انتهای هفته ششم موشهای کنترل و تیمار شده تحت بررسی آزمونهای Hot Plate و Tail Flick قرار گرفتند. جهت بررسی تفاوت آماری از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد و $P<0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.*

نتایج: *در انتهای هفته ششم در آزمون Hot Plate در بررسی زمان پاسخ به هیپرآلژزی حرارتی کاهش معنی‌داری در گروه حلال نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($P<0/01$)، تجویز عصاره خرما باعث افزایش زمان پاسخ به هیپرآلژزی حرارتی نسبت به گروه حلال شد ($P<0/01$)، به طوری که زمان پاسخ به درد به گروه کنترل نزدیک شد. در آزمون Hot Plate تجویز ملاتونین هر چند که زمان پاسخ به درد را به گروه کنترل نزدیک کرد اما اختلاف معنی‌داری بین گروه دریافت کننده ملاتونین با هیچ یک از گروهها مشاهده نشد.*

نتیجه‌گیری: *یافته‌های این مطالعه نشان داد که مصرف عصاره خرما و ملاتونین هر دو به عنوان یک آنتی اکسیدان قادر به کاهش هیپرآلژزی نوروپاتیک در حیوانات مبتلا به دیابت است. اما اثر حفاظتی عصاره خرما در پیشگیری از بروز هایپرآلژزی نوروپاتیک دیابتی قویتر از ملاتونین است.*

کلیدواژه‌ها: *ملاتونین – دیابت –نوروپاتی – هایپرآلژزی*

نویسنده مسئول:
دکتر ناصر زنگی‌آبادی
مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان
کرمان – ایران
تلفن: ۲۲٦۳۷۹۰ ۳٤۱ ۹۸+
پست الکترونیکی:
nzangiabadi1@gmail.com

دریافت مقاله: ۹۰/۸/۷ اصلاح نهایی: ۹۰/۱۲/۲۳ پذیرش مقاله: ۹۱/۳/۲۴

مقدمه:

بیماری دیابت قندی(DM) یکی از مهمترین بیماریها با عوارض ناتوان‌کننده در جامعه بشری می‌باشد. دیابت قندی با اختلالات متابولیکی و عوارض درازمدت در ارگانهای مختلف از جمله چشمها، کلیه‌ها، اعصاب و عروق خونی همراه است.

بیماری دیابت شایع‌ترین علت بروز پلی‌نوروپاتی در طب بالینی است و دردهای نوروپاتی یکی از شایع‌ترین و آزاردهنده‌ترین علائم عارضه نوروپاتی دیابتی می‌باشند.

دردهای نوروپاتی در هر دو نوع دیابت ۱ و ۲ دیده می‌شوند (۱،۲). نوروپاتی ناشی از دیابت اغلب با هایپرآلژزیا و آلودینا همراه است (۳). اگرچه مطالعات زیادی تحلیل عصب یا تغییر در سیستم نوروترانسمیتری را مسئول تغییر درک درد در بیماران دیابتی گزارش کرده‌اند(٤،٥)، لکن مکانیسم دقیق آن هنوز شناخته نشده است. عوارض همراه داروهای شیمیایی در برطرف کردن درد باعث شده است که امروزه استفاده از داروهای گیاهی مورد توجه ویژه‌ای قرار گیرد. برخی مطالعات نشان داده‌اند که دیابت قندی اغلب با درد نوروپاتیک مزمن همراه است و استرس اکسیداتیو نقش مهمی در پیدایش بسیاری از تغییرات نورولوژیک و رفتاری در بیماران دیابتی ایفا می‌کند (٦،٧). بنابراین بررسی تأثیر آنتی‌اکسیدانها در تسکین درد نوروپاتیک دیابتی از اهمیت خاصی برخوردار است.

ملاتونین (٦،٧) به علت اثرات آنتی‌اکسیدانی ثابت شده، از جمله داروهای کاندید جهت کاهش آسیب نورونی و همچنین کاهش دردهای نوروپاتیک ناشی از بیماری دیابت مطرح شده است. ملاتونین از طریق اتصال به رسپتورهای MT1 و MT2 و سپس کاهش تولید cAMP باعث کاهش احساس درد می‌شود (۸). همچنین مشخص شده که ملاتونین قادر است به صورت غیرمستقیم باعث فعال شدن رسپتورهای اپیوئیدی شود و از این طریق باعث افزایش آستانه درد شود (۹). ملاتونین از مسیرهای مختلف دیگری از جمله مهار سیکلواکسیژناز و مهار تولید رادیکالهای آزاد نیز می‌تواند باعث توقف پروسه التهابی شود و به عنوان دارویی جهت کاهش دردهای نوروپاتیک استفاده شود (۱۰).

امروزه اثر آنتی‌اکسیدانی قوی چندین مکمل غذایی مشخص شده است. یکی از این مکمل‌های غذایی خرما است که گیاهی از خانواده Palmaceae با نام Phoenix Dactylifera است که اثرات آنتی‌اکسیدانی (۱۱) و ضد باکتریایی (۱۲) دارد و تأثیر آن بر روی سیستم ایمنی مشخص شده است. خرما به علت محتویات قندی، ویتامینها، اسیدهای چرب و پروتئینها از اهمیت ویژه‌ای در سیستم تغذیه‌ای انسان برخوردار است (۱۳) و به خاطر آثار ضد دردی در طب سنتی برای درمان کمردرد، دردهای روماتیسمی، سرفه‌ها و دردهای سینه استفاده می‌شود (١٤). .در ضمن ما در مطالعه قبلی نشان دادیم که عصاره خرما گلوکز خون را افزایش نمی‌دهد (۱۵). با توجه به آثار ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضد دردی دو ماده عصاره خرما وملاتونین و با در نظر گرفتن نقشی که این دو ماده در تشکیل رادیکالهای آزاد و سیتوکین‌ها دارند، این مطالعه با هدف بررسی اثر احتمالی عصاره خرما ومقایسه آن با اثر ملاتونین در پیشگیری از بروز هیپرآلژزی نوروپاتیک پس از ایجاد مدل دیابت در موشهای نر انجام شد.

روش کار:

این مطالعه تجربی بر روی موشهای نژاد Spraque dawley در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرمی انجام شد. حیوانات در طول دوره تیمار به استثنای زمان آزمون در شریط استاندارد با درجه حرارت ۲±۲۲ درجه سانتی گراد و دوره های ۱۲ ساعته تاریکی و روشنایی قرار داشتند در حالی که غذا و آب به طور آزادانه در اختیار داشتند.

موشهای صحرایی به پنج گروه: کنترل، sham، دیابتی دریافت‌کننده ملاتونین و عصاره خرما و حلال تقسیم شدند (حداقل ۸ موش در هر گروه).

القای دیابت با تزریق داخل صفاقی 45 mg (١٦،١٧) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استرپتوزوتوسین (STZ)، حل شده در بافر سیترات 0.05M (۱۸) انجام شد. سنجش قندخون برای تشخیص القای دیابت در انتهای هفته اول بعد از تزریق STZ و با استفاده از خون سیاهرگ دمی با کمک کیت گلوکومتر (ACCU-CHEK) انجام شد. حیوانات با قند خون بیش از ۲۰۰ میلی گرم در دسی لیتر به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند (۱۷،۱۹). در این مطالعه جهت جلوگیری از ایجاد هایپرآلژزی نوروپاتی از مواد آنتی اکسیدانی ملاتونین (۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن، داخل صفاقی) (۱۸) و از عصاره آبی خرما (٤ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن موش در روز، به صورت گاواژ) (۲۰) درست از روز تشخیص دیابتیک بودن موشها (انتهای هفته اول) به مدت ٦ هفته استفاده شد. گروه شاهد

(حلال) شبیه گروه عصاره خرما، آب مقطر از انتهای هفته اول به بعد به مدت ٦ هفته دریافت کردند (٢١).

جهت روش ارزیابی درد در ٢ مدل Tail Flick و Hot Plate استفاده شد.

آزمون Tail Flick یکی از آزمونهای استاندارد برای اندازه‌گیری میزان هایپرآلژزیا می‌باشد. در این آزمون نور حرارتی با شدت ٥ به قسمت انتهای دم حیوان توسط دستگاه Tail Flick (LE7406) تابانده شد و زمان تأخیری پس کشیدن دم (Tail Flick Latency) از زمان شروع تاباندن حرارت تا برداشتن دم بر حسب ثانیه اندازه‌گیری شد. جهت جلوگیری از آسیب بافتی حداکثر زمان تاباندن نور به دم ١٠ ثانیه در نظر گرفته شد. برای هر حیوان زمان تأخیری پس کشیدن دم ٣ بار اندازه‌گیری شد و میانگین ٣ بار اندازه‌گیری به عنوان زمان تاخیری (TFL) گزارش شد. بین هر بار اندازه‌گیری فاصله زمانی ٥ دقیقه در نظر گرفته شد (٢٢).

ابزار دیگری که جهت سنجش حساسیت نسبت به درد مورد استفاده قرار گرفت، دستگاه Hot Plate (LE7106) بود. دستگاهی که شامل یک صفحه به قطر 19CM و دیواره‌ای از جنس پلکسی گلاس به ارتفاع 30CM است. این دستگاه که از طریق مقاومت الکتریکی داغ می‌شود، متصل به زمان‌سنج و ترموستات است. درجه گرمای صفحه ٥٢ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. زمان پاسخ به درد حرارتی از زمان شروع آزمون تا زمانی که حیوان شروع به لیسیدن پاهای جلویی یا پرش می‌کرد، محاسبه شد. حداکثر زمان (Cut Off) واکنش حیوان در برابر درد حرارتی ٦٠ ثانیه در نظر گرفته شد (٢٢).

آماده سازی داروها:

جهت تهیه عصاره آبی خرما پس از تهیه خرمای مضافتی تازه از باغات شهرستان بم ، هسته خرما جدا شده و ١٠٠ گرم از گوشت خرما در ١٠٠٠ لیتر آب مقطر به مدت ٤٨ ساعت خیسانده شد و سپس در مخلوط کن کاملاً مخلوط شده آنگاه مخلوط آماده شده در ٤ درجه سانتی گراد به مدت ٢٠ دقیقه و با دور ٤٠٠٠ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. پس از رسوب ناخالصی های موجود محلولی که در قسمت بالایی قرار داشت، جهت گاواژ استفاده شد (٢٣).

داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار ارائه شد. جهت بررسی تفاوت آماری از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. در صورت معنی‌دار بودن، جهت بررسی تفاوت بین گروهها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. $P<٠/٠٥$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج:

مشخصات متابولیک:

در گروههای دیابتی غلظت گلوکز پلاسما در انتهای هفته اول به میزان ٢٩٦/١٩٪ بیشتر از گروه کنترل بوده است (P٠/٠٠٠١).

همچنانکه در جدول شماره ١ مشاهده می‌شود، وزن بدن موشهای دیابتیک بعد از ٧ هفته کمتر از گروه کنترل بود.

جدول شماره ١- وزن بدن قبل و بعد از مداخله و سطح گلوکز خون در تمامی گروهها

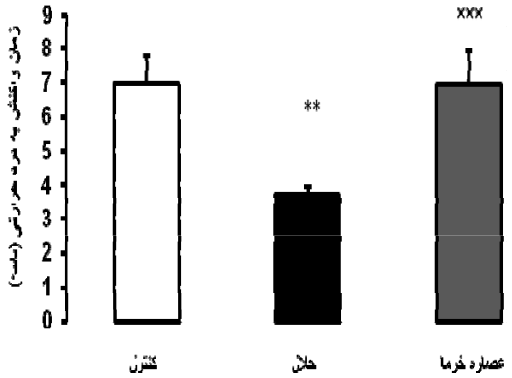
گروه (٨ عدد)	وزن بدن قبل از تزریق استرپتوزوتوسین(گرم)	وزن بدن بعد از مداخله (گرم)	قند خون (میلی گرم/ دسی لیتر)
کنترل	٢٦٥±٤/٢٢	٢٨٦/٢٥±٥/٣٢	١٠٦/٢٥±٤/١٦
شم (sham)	٢٦١/٢٥±٢/٩٥	٢٢٠±٥/٠١	٣٠٦/٢٥±١٩/٤٥
حلال	٢٦٢/٥±٢/٦٧	٢١٩/٧٥±٥/١٤	٣٣٣/٧٥±٣٠/١١
عصاره خرما	٢٦٦/٢٥±٣/٧٥	٢٤٧/٢٥±٣/٨٥	٢٨٨/٨٧±٢٤/١٧
ملاتونین	٢٦٥±٤/٢	٢٤٦/٢±٤/٨	٢٧٠/٧±٢٥/٧

* داده‌ها به صورت میانگین ±انحراف معیار هستند.

درمان با عصاره خرما به مدت ٦ هفته تأثیر معنی‌داری بر سطح گلوکز خون موشهای دیابتی نداشت. اما تفاوت معنی‌داری در وزن بدن موشهای این گروه با گروه sham مشاهده شد ($P<٠/٠١$) (جدول شماره ١).

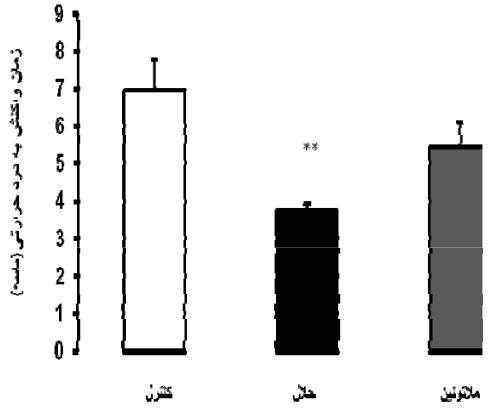
بررسی عصاره آبی خرما در پیشگیری از ایجاد هایپرآلژزی نوروپاتی دیابتی با استفاده از آزمون Hot Plate نشان می‌دهد که دیابت و افزایش قندخون به مدت طولانی باعث ایجاد هایپرآلژزی نوروپاتی و کاهش زمان واکنش به درد حرارتی در می‌شود، به گونه‌ای که در هفته ششم پس از القاء دیابت نیز زمان واکنش به درد حرارتی در گروه دیابتی دریافت کننده حلال عصاره خرما کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد (Reaction time :Non diabetic Control; 6.97+0.8VS-Vehicle; 3.7+0.2, P<0.01)

استفاده از عصاره آبی خرما به مدت ٦ هفته به صورت گاواژ در موشهای دیابتی شده با STZ باعث افزایش معنی‌داری در زمان واکنش به درد در آزمون Hot Plate نسبت به گروه دیابتی دریافت کننده حلال شد. (Vehicle; 3.7+0.2, Date Extract 6.9+0.9, P<0.001)، در حالی که در زمان واکنش به درد حرارتی در گروه عصاره خرما نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱).



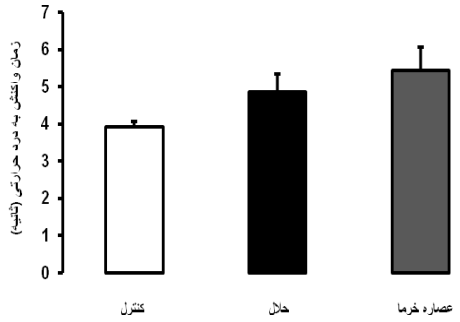
شکل ۱- اثر عصاره خرما در زمان واکنش به درد در آزمون Hot Plate: ** P<0.01 اختلاف معنی‌دار گروه vehicle با گروه کنترل- ××× P<.001 اختلاف معنی‌دار گروه عصاره خرما با گروه vehicle

بررسی اثر مصرف ملاتونین در پیشگیری از ایجاد هایپرآلژزی نوروپاتی دیابتیک از آزمون Hot Plate نشان می‌دهد که برخلاف عصاره خرما، تزریق داخل صفاقی ملاتونین به مدت ٦ هفته تغییر معنی‌داری نسبت به گروه حلال در زمان واکنش به درد حرارتی ایجاد نمی‌کند. هرچند که زمان واکنش به درد حرارتی در گروه ملاتونین به گروه کنترل نزدیک بود ودر گروه حلال کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل وجود داشت (شکل ۲).

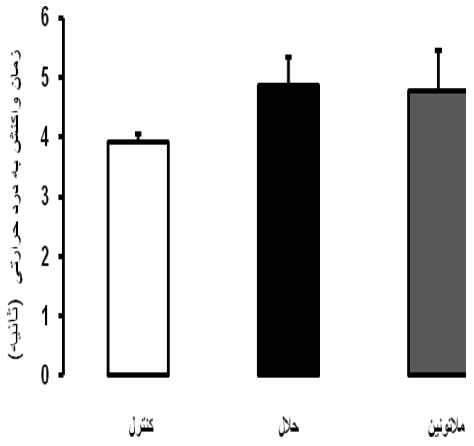


شکل ۲- اثر ملاتونین در زمان واکنش به درد در آزمون Hot Plate: ** P<0.01 اختلاف معنی‌دارگروه vehicle با گروه کنترل

بررسی تأثیر مصرف عصاره خرما وملاتونین در پیشگیری از ایجاد هایپرآلژزی نوروپاتیک با استفاده از آزمون Tail Flick اختلاف معنی‌داری در واکنش به درد حرارتی و زمان پس زدن دم در گروههای دیابتی دریافت کننده حلال، ملاتونین و عصاره خرما نسبت به گروه کنترل نشان نداد. در هر دو گروه کنترل و دیابتی در این مدل ایجاد درد، تمام موشها در کمتر از ۱۰ ثانیه به درد حرارتی پاسخ دادند و قسمت انتهایی دم خود را از محیط دردناک دور کردند. استفاده از عصاره خرما و همچنین ملاتونین نتوانست افزایش معنی‌داری در زمان واکنش به درد حرارتی ایجاد کند (شکل ۳ و ٤).



شکل۳- اثر عصاره خرما در زمان واکنش به درد در آزمون Tail flick



شکل۴- اثر ملاتونین در زمان واکنش به درد در آزمون Tail flick

از آنجایی که نتایج آماری گروه sham با گروه حلال یکسان بود، بنابراین نتایج گروه sham در مطالعه نشان داده نشده است.

بحث و نتیجه‌گیری:

در مطالعه حاضر مصرف طولانی مدت عصاره خرما پس از القاء و اثبات دیابت نشان داد که عصاره خرما می‌تواند باعث کاهش هایپرآلژزیا در آزمون پاسخ به درد حرارتی در حیوانات دیابتی در مدت زمانی شبیه به شرایط کنترل شود.

آسیب نورونهای محیطی ناشی از استرس اکسیداتیو در بیش از ٦٠٪ افراد مبتلا به دیابت قابل تشخیص است (٢٤). نوروپاتی محیطی در مراحل اولیه با افزایش فعالیت فیبرهای عصبی همراه است و باعث اختلال در حساسیت طبیعی سیستم عصبی به محرکهای دردزا و ایجاد هیپرآلژزی دیابتی می‌شود (٢٥). در حقیقت یکی از مهمترین شکایتهای بالینی افراد مبتلا به دیابت قندی هیپرآلژزی ناشی از نوروپاتی محیطی است که کیفیت زندگی این افراد را تحت تأثیر قرار می‌دهد (٢٥). بنابراین تعدیل درد این بیماران از اهمیت خاصی برخوردار است. براین اساس بررسی راهکارهای درمانی که با کاستن از شرایط ایجاد استرس اکسیداتیو و اعمال اثر آنتی‌اکسیدانی بتواند منجر به کاهش روند پیشرفت آسیبهای نورونی شود و از ایجاد هیپرآلژزیا جلوگیری کند، بسیار مهم خواهد بود.

مطالعات زیادی در مورد اثرات مفید آنتی‌اکسیدانها بر عملکرد و ساختار بافتهای عصبی محیطی وجود دارد. در مطالعه Podratz, J و همکارانش نشان دادند که حضور مواد آنتی‌اکسیدان جهت میلینه شدن اکسون نورونهای ریشه خلفی ضروری است (٢٦). در مطالعه دیگری مشخص شده است که حذف آنتی‌اکسیدانهای اندوژن مثل ویتامین E در موشهای دیابتی با کاهش عملکرد نورونهای محیطی همراه می‌شود (٢٧).

در برخی مطالعات اثر ضد دردی از مواد آنتی‌اکسیدانی در بیماری دیابت گزارش شده است. تجویز آنتی‌اکسیدان U83836E مشخص شده است که می‌تواند باعث کاهش هایپرآلژزی دیابتی شود (٢٨). همچنین مشخص شده که ویتامین E نیز به عنوان یک آنتی‌اکسیدان می‌تواند باعث کاهش دردهای نوروپاتیک در موشهای دیابتی شود (٢٩).

از جمله موادی که اثر آنتی‌اکسیدانی آن یا حضور مواد آنتی‌اکسیدانی در آن ثابت شده است، ملاتونین (٣٠،٣١) و خرما (٣٢) می‌باشند.

در مطالعات زیادی اثرات درمانی متعدد از خرما همچون تقویت سیستم ایمنی، خاصیت ضد باکتریایی (١٢)، اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی (١١) گزارش شده است. همچنین مشخص شده که خرما باعث کاهش کلسترول LDL و تری‌گلیسرید می‌شود (٣٥-٣٣). در برخی مطالعات نیز اثر ضد دردی برای خرما مطرح شده است. به طوری که مشخص شده خرما در صورت مصرف در کمردرد و دردهای روماتیسمی دارای اثر ضدر دردی است (٣٨).

مکانیسم دقیقی برای اثرات آنتی‌اکسیدانی و کاهنده استرس اکسیداتیو توسط عصاره آبی خرما مطرح نشده است. به هر حال این اثرات به ترکیبات خرما مربوط است. ترکیباتی چون phenolic acid , antocianin, flavonoids، polyphenol و ترکیبات دیگری چون مس، سلنیوم، روی و منیزیم به اضافه ویتامین C موجود در خرما می‌توانند مسئول احتمالی برای این آثار درمانی و حفاظتی خرما باشند (٣٢،٣٦،٣٧). از طرف دیگر، برخی مطالعات به علت اثر مهاری که خرما بر روی پراکسیداسیون لیپید و اکسیداسیون پروتئین دارد، آثار ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی برای خرما قائل شده‌اند (١١،٣٢). برخی مطالعات نشان داده‌اند که خرما در محیط In Vitro باعث حذف رادیکالهای هیدروکسیل و سوپراکسید می‌شود (١١،٣٢).

مطالعات دیگری آثار قابل توجهی از ملاتونین علیه استرس اکسیداتیو در بسیاری از بافتهای حیوانات دیابتی گزارش کرده‌اند (۴۱-۳۸، ۶،۷). مصرف طولانی مدت ملاتونین با توجه به آثار آنتی اکسیدانی ثابت شده آن احتمالاً از طریق کاهش سطح ROS و رادیکالهای آزاد می‌تواند از پیشرفت دژنراسیون نورونی و حساس شدن سیستم عصبی در موشهای دیابتی جلوگیری کند (۶،۴۱). ملاتونین با فعال کردن رسپتورهای اوپیوئیدی (۴۲،۴۳)، مهار سیکلواکسیژناز و همچنین کاهش تولید رادیکالهای آزاد (۶،۴۱) می‌تواند نقش حفاظتی در برابر آسیبهای نورونی ناشی از پروسه های تخریبی همراه دیابت داشته باشد.

در مطالعه ما در آزمون Tail Flick، در هیچ یک از گروهها اختلاف معنی‌داری در زمان پاسخ به درد مشاهده نشد اما در آزمون Hot Plate، ملاتونین باعث افزایش زمان تأخیری در پاسخ به درد حرارتی و کاهش هایپرآلژزیا شد، به گونه‌ای که زمان واکنش به درد در این گروه به گروه کنترل نزدیک شد. هرچند که اختلاف معنی‌داری با گروه حلال نداشت. بنابراین به نظر می‌رسد که مصرف ملاتونین پس از القاء دیابت به مدت ۶ هفته شبیه به عصاره خرما توانسته از روند ایجاد هایپرآلژزی دیابتی جلوگیری کند و باعث افزایش زمان پاسخ به درد در زمانی شبیه به گروه کنترل شود.

به طور خلاصه به نظر می‌رسد که مصرف خرما و ملاتونین در مراحل اولیه القاء دیابت، قبل از تخریب نورونی و ایجاد نوروپاتی دیابتی بتواند روند تخریب نورونی ناشی از دیابت را کاهش دهد و آستانه پاسخ به درد را که در نوروپاتی دیابتی کاهش می‌یابد، به حالت نرمال نزدیک کند. همچنین در این مطالعه مشخص شد که اثر حفاظتی عصاره خرما در پیشگیری از بروز هایپرالژزی نوروپاتیک دیابتی قویتر از ملاتونین است.

سپاسگزاری:

از کلیه کسانی که ما را در اجرای این طرح همیاری کردند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

References منابع

1. Clark CM Jr, Lee DA. Prevention and treatment of the complications of diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1995;332:1210-1217.
2. Sharma S, Kulkarini SK, Agrewala JN, Chopra K. Curcumin attenuates thermal hyperalgesia in a diabetic mouse model of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol*. 2006;536:256-261.
3. Brown M, Asbury AK. Diabetic neuropathy. *Annals of neurology*. 1984;15:2-12.
4. Lynch JJ 3rd , Jarvis MF, Kowaluk EA. An adenosine kinase inhibitor attenuates tactile allodynia in a rat model of diabetic neuropathic pain. *Eur J of Pharmacol*. 1999;364:141-146.
5. Greene DA, Lattimer SA, Sima AA. Sorbitol, phosphoinositides, and sodium-potassium-ATPase in the pathogenesis of diabetic complications. *N Eng J Med*. 1987;316:599-606.
6. Aksoy N, Vural H, Sabuncu T, Aksoy S. Effects of melatonin on oxidative–antioxidative status of tissues in streptozotocin induced diabetic rats. *Cell Biochemistry and Function*. 2003;21:121-125.
7. Vural H, Sabunco T, Arslan SO, Aksoy N. Melatonin inhibits lipid peroxidation and stimulates the antioxidant status of diabetic rats. *J Pineal Res*. 2001;31:193-198.
8. Peschke E, Mühlbuer E, Musshoff U, Csernus VJ, Chankiewitz E, Peschke D. Receptor (MT1) mediated influence of melatonin on cAMP concentration and insulin secretion of rat insulinoma cells INS 1. *J Pineal Res*. 2002;33:63-71.

9. Arreola-Espino R, Urquiza-Marin H, Ambriz-Tututi M, Araiza-Saldana CL,Caram-Salas NL, Rocha-Gonzàlez HI. et al. Melatonin reduces formalin-induced nociception and tactile allodynia in diabetic rats. *Eur J Pharmacol*. 2007;557:203-210.

10. Tan D, Manchester LC, Terron MP, Flores LJ, Reiter RJ. One molecule, many derivatives: A never ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? *J Pineal Res*. 2007;42:28-42.

11. Vayalil PK. Antioxidant and antimutagenic properties of aqueous extract of date fruit (Phoenix dactylifera L. Arecaceae). *J Agric Food Chem*. 2002;50:610-617.

12. Sallal AK, Ashkenani A. Effect of date extract on growth and spore germination of Bacillus subtilis. *Microbios*. 1989;59:203-210.

13. Al-Shahib W, Marshall RJ. The fruit of the date palm: its possible use as the best food for the future? *Int J Food Sci Nutr*. 2003;54:247-259.

14. Aksoy N, Varal H, Sabuncu T, Aksoy S. Effects of melatonin on oxidative-antioxidative status of tissues in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochem Funct*. 2003;21:121-125.

15. Zangiabadi N, Asadi-Shekaari M, Sheibani V, Jafari M, Shabani M, Jufari M, et al., Date fruit extract is a neuroprotective agent in diabetic peripheral neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats: a multimodal analysis. *Oxid Med Cell Longev*. 2011; 976948.

16. Kappelle AC, Bravenboer B, van Buren T, Traber J, Erkelens DW, Gispen WH, et al. Amelioration by the Ca2+ antagonist, nimodipine of an existing neuropathy in the streptozotocin-induced, diabetic rat. *Br J Pharmacol*. 1993;108:780-785.

17. Malone ,JI, Lowitt S, Korthals JK, Salem A, Miranda C. The effect of hyperglycemia on nerve conduction and structure is age dependent. *Diabetes*. 1996;45:209-215.

18. Babaei-Balderlou F, Ilkhanipour M, Heidari R, Zare S, Bernousi I. Effect of Melatonin on Peripheral Neuropathic Pain in Diabetic Rat. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2009;11:79-88. [Persian]

19. Sullivan KA, Hayes JM, Wiggin TD, Backus C, Su Oh S, Lentz SI, et al. Mouse models of diabetic neuropathy. *Neurobiol Dis*. 2007;28:276-285.

20. Saafi EB, El Arem A, Issaoui M, Hammami M, Achour L. Phenolic content and antioxidant activity of four date palm (Phoenix dactylifera L.) fruit varieties grown in Tunisia. *International Journal of Food Science & Technology*. 2009;44:2314-2319.

21. Kumar A, Kaundal RK, Iyer S, Sharma SS. Effects of resveratrol on nerve functions, oxidative stress and DNA fragmentation in experimental diabetic neuropathy. *Life Ssi*. 2007;80:1236-1244.

22. Yang CY, Wu WH, Zbuzek VK. Antinociceptive effect of chronic nicotine and nociceptive effect of its withdrawal measured by hot-plate and tail-flick in rats. *Psychopharmacology*. 1992;106:417-420.

23. Vayalil PK. Antioxidant and antimutagenic properties of aqueous extract of date fruit (Phoenix dactylifera L. Arecaceae). *J Agric Food Chem*. 2002;50:610-617.

24. Galer BS, Gianas A, Jensen MP. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetes Res Clin Pract*. 2000;47:123-128.

25. Serpell M. Anatomy, physiology and pharmacology of pain. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*. 2005;6:7-10.

26. Podratz JL, Rodriguez EH, Windebank AJ. Antioxidants are necessary for myelination of dorsal root ganglion neurons, in vitro. *Glia*. 2004;45:54-58.

27. van Dam PS, van Asbeck BS, Bravenboer B, van Oirschot JF, Gispen WH, Marx JJ. Nerve function and oxidative stress in diabetic and vitamin E-deficient rats. *Free Radic Biol Med*. 1998;24:18-26.

28. Sayyed SG, Kumar A, Sharma SS. Effects of U83836E on nerve functions, hyperalgesia and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy. *Life Sci*. 2006;79:777-783.

29. Kim HK, Kim JH, Gao X, Zhou JL, Lee I, Chung K, et al. Analgesic effect of vitamin E is mediated by reducing central sensitization in neuropathic pain. *Pain*. 2006;122:53-62.

30. Tuzcu M, Baydas G. Effect of melatonin and vitamin E on diabetes-induced learning and memory impairment in rats. *Eur J Pharmacol*. 2006;537:106-110.

31. Peschke E. Melatonin, endocrine pancreas and diabetes. *J Pineal Res*. 2008;44: 26-40.

32. Saafi EB, Louedi M, El Feki A, Zakhama A, Naiiar MF. Protective effect of date palm fruit extract (Phoenix dactylifera L.) on dimethoate induced-oxidative stress in rat liver. *Exp Toxicol Pathol*. 2011;63:433-441.

33. Ng TK, Hassan K, Lim JB, Lye MS, Ishak R. Nonhypercholesterolemic effects of a palm-oil diet in Malaysian volunteers. *Am J Clin Nutr*. 1991;53:1015-1020.

34. Sundram K, Karupaiah T, Hayes KC. Stearic acid-rich interesterified fat and trans-rich fat raise the LDL/HDL ratio and plasma glucose relative to palm olein in humans. *Nutr Metab*. 2007;4:3.

35. Kooyenga D, Geller M, Watkins T, Gapor A, Diakoumakis E. Palm oil antioxidant effects in patients with hyperlipidaemia and carotid stenosis: 2 year experience. *Asia Pacific J Clin Nutr*. 1997;6:72-75.

36. Al-Farsi M, Alasalvar C, Morris A, Baron M, Shahidi F. Compositional and sensory characteristics of three native sun-dried date (Phoenix dactylifera L.) varieties grown in Oman. *J Agric Food Chem*. 2005;53:7586-7591.

37. Allaith AA. Antioxidant activity of Bahraini date palm (Phoenix dactylifera L.) fruit of various cultivars. *International Journal of Food Science & Technology*. 2008;43:1033-1040.

38. Baydas G, Canatan H, Turkoglu A. Comparative analysis of the protective effects of melatonin and vitamin E on streptozocin-induced diabetes mellitus. *J Pineal Res*. 2002;32:225-230.

39. Sailaia Devi MM, Suresh Y. Das preservation of the antioxidant status in chemically-induced diabetes mellitus by melatonin. *J Pineal Res*. 2000;29:108-115.

40. MaritimAC, Sanders RA, Watkins JB 3rd. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol* Toxicol. 2003;17:24-38.

41. Montilla P, Vargas JF, Túnez IF, Muńoz de Agueda MC, Valdelvira ME, et al. Oxidative stress in diabetic rats induced by streptozotocin: protective effects of melatonin. *J Pineal Res*. 1998;25:94-100.

42. Ebadi M, Govitrapong P, Phansuwan-Pujitu P, Nelson F, Reiter RJ. Pineal opioid receptors and analgesic action of melatonin. *J Pineal Res*. 1998;24:193-200.

43. Maestroni GJ, Conti A, Pierpaoli W. Role of the pineal gland in immunity: II. Melatonin enhances the antibody response via an opiatergic mechanism. *Clin Exp Immunol*. 1987;68:384-391.

The effect of date aqua extract and melatonin on diabetic neuropathy in STZ-induced diabetic rats

M. Jafari, BSc [1] N. Zangiabadi, MD [2] H. Tajadini, MD [3] M. Shabani, PhD [4] V. Sheibani, PhD [4] A.H. Ghasemi, MD [5] M. Shahidi, MD [5]

BSc of Biology [1], Pharmaceuitcs Research Center, Assistant Professor Department of Neurology [2], Assisstant Professor Department of Physiology [3], Associate Professor Department of Physiology [4], Neuroscience Research Center, General Practitioner [5], Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

(Received 29 Oct, 2011 Accepted 13 Jun, 2012)

ABSTRACT

Introduction: Diabetes mellitus is often associated with chronic neuropathy, a condition which is due to the disturbance in the function of peripheral nervous system. Studying the effects of antioxidants in relieving neuropathy is of a great clinical importance. The aim of this study was to compare the effect of aqua extract of date and Melatonin in preventing neuropathic hyperalgesia in Streptozotocin-induced diabetic rats.

Methods: In this experimental study, 40 male Sprague dawley rats weighing 200-250gr were divided into five groups of control, sham, diabetics+ melatonin and diabetics+ date extract and diabetic+solvent. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin (45mg/kg B.W) solved in 0.05M citrate buffer. After confirming diabetes statue, experimental groups received either melatonin (10mg/kg/day), date extract (4mg/kg/day) or solvent for a duration of 6 weeks. At the end of the 6th week, all groups were investigated using Hot plate and Tail flick tests. Analysis of variance with significance level of $P<0.05$ was used for statistical analysis.

Results: In Hot plate test, solvent group showed significant decrease in the time of thermal pain response compared to the non diabetic control group ($P<0.01$). Date extract group showed an increase in the time of response to thermal pain as compared to the solvent group ($P<0.01$) in a way that response time was close to that in the non diabetic control group. Although time of response to pain in melatonin-administered group was close to that in the non diabetic control group, melatonin group had no significant difference with other groups. There was no significant difference among groups based on the results of Tail flick test.

Conclusion: The results of this study show that both date aqua extract and Melatonin as antioxidants prevent and decrease neuropathic hyperalgesia in diabetic rats. In addition, the protective effect of date aqua extract in prevention of diabetic hyperalgesia is more than Melatonin.

Correspondence:
N. Zangiabadi, MD.
Neuroscience Reseasrch Center
Kerman University of Medical Sciences.
Kerman, Iran
Tel:+98 341 2263790
Email:
nzangiabadi1@gmail.com

Key words: Melatonin – Diabetes – Neuropathy – hyperalgesia