

فصلنامه گیاهان دارویی

Journal homepage: www.jmp.ir

مقاله تحقیقاتی

بررسی اثر زردچوبه و کورکومین بر پاسخ‌های رفتاری درد نوروپاتی مدل CCI در موش بزرگ آزمایشگاهی

حسین علی صفاخواه^{۱،۲}، علی رشیدی پور^{۱،۲}، فرزانه محمدزاده^{۱،۲}، عباسعلی وفایی^{۱،۲*}^۱ مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران^۲ گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

گل‌واژگان:

زردچوبه

کورکومین

آلودینیای مکانیکی

موش بزرگ آزمایشگاهی

هایپرآلژزیای حرارتی

Chronic Constriction Injury

مقدمه: التهاب در محل آسیب عصب، از دلایل درد نوروپاتی بوده و دیده شده که زردچوبه و کورکومین به عنوان یک عامل ضدالتهاب عمل نموده و احتمالاً موجب کاهش درد نورپاتی می‌شوند. **هدف:** در این مطالعه اثر زردچوبه و کورکومین بر پاسخ‌های رفتاری درد حاصل از (Chronic Constriction Injury) CCI مورد بررسی قرار گرفت. **روش بررسی:** در این مطالعه تجربی از موش‌های نر بالغ نژاد ویستار (۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم) استفاده شد. از روش Bennet & Xie با بستن ۴ گره شل، جهت ایجاد CCI استفاده شد. دو هفته بعد تزریق داخل صفاقی حلال، زردچوبه ۶۰ میلی‌گرم و کورکومین ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم به اژه هر کیلوگرم آغاز و تا روز ۲۶ روزانه ادامه یافت. پاسخ‌های رفتاری با آزمون آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژزیای حرارتی در روزهای ۱۴، ۱۷، ۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۴۰ بررسی شد. **نتایج:** نتایج نشان داد تزریق کورکومین با دوز ۳۰ میلی‌گرم موجب کاهش آلودینیای مکانیکی از روز ۲۰ و کاهش هایپرآلژزیای حرارتی از روز ۲۳ شد و این اثرات تا روز چهارم ادامه یافت. تزریق کورکومین با دوز ۶۰ میلی‌گرم در روز ۲۶ آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژزیای حرارتی را کاهش داد. زردچوبه با دوز ۶۰ میلی‌گرم اثری بر آلودینیا و هایپرآلژزیای نشان نداد. **نتیجه‌گیری:** یافته‌ها نشان داد که احتمالاً کورکومین می‌تواند در کاهش دردهای نوروپاتی حاصل از CCI مؤثر باشد. مطالعات قبلی پیشنهاد نموده‌اند که احتمالاً این اثر از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و درنهایت کاهش شدت التهاب اعمال می‌شود.

۱. مقدمه

احساس ناخوشایند می‌باشد که در نتیجه‌ی آسیب به بافت‌ها

درد یکی از مشکلاتی است که انسان از دیرباز با آن روبرو بوده است و برای فائق آمدن بر آن تلاش بسیار نموده است. بر اساس تعریف انجمن بررسی و مطالعه‌ی درد، درد یک

بویژه سیستم حسی به وجود می‌آید. درد به طور عمده یک مکانیسم دفاعی برای بدن است و هنگامی که هر بافت دچار آسیب شود به وجود می‌آید و موجب می‌شود که شخص از

مخفف‌ها: CCI، آسیب مزمن فشارنده؛ DNA، دزوکسی ریبونوکلیک اسید؛ TNF- α ، عامل نکروز تومور آلفا؛ NO، اکسید نیتریک؛ NADH، نیکوتین آمید آدنین دی‌نوکلئوتید هیدروژن؛ LDH، لاکتات دهیدروژناز.

* نویسنده مسئول: aavafaei@semums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۲ خرداد ۱۳۹۸؛ تاریخ دریافت اصلاحات: ۳ آذر ۱۳۹۸؛ تاریخ پذیرش: ۹ آذر ۱۳۹۸

doi: 10.29252/jmp.19.75.141

© 2020. Open access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

التهابی می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند سیتوکین‌های پیش التهابی از قبیل فاکتور نکروز دهنده بافتی و برخی از اینترلوکین‌ها نقش مهمی در ایجاد، گسترش، تداوم و شدت درد نوروپاتی دارند [۵، ۳].

زردچوبه ریزوم (ریشه) گیاهی است با نام علمی *Curcuma longa* که به نام Turmeric Root در جهان مشهور است. این گیاه بومی نواحی جنوبی آسیاست و به طور وسیع در تمام نقاط هند، نواحی جنوبی چین، تایوان، ژاپن، اندونزی و بعضی نواحی آفریقا کشت می‌شود. پودر زردچوبه به رنگ زرد تیره است که یکی از پرکاربردترین ادویه جات به شمار می‌رود. قسمت مورد استفاده این گیاه، ساقه زیرزمینی آن است که پس از خارج کردن از زمین، آن را تمیز کرده و ریشه‌های آن را جدا می‌کنند و در آب جوش قرار می‌دهند و پس از تمیز کردن به مدت چند روز آنرا خشک می‌کنند. زردچوبه رنگ زرد یا خاکستری مایل به قهوه‌ای، با بوی معطر و طعم تلخ دارد. این گیاه از گذشته‌های دور پرکاربرد بوده و به عنوان دارو استفاده می‌شده و در حال حاضر به عنوان افزودنی بسیار پرمصرف در غذا می‌باشد [۶]. زردچوبه از خانواده‌ی Zingiberaceae بوده و Curcumin یا Turmeric yellow به عنوان ترکیب اصلی آن یک پودر نارنجی رنگ است که از ریشه‌ی گیاه به دست می‌آید و حاوی مقادیر کمی از روغن‌ها و رزین‌ها می‌باشد. این گیاه در مناطق گرم و نسبتاً گرم می‌روید [۷].

استفاده از آن در غذا به عنوان چاشنی و به عنوان ماده اصلی در پودرهای کاری و سس‌ها و به عنوان رنگ‌دهنده از دیرباز مرسوم بوده است. میزان مصرف زردچوبه بسته به نوع غذا از ۵-۵۰۰ mg/kg برآورد شده است [۶]. ریشه‌ی گیاه Turmeric بیش از ۲ هزار سال است که در آسیا به عنوان چاشنی و دارو و در مصارف آرایشی استفاده می‌شود [۸، ۶]. زردچوبه‌ی خوراکی برای رفع سوءهاضمه، درمان درد شکم، اسهال، نفخ شکم، زردی، مشکلات کبد و کیسه صفرا، درمان

خود واکنش نشان دهد و عامل محرک درد را از میان بردارد [۱]. آسیب به بافت که در نتیجه‌ی آن درد ایجاد می‌شود می‌تواند در نتیجه‌ی محرک‌های مکانیکی، حرارتی یا شیمیایی باشد که توسط گیرنده‌ی اختصاصی دریافت می‌شود. درد نوروپاتی نوعی درد مزمن است که بوسیله‌ی آسیب به اعصاب سیستم حسی بویژه اعصاب محیطی ایجاد می‌شود که به آن نوروپاتی محیطی می‌گویند [۳، ۲].

این نوع درد یک تغییر شکل ناهنجار سیستم گیرنده درد است. تغییرات متعددی که به صورت وسیع در سیستم عصبی اتفاق می‌افتد، باعث ایجاد این نوع درد می‌شود. این تغییرات شامل تولید نابجای پتانسیل عمل، تسهیل و عدم مهار تبادل سیناپسی، کاهش ارتباط سیناپسی و تشکیل مدارهای جدید سیناپسی و درگیر شدن سیستم نوروایمیون می‌باشد. گرچه آسیب عصبی برای ایجاد درد نوروپاتی ضروری است اما عوامل دیگری مانند ژنتیک، جنس و سن، در بقاء و پیشرفت آن مؤثر می‌باشد. درد نوروپاتی محیطی توسط آسیب‌های مکانیکی، بیماری‌های متابولیک، مواد شیمیایی نوروتوکسیک، عفونت‌ها یا دست‌اندازی تومورها و درگیری متعدد پاتوفیزیولوژیکال که همزمان به سیستم عصبی محیطی و مرکزی آسیب می‌رساند، اتفاق می‌افتد [۴].

درد نوروپاتی محیطی مرتبط با تغییرات آناتومیکی و بیوشیمیایی روی اعصاب محیطی می‌باشد و یک درد تیز و مداوم است که این حالت باعث آلودینیا و هایپرآلژزیا می‌شود. آلودینیا عبارت است از احساس درد نسبت به محرک‌های مکانیکی و حرارتی غیردردناک و هایپرآلژزیا شامل افزایش حساسیت به محرک‌های دردناک می‌باشد [۲].

مکانیسم‌هایی که در ایجاد و تداوم درد نوروپاتی دخالت دارند دقیقاً مشخص نیست، اما اخیراً مشخص شده است درگیر شدن سیستم نوروایمنی و التهاب عصبی (Neuro inflammation) در اثر فعال شدن میکروگلیاها و هیپرتروفی آستروسیت‌ها در اعصاب محیطی و مرکزی منجر به تولید سیتوکین‌های پیش

۱.۱.۲. داروها

۱.۱.۲.۱. کورکومین: این دارو که ساخت شرکت سیگما بوده، ابتدا در اتانول حل و با آب مقطر رقیق می‌شد و سپس به صورت داخل صفاقی با دوز ۳۰ و ۶۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم به حیوان تزریق شد [۱۲].

۱.۱.۲.۲. زردچوبه: زردچوبه ابتدا در اتانول حل و با آب مقطر رقیق شد و به صورت داخل صفاقی با دوز ۶۰ میلی گرم به حیوان تزریق شد [۱۲].

۱.۱.۲.۳. کتامین: که جهت بیهوش کردن حیوان و با دوز ۷۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق شد [۱۳].

۱.۱.۲.۴. زایلوسین (رومپان): که جهت شلی عضلانی و کمک به بیهوش کردن حیوان با دوز ۱۰ mg/kg با داروی کتامین مخلوط و به صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق شد [۱۳].

۲.۲. روش جراحی و ایجاد نوروپاتی

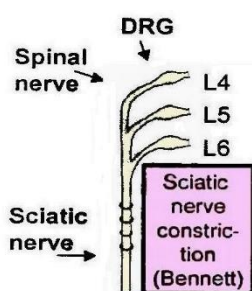
ابتدا موش‌های صحرایی را با تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین و رومپان بیهوش شدند. بعد از اطمینان از عمیق بودن بیهوشی، موهای بالا و پشت ران حیوان را کاملاً تراشیده و با استفاده از تیغ بیستوری شکافی به طول ۲ سانتی متر بر روی ران پای چپ ایجاد کرده پس از بریدن عضلات ناحیه، سعی شد تا قسمت مشترک سه شاخه عصب سیاتیک رویت شود و سپس با استفاده از ۲ میله کوچک شیشه‌ای بافت‌های اطراف عصب را جدا کرده و به وسیله نخ بخیه کات کوت ۰/۴ چهار گره شل به فواصل یک میلی متر قبل از سه شاخه شدن عصب زده شد. گره‌ها به شکلی ایجاد شد که اختلالی در جریان خون عصب بوجود نیامد. سپس با استفاده از نخ بخیه ۰/۴ سیلک عضله و پوست به صورت جداگانه دوخته شد (شکل ۱). تمام حیوانات پس از جراحی به مدت ۲۴ ساعت در قفس‌های انفرادی نگهداری شدند تا کاملاً به هوش آمده و خوردن آب و غذا را شروع نمایند [۱۴].

سردرد، برونشیت، سرماخوردگی، تب، کمتر کردن حملات صرع و درمان اختلالات قاعدگی و سرطان‌ها استفاده می‌شود [۹]. از مصارف دیگر آن استفاده در درمان افسردگی، ادم، انگل‌های روده‌ای، عفونت مثانه و کلیه می‌باشد [۱۰، ۶]. مطالعات آزمایشگاهی نشان می‌دهد که Curcumin در سلول‌های سرطانی القای آپوپتوز می‌کند [۱۱] و فعالیت ضدالتهابی آن در نتیجه‌ی مهار ساخت پروستاگلندین‌ها می‌باشد و همین‌طور از بیان COX-2 جلوگیری می‌کند و این یک مزیت مهم استفاده از Curcumin در برابر استفاده طولانی مدت NSAIDs به شمار می‌رود [۸]. مطالعات قبلی نشان داده که زردچوبه حاوی سابینین، سینثول، بورنتول و الکل تورمرول و ماده کورکومین می‌باشد [۶].

از آنجا که در طب سنتی از زردچوبه برای درمان کمردرد، پشت درد، و سینه درد استفاده می‌شود و همچنین با توجه به مصرف روزانه‌ی زردچوبه و اثر آن بر سیستم‌های بدن و این مطلب که تاکنون مطالعه‌ای برای اثبات اثر استفاده زردچوبه و کورکومین به فرم مزمن بر درد نوروپاتی مدل CCI انجام نشده است، این مطالعه با هدف تعیین اثر عصاره تام زردچوبه و کورکومین به عنوان ترکیب اصلی آن بر دردهای نوروپاتی مدل CCI بر عصب سیاتیک در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

در طی این مطالعه تجربی ۵۰ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر بالغ از نژاد Wistar در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. آب و غذا به صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار گرفت و در شرایط ۱۲ ساعت روز و ۱۲ ساعت شب و با درجه حرارت ثابت 22 ± 2 درجه سانتی گراد نگهداری شدند.



شکل ۱. نمایش چگونگی قرارگیری گره‌ها بر روی عصب سیاتیک

۳.۲. پروتکل و طرح آزمایش

۵۰ سر موش صحرایی به طور تصادفی به ۵ گروه ۱۰، ۲۳، ۲۶ و ۴۰ آزمون‌های رفتاری انجام شد. تایی تقسیم شدند.

گروه اول: گروه کنترل کاذب بود که در آن عصب سیاتیک پای چپ حیوان بوسیله نخ بخیه کات کوت ۰/۴ چهار گره شل زده شد. در این گروه هیچ دارویی به حیوان تزریق نشد و در روزهای ۱۴، ۱۷، ۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۴۰ آزمون‌های رفتاری انجام شد.

گروه دوم: گروه کنترل بود که در آن عصب سیاتیک پای چپ حیوان بوسیله نخ بخیه کات کوت ۰/۴ چهار گره شل زده شد. در این گروه محلول ۵ درصد اتانول و آب مقطر به عنوان حلال داروها از روز ۱۴ بعد از CCI به مدت ۱۴ روز به صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق شد و در روزهای ۱۴، ۱۷، ۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۴۰ آزمون‌های رفتاری انجام شد.

گروه‌های درمان: شامل گروه‌های سوم تا پنجم می‌باشد. در گروه سوم و چهارم همه اعمال مشابه گروه دوم انجام شد با این تفاوت که به جای حلال، سوسپانسیون Curcumin در حلال با دوزهای ۳۰ و ۶۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق شد و در روزهای ۱۴، ۱۷، ۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۴۰ آزمون‌های رفتاری انجام شد.

در گروه پنجم همه اعمال مشابه گروه دوم انجام شد با این تفاوت که به جای حلال، سوسپانسیون زردچوبه در حلال با دوز ۶۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن به صورت

۴.۲. روش‌های ارزیابی پاسخ رفتاری درد نورپاتی رفتار حیوان در روزهای ۱۴، ۱۷، ۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۴۰ توسط آزمون‌های زیر مورد سنجش قرار گرفت.

۱.۴.۲. آلودینیای مکانیکی (Von Frey)

حیوانات را بر روی یک شبکه سیمی و در داخل یک محفظه پلاکسی گلاس به ابعاد ۲۰×۲۰ سانتی متر و ارتفاع ۳۰ سانتی متر قرار داده و بعد از عادت کردن حیوان به محیط جدید از تارهای مختلف Von - Frey جهت سنجش آلودینیای مکانیکی استفاده شد. در این آزمایش از تارهای ۲ تا ۶۰ گرم ساخت شرکت Steolting استفاده شد. این تارها در محدوده ۶۰-۲۶-۱۵-۱۰-۸-۶-۴-۲ گرم بود. از کمترین شماره تار شروع کرده و به ترتیب در صورت عدم پاسخ شماره‌های بالاتر انتخاب شد. هر تار را سه بار متوالی به فاصله ۵ ثانیه و هر بار به مدت ۱ ثانیه به کف پای چپ حیوان فشار داده اگر ۲ بار متوالی پاسخ می‌داد (پای خود را بلند می‌کرد) به عنوان آستانه پاسخ بوده و دیگر آزمایش ادامه پیدا نمی‌کرد. در صورتی که حیوان به تار شماره ۶۰ نیز پاسخ نمی‌داد عدد ۶۰ به عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته می‌شد. نتایج در جدول جمع‌آوری و مورد آنالیز قرار گرفت [۱۵].

۲.۴.۲. هایپرآلرژیای حرارتی (*Radiant Heat*)

برای آزمون هایپرآلرژیای حرارتی از دستگاه پلانتار آزمون (*Plantar test*)، ساخت شرکت UGO BASILE ایتالیا استفاده شد. این دستگاه دارای یک منبع تابش اشعه‌ی مادون قرمز است که به قسمت کنترلر دستگاه متصل است. حیوانات به صورت انفرادی در قفس‌هایی که از جنس پلاکسی گلاس می‌باشد قرار گرفته و بعد از عادت کردن حیوان به محیط جدید منبع تابش اشعه‌ی مادون قرمز را در زیر پای حیوان قرار داده و تاباندن اشعه‌ی مادون قرمز با شدت ۶۰ را شروع کردیم. همزمان زمان‌سنج دستگاه نیز شروع به کار می‌کند. به محض این که حیوان پای خود را بلند کند زمان‌سنج متوقف شده و مدت زمانی که حیوان تابش اشعه‌ی مادون قرمز را تحمل کرده است ثبت می‌شود. این آزمایش بر روی هر دو پای حیوان و سه بار متوالی به فاصله ۵ دقیقه انجام شد. زمان قطع آزمایش ۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد. با فرمول زیر پاسخ حیوان محاسبه شد [۱۳].

میانگین زمان تحمل حیوان در پای راست - میانگین زمان تحمل حیوان در پای چپ = پاسخ

۵.۲. روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

برای مقایسه بین گروه‌ها (روزهای ۱۴، ۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۴۰ در هر گروه) در صورتی که توزیع نرمال بود، از آزمون آماری ANOVA یک طرفه و دوطرفه با اندازه‌گیری تکراری و آزمون *tukey, post-hoc* استفاده شد. اختلاف بین گروه‌ها در صورتی معنی‌دار تلقی می‌شد که $P < 0.05$ بود. ضمناً نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد از میانگین بیان شد.

۶.۲. ملاحظات اخلاقی

در این تحقیق همه آزمایشات مطابق آئین‌نامه کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه برای مطالعات حیوانی صورت گرفت و

سعی شد تا حیوانات تحت بی‌هوشی عمیق جراحی شوند و به اندازه کافی مورد بررسی و آزمایش قرار گیرند و در شرایط مناسب نگهداری و از صدمات نابجا جلوگیری شود و در هنگام انجام آزمون تلفاتی نداشته باشند.

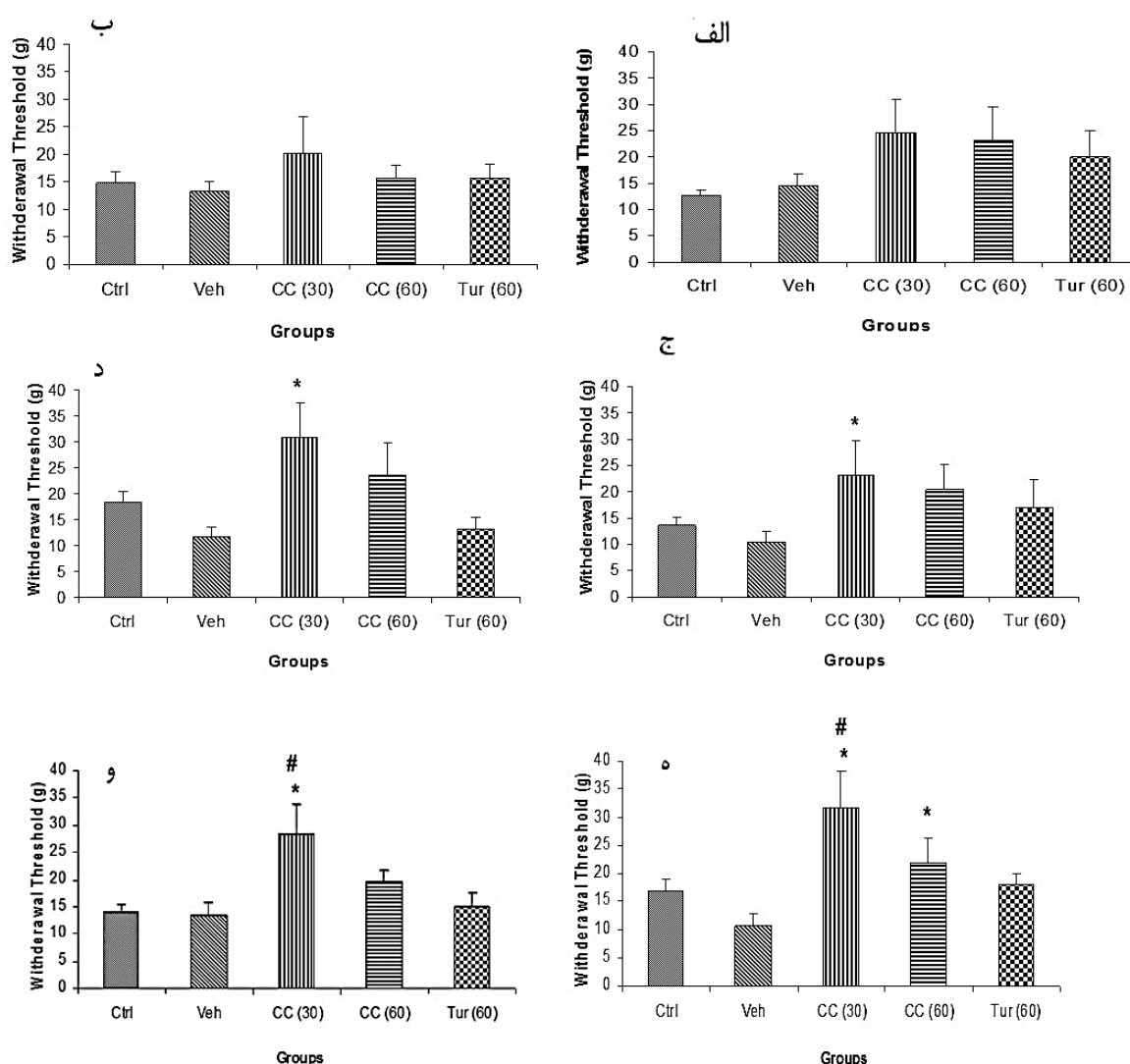
۳. نتایج

۱.۳. اثرات تجویر مزمن کورکومین و زردچوبه بر آلودینیای مکانیکی (ون فری)

شکل ۲ اثرات تزریق محیطی زردچوبه (۶۰ میلی‌گرم) و کورکومین (۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم) به عنوان یکی از ترکیبات اصلی زردچوبه را بر آلودینیای مکانیکی (ون فری) نشان می‌دهد. رفتار حیوان در روزهای ۱۴، ۱۷، ۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۴۰ جهت بررسی اثرات درمانی زردچوبه و کورکومین بر درد نوروپاتی (آلودینیای مکانیکی) مورد بررسی قرار گرفت.

آنالیز واریانس یک طرفه ارزیابی آلودینیای مکانیکی در روز ۱۴ و ۱۷ حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها ($P > 0.05$) بود (شکل ۲، الف و ب).

همچنین آنالیز واریانس یک طرفه ارزیابی آلودینیای مکانیکی در روز ۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۴۰ حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها بود ($P < 0.05$). آنالیز بعدی با آزمون توکی نشان داد که در روزهای ۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۴۰ بین گروه حلال و کورکومین ۳۰ و در روزهای ۲۶ و ۴۰ بین گروه کنترل و کورکومین ۳۰ تفاوت معنی‌داری وجود دارد (شکل ۲، ج، د، و، ه). البته در روز ۲۶ بین گروه کورکومین ۶۰ هم با حلال تفاوت معنی‌داری وجود دارد (شکل ۲، و). این یافته نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار کورکومین بر آلودینیای مکانیکی در این روزها است ($P < 0.05$).



شکل ۲. اثر تزریق کورکومین و زردچوبه بر آلودینیای مکانیکی در گروه‌ها و روزهای مختلف (الف: ۱۴ روز؛ ب: ۱۷ روز؛ ج: ۲۰ روز؛ د: ۲۳ روز؛ ه: ۲۶ روز؛ و: ۴۰ روز) بوده و محور عمودی میانگین $\pm$ خطای استاندارد از میانگین را نشان می‌دهد. (*: معنی‌دار در سطح ۵ درصد در مقایسه با گروه حلال؛ #: معنی‌دار در سطح ۵ درصد در مقایسه با گروه کنترل)

Ctrl: Control, Veh: Vehicle, CC: Curcumin, Tur: Turmeric

شکل ۳- اثرات تزریق محیطی کورکومین و زردچوبه یا حلال را بر آلودینیای مکانیکی در روزهای مختلف را نشان می‌دهد. آنالیز واریانس دوطرفه (آزمون $\times$ گروه) با اندازه‌گیری تکراری حاکی از اثر معنی‌دار گروه‌ها ($F_{4, 11/99}, P = 0/001$)، عدم اثر معنی‌دار روزهای آزمون ($F_{5, 240} = 0/58, P = 0/07$) و عدم تعامل معنی‌دار بین دو متغیر فوق است ($P = 0/96$).

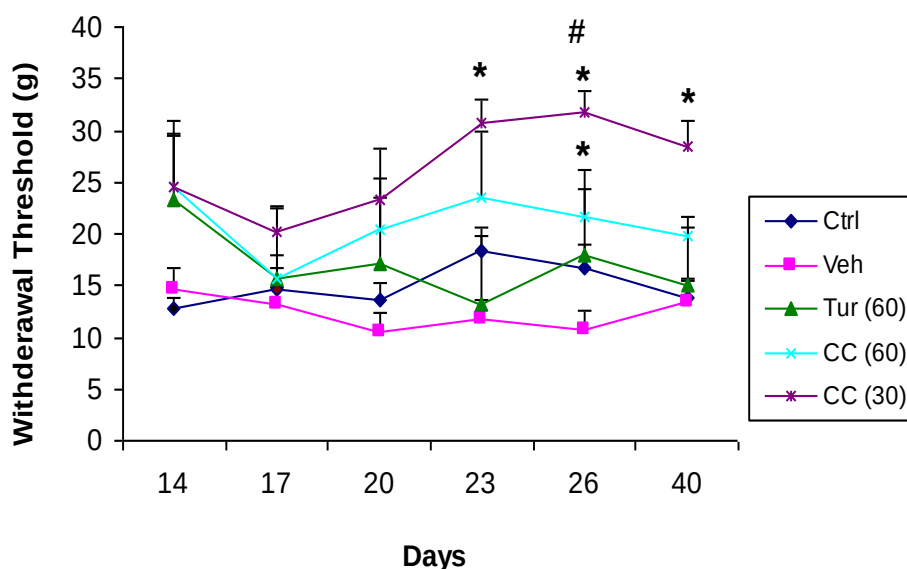
روزهای ۲۳ و ۲۶ بین گروه کنترل و کورکومین ۳۰ تفاوت معنی داری وجود دارد (شکل ۴، ج، د، و، ه). البته در روز ۲۶ بین گروه کورکومین ۶۰ هم با حلال تفاوت معنی داری وجود دارد (شکل ۴، و). این یافته نشان دهنده تأثیر معنی دار کورکومین بر هاپیرآلژزیای حرارتی در این روزها است ($P < 0.05$).

شکل ۵- مقایسه اثرات تزریق محیطی عصاره تام زردچوبه، کورکومین یا حلال را در روزهای مختلف تزریق بر هاپیرآلژزیای حرارتی نشان می دهد. آنالیز واریانس دو طرفه (آزمون $\times$ گروه) با اندازه گیری تکراری حاکی از اثر معنی دار گروه ها ($F_{4,216} = 2/5$, $P = 0.04$)، اثر معنی دار روزهای آزمون ($F_{5,240} = 2/59$, $P = 0.03$) و عدم تعامل معنی دار بین دو متغیر فوق است ($F_{20,299} = 0.74$, $P = 0.77$). آنالیز بعدی نشان داد که کورکومین (در هر دو دوز) و نه زردچوبه موجب کاهش هاپیرآلژزیای حرارتی شده است. به گونه ای که تفاوت بین گروه های دریافت کننده کورکومین با گروه کنترل و دریافت کننده حلال معنی دار است ($P < 0.05$) (شکل ۵).

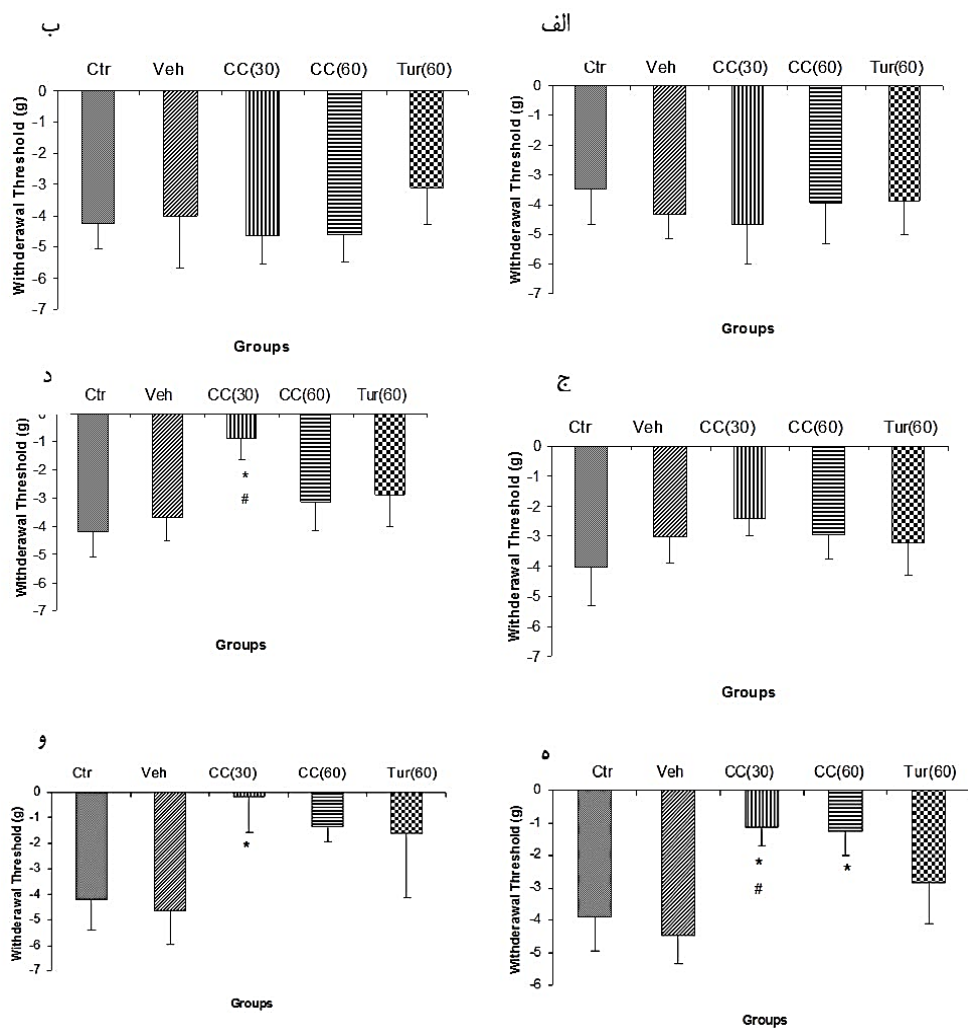
۲.۳. اثرات تجویر مزمن کورکومین و زردچوبه بر هاپیرآلژزیای حرارتی

شکل ۴ اثرات تزریق محیطی زردچوبه (۶۰ میلی گرم) و کورکومین (۳۰ و ۶۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم) به عنوان یکی از ترکیبات اصلی زردچوبه را بر هاپیرآلژزیای حرارتی نشان می دهد. رفتار حیوان در روزهای ۱۴، ۱۷، ۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۴۰ جهت بررسی اثرات درمانی زردچوبه و کورکومین بر درد نروپاتی (هاپیرآلژزیای حرارتی) مورد سنجش قرار گرفت.

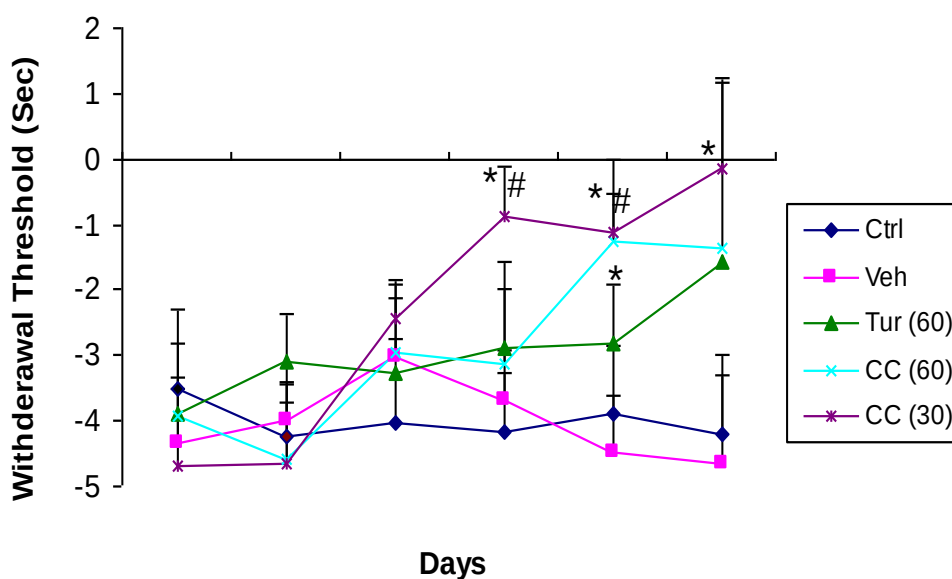
آنالیز واریانس یک طرفه ارزیابی هاپیرآلژزیای حرارتی در روز ۱۴، ۱۷ و ۲۰ حاکی از عدم وجود تفاوت معنی دار بین گروه ها بود ($P > 0.05$). بود (شکل ۴، الف، ب و ج). این یافته نشان دهنده عدم تأثیر معنی دار کورکومین و زردچوبه بر هاپیرآلژزیای حرارتی در این روزها است. همچنین آنالیز واریانس یک طرفه ارزیابی هاپیرآلژزیای حرارتی در روز ۲۳، ۲۶ و ۴۰ حاکی از وجود تفاوت معنی دار بین گروه ها بود ($P < 0.05$). آنالیز بعدی با آزمون توکی نشان داد که در روزهای ۲۳، ۲۶ و ۴۰ بین گروه حلال و کورکومین ۳۰ و در



شکل ۳. اثر تزریق کورکومین و زردچوبه بر آلودینیای مکانیکی در گروه ها و روزهای مختلف بوده و محور عمودی میانگین $\pm$ خطای استاندارد از میانگین را نشان می دهد. (*: معنی دار در سطح ۵ درصد در مقایسه با گروه حلال؛ #: معنی دار در سطح ۵ درصد در مقایسه با گروه کنترل)



شکل ۴. اثر تزریق کورکومین و زردچوبه بر هایپرالژزیای حرارتی در گروه‌ها و روزهای مختلف (الف: ۱۴ روز؛ ب: ۱۷ روز؛ ج: ۲۰ روز؛ د: ۲۳ روز؛ ه: ۲۶ روز؛ و: ۴۰ روز) بوده و محور عمودی میانگین $\pm$ خطای استاندارد از میانگین را نشان می‌دهد. (*: معنی‌دار در سطح ۵ درصد در مقایسه با گروه حلال؛ #: معنی‌دار در سطح ۵ درصد در مقایسه با گروه کنترل)



شکل ۵. اثر تزریق زردچوبه و کورکومین بر هایپرالژزیای حرارتی در گروه‌ها و روزهای مختلف بوده و محور عمودی میانگین $\pm$ خطای استاندارد از میانگین را نشان می‌دهد. (*: معنی‌دار در سطح ۵ درصد در مقایسه با گروه حلال؛ #: معنی‌دار در سطح ۵ درصد در مقایسه با گروه کنترل)

۴. بحث

یافته‌های اصلی این مطالعه نشان داد

این یافته‌ها نشان داد که آلودینیای مکانیکی و هایپرالژزیای حرارتی در روز چهاردهم پس از CCI در موش صحرایی ظاهر شد. نوروپاتی با مدل به کار رفته در این مطالعه که با بستن ۴ گره شل به دور عصب ایجاد شده بود [۱۶]، تا اندازه‌ای مشابه نوروپاتی ناشی از تحت فشار قرار گرفتن عصب بین مهره‌ای نخاعی توسط فتق دیسک در انسان است [۱۷]. روش کار ما به این صورت بود که از روز چهاردهم پس از CCI تا روز ۲۶ تزریق روزانه دارو انجام و در روزهای ۱۴، ۱۷، ۲۰، ۲۳، ۲۶ و ۴۰ پس از ایجاد CCI ارزیابی درد انجام شد. مطالعات انجام شده توسط Jaggi و همکاران در سال ۲۰۱۱ که نشان داد از روز دوم پس از CCI آلودینیای مکانیکی و از هفته دوم پس از هایپرالژزیای حرارتی دیده می‌شود که در هفته دوم به اوج خود می‌رسد [۱۸] همچنین مطالعه Xiao و همکاران در سال ۲۰۱۲ شروع هایپرالژزیای حرارتی را از روز دهم نشان داد که تا چهل روز ادامه داشته و سپس کاهش یافت [۱۹].

- ۱- آلودینیای مکانیکی و هایپرالژزیای حرارتی در روز چهاردهم پس از فشردن مزمن عصب سیاتیک در موش صحرایی ظاهر شد.
- ۲- کورکومین با دوز ۳۰ mg/kg از روز ۲۰ و با دوز ۶۰ mg/kg در روز ۲۶ آلودینیای مکانیکی را به صورت معنی‌داری کاهش داد.
- ۳- کورکومین با دوز ۳۰ mg/kg از روز ۲۳ و با دوز ۶۰ mg/kg در روز ۲۶ هایپرالژزیای حرارتی را به صورت معنی‌داری کاهش داد.
- ۴- زردچوبه با دوز ۶۰ mg/kg اثری در کاهش آلودینیا و هایپرالژزیای در هیچ روزی نداشت.
- ۵- اثر کورکومین با دوز ۳۰ mg/kg بر کاهش هایپرالژزیای حرارتی و آلودینیای مکانیکی تا روز ۴۰ ادامه یافت.

همکاران در سال ۲۰۱۲ که نشان دادند از روز دوم پس از CCI آلودینیای مکانیکی و از هفته‌ی دوم پس از CCI هایپرالژیای حرارتی دیده می‌شود هم‌خوانی دارد [۲۱]. محققین معتقدند که مکانیسم تولید آلودینیای مکانیکی و هایپرالژیای حرارتی متفاوت است، زیرا در دو زمان متفاوت شروع می‌شود [۲۲]. تفاوت در مکانیسم تولید آلودینیای مکانیکی و هایپرالژیای حرارتی می‌تواند توجیه‌کننده‌ی زمان بروز اثرات کورکومین بر آلودینیا و هایپرالژیا باشد.

در مطالعه‌ی ما زردچوبه با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن بر هیچ‌یک از دو پدیده‌ی آلودینیای مکانیکی و هایپرالژیای حرارتی اثر معنی‌داری نداشت. با توجه به اینکه کورکومین یکی از ترکیبات اصلی زردچوبه را تشکیل می‌دهد [۲۳]، به نظر می‌رسد اثرات ضددردی وابسته به کورکومین بوده و این دوز از زردچوبه اثری نمی‌تواند داشته باشد.

مطالعات نشان داده مرگ غیرمنتظره نوروها ممکن است در پاتولوژی بیماری‌های نورودژنراتیو نقش مهمی داشته باشد. بنابراین به نظر می‌رسد که پیشگیری از مرگ نوروها روش درمانی مناسبی برای درمان این گونه بیماری‌ها باشد. عامل نکروز تومور آلفا ($TNF-\alpha$) یک سایتوکاین چندمنظوره است که طیف وسیعی از پاسخ‌های سلولی را ایجاد می‌کند. $TNF-\alpha$ در مغز طبیعی، به مقدار کمی وجود دارد. محرک‌های پاتولوژیک مانند جراحی، ایسکمی و عفونت می‌توانند بیان $TNF-\alpha$ را به شدت افزایش دهند. بیان بیش از حد $TNF-\alpha$ در پاتوژنز چند اختلال مغزی انسان مانند بیماری‌های آلزایمر و پارکینسون دخالت دارد. در مطالعه‌ای که Sharma و همکاران در سال ۲۰۰۷ در هند انجام دادند، نشان دادند کورکومین از طریق کاهش قابل توجه سطح اکسید نیتریک (NO) و $TNF-\alpha$ درد نوروپاتی دیابتی را کاهش می‌دهد [۲۴، ۱۲].

مطالعات دیگر نشان داده است که آلودینیای مکانیکی ۱۲ الی ۱۵ روز پس از ایجاد CCI شروع و تا ۸ هفته ادامه می‌یابد [۱۵] با توجه به موارد ذکر شده، در تحقیق حاضر شروع درمان و تزریق دارو و ارزیابی درد را از روز چهاردهم شروع کردیم و تا روز چهل ادامه دادیم.

نتایج این مطالعه نشان داد که کورکومین در دوزهای ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن می‌تواند باعث کاهش آلودینیای مکانیکی و هایپرالژیای حرارتی شود و زردچوبه در دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن اثری بر این دو ندارد. در مطالعه‌ی حاضر اثرات ضددردی کورکومین با دوز ۳۰ mg/kg بر پدیده آلودینیای مکانیکی از روز ۲۰ و بر پدیده هایپرالژیای حرارتی از روز ۲۳ شروع شد و تا روز ۴۰ ادامه داشت. همچنین اثرات ضددردی کورکومین با دوز ۶۰ mg/kg بر آلودینیای مکانیکی در روز ۲۶ و بر هایپرالژیای حرارتی نیز در روز ۲۶ ظاهر شد و پس از قطع دارو اثرات آن تا روز ۴۰ ادامه نداشت. این نتایج نشان می‌دهد که اثرات دوز ۳۰ زودتر از دوز ۶۰ شروع شده و ماندگاری آن نیز پس از قطع دارو بیشتر است.

این تفاوت در اثرگذاری دوزهای مختلف کورکومین در مطالعه مشابهی که بر روی مغز موش‌های آزمایشگاهی کوچک مبتلا به آلزایمر انجام شد، نیز نشان داده شد. به این صورت که در محیط کشت سلولی که از مغز موش‌ها تهیه شده بود میزان $A\beta$ محلول و $A\beta$ غیرمحلول پس از مواجهه با کورکومین با دوز پایین (۱۶۰ ppm) به صورت معنی‌داری کاهش یافت اما در برابر کورکومین با دوز بالا (۵۰۰۰ PPM) هیچ‌گونه تغییری دیده نشد [۲۰]. نتایج ما و نتایج تحقیق فوق نشان داد که دوز پائین اثرات بهتری از دوز بالا دارد.

در این مطالعه، اثرات کورکومین بر آلودینیای مکانیکی و هایپرالژیای حرارتی در روزهای مختلف، متفاوت بوده است، که این نتیجه با مطالعه انجام شده توسط Xiao و

کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و در نهایت کاهش شدت التهاب اعمال می‌شود. بر این اساس بواسطه این اثر کورکومین احتمالاً می‌تواند در درمان درد نوروپاتیک در انسان مفید باشد.

مشارکت نویسندگان

مشارکت نویسنده اول و چهارم مقاله به عنوان مجریان مطالعه شامل پایه‌ریزی تحقیق و نگارش محتوای مقاله، نویسنده دوم، مشاوره در تبیین مبانی نظری تحقیق و در طراحی روش، نویسنده سوم، مسؤولیت جمع‌آوری داده‌های خام مطالعه بود.

تضاد منافع

در این مطالعه تضاد منافع وجود ندارد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از معاونت محترم تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی سمنان به جهت تصویب و حمایت برای اجرای طرح تقدیر به عمل می‌آید. ضمناً این مقاله برگرفته از پایان‌نامه خانم فرزانه محمدزاده جهت اخذ دکترای پزشکی عمومی می‌باشد.

بر طبق مطالعات اخیر، کورکومین سبب کاهش آسیب اکسیداتیو و آپوپتوزیس می‌شود. با استفاده از آنالیزهای DNA ثابت شده است که اضافه کردن یک دوز پایین از کورکومین به مخلوط کشت آستروسیت و الیگودندروسیت، مسیر پنتوزفسفات میزان NADH (نیکوتین آمید آدنین دی‌نوکلئوتید هیدروژن) را تنظیم می‌کند و گلوکاتیون و آلدئیداکسیداز را فعال می‌کند [۲۵].

در مطالعه‌ای که بر روی سلول‌های PC12 و میزان محافظت آنها در برابر آب اکسیژنه توسط کورکومین انجام شد، اثرات متفاوت کورکومین بر روی LDH و MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] گویای اثرات محافظتی کورکومین در برابر اکسیداسیون بوده است [۲۶].

البته مکانیسم ضددردی کورکومین در درد نوروپاتی که با مدل فشردن مزمن عصب سیاتیک در موش صحرایی ایجاد می‌شود، کاملاً مشخص نیست و نیاز به پژوهش بیشتر می‌باشد.

۵. نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد تجویز مزمن کورکومین در مدل CCI درد نوروپاتی را در موش صحرایی کاهش می‌دهد. مطالعات قبلی پیشنهاد نموده‌اند که احتمالاً این اثر از طریق

منابع

1. Wang J and Chen Z. Neuromodulation for Pain Management. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2019; 1101: 207-23.
2. Jensen TS, Baron R, Haanpää M, Kalso E, Loeser JD, Rice AS and Treede R-D. A new definition of neuropathic pain. *Pain.* 2011; 152(10): 2204-05.
3. Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, Baron R, Dickenson AH, Yarnitsky D, Freeman R, Truini A, Attal N, Finnerup NB, Eccleston C, Kalso E, Bennett DL, Dworkin RH and Raja SN. Neuropathic pain. *Nat. Rev. Dis. Primers* 2017; 3: 17002.
4. Costigan M, Scholz J and Woolf CJ. Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. *Annu. Rev. Neurosci.* 2009; 32: 1-32.

5. Malcangio M. Role of the immune system in neuropathic pain. *Scand. J. Pain*. 2019; Nov 14 (In press).
6. Chattopadhyay I, Biswas K, Bandyopadhyay U and Banerjee RK. Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Current Science-Bangalore*. 2004; 87: 44-53.
7. Ceyhan D, Kocman A E, Yildirim E, Ozatik O, Aydin S and Kose A. Comparison of the effects of curcumin, tramadol and surgical treatments on neuropathic pain induced by chronic constriction injury in rats. *Turk. Neurosurg*. 2018; 28(2): 288-95.
8. Aggarwal BB, Kumar A and Bharti AC. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res*. 2003; 23 (1/A): 363-98.
9. Ghosh S, Banerjee S and Sil PC. The beneficial role of curcumin on inflammation, diabetes and neurodegenerative disease: A recent update. *Food Chem. Toxicol*. 2015; 83: 111-24.
10. Rahmani AH, Alsahli MA, Aly SM, Khan MA and Aldebasi YH. Role of curcumin in disease prevention and treatment. *Adv. Biomed. Res*. 2018; 7: 38.
11. Allegra A, Innao V, Russo S, Gerace D, Alonci A and Musolino C. Anticancer activity of curcumin and its analogues: preclinical and clinical studies. *Cancer Invest*. 2017; 35(1): 1-22.
12. Sharma S, Kulkarni SK, Agrewala JN and Chopra K. Curcumin attenuates thermal hyperalgesia in a diabetic mouse model of neuropathic pain. *Eur. J. Pharmacol*. 2006; 536(3): 256-61.
13. Safakhah H, Taghavi T, Rashidy-Pour A, Vafaei A, Sokhanvar M, Mohebbi N and Rezaei-Tavirani M. Effects of saffron (*Crocus sativus* L.) stigma extract and its active constituent crocin on neuropathic pain responses in a rat model of chronic constriction injury. *IJPR*. 2016; 15(1): 253.
14. Safakhah H A, Bazargani A and Ghanbari A. Effects of forced exercise on neuropathic pain induced by chronic constriction injury of sciatic nerve in male rat. *Koomesh* 2016; 411-8.
15. Zhang L, Ding X, Wu Z, Wang M and Tian M. Curcumin alleviates pain and improves cognitive impairment in a rat model of cobra venom-induced trigeminal neuralgia. *J. Pain. Res*. 2018; 11: 1095.
16. Kukkar A, Singh N and Jaggi A S. Attenuation of neuropathic pain by sodium butyrate in an experimental model of chronic constriction injury in rats. *J. Formos. Med. Assoc*. 2014; 1(12): 92-8.
17. Jaggi A S, Jain V and Singh N. Animal models of neuropathic pain. *Fundam. Clin. Pharmacol*. 2011; 25(1): 1-28.
18. Jaggi AS and Singh N. Exploring the potential of telmisartan in chronic constriction injury-induced neuropathic pain in rats. *Eur. J. Pharmacol*. 2011; 667(1-3): 215-21.
19. Xiao WH, Zheng H and Bennett GJ. Characterization of oxaliplatin-induced chronic painful peripheral neuropathy in the rat and comparison with the neuropathy induced by paclitaxel. *Neuroscience* 2012; 203: 194-206.
20. Lim GP, Chu T, Yang F, Beech W, Frautschy SA and Cole GM. The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse. *J. Neurosci*. 2001; 21(21): 8370-7.
21. Xiao WH, Bennett GJ. Effects of mitochondrial poisons on the neuropathic pain produced by the chemotherapeutic agents, paclitaxel and oxaliplatin. *Pain*. 2012 Mar 1; 153(3): 704-9.
22. Bennett GJ. What is spontaneous pain and who has it? *J. Pain*. 2012; 13(10): 921-9.

23. He Y, Yue Y, Zheng X, Zhang K, Chen S and Du Z. Curcumin, inflammation, and chronic diseases: how are they linked? *Molecules*. 2015; 20(5): 9183-213.
24. Sharma S, Chopra K and Kulkarni S K. Effect of insulin and its combination with resveratrol or curcumin in attenuation of diabetic neuropathic pain: participation of nitric oxide and TNF-alpha. *Phytother. Res.* 2007; 21(3): 278-83.
25. Panchal HD, Vranizan K, Lee CY, Ho J, Ngai J and Timiras PS. Early anti-oxidative and anti-proliferative curcumin effects on neuroglioma cells suggest therapeutic targets. *Neurochem. Res.* 2008; 33(9): 1701-10.

26. Siddiqui M, Kashyap M, Kumar V, Tripathi V, Khanna V, Yadav S and Pant A. Differential protection of pre-, co-and post-treatment of curcumin against hydrogen peroxide in PC12 cells. *Hum. Exp. Toxicol.* 2011; 30(3): 192-8.

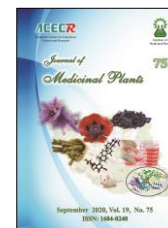
How to cite this article: Safakhah HA, Rashidy-Pour A, Mohammadzadeh F, Vafaei AA. The effect of turmeric and curcumin on neuropathic pain behavioral response of CCI model in rats. *Journal of Medicinal Plants* 2020; 19(75): 141-153.
doi: 10.29252/jmp.19.75.141



Institute of
Medicinal Plants

Journal of Medicinal Plants

Journal homepage: www.jmp.ir



Research Article

The effect of turmeric and curcumin on neuropathic pain behavioral response of CCI model in rats

Hossein Ali Safakhah^{1,2}, Ali Rashidy-Pour^{1,2}, Farzaneh Mohammadzadeh^{1,2}, Abbas Ali Vafaei^{1,2*}

¹ Research Center of Physiology, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

² Department of Physiology, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences

ARTICLE INFO

Keywords:

Chronic constriction injury
Curcumin
Mechanical allodynia
Rat
Thermal hyperalgesia
Turmeric

ABSTRACT

Background: Neuritis is one of the causes of neuropathic pains. It is proved that turmeric and curcumin have anti-neuritis effect that may be reduce of neuropathic pain. **Objective:** In this study, effects of turmeric and curcumin have been evaluated on behavioral response resulted from chronic constriction injury (CCI) in rat. **Methods:** In this experimental study Wistar male rat (200-250 gr) were used. For create of CCI, Bennet and Xie (1988) method has been used. 2 weeks after neuritis occurrence, turmeric 60 mg/kg and curcumin 30 and 60 mg/kg injection have been begun and continued until 26th day as daily and Intraperitonealy. Animal behavioral responses have been measured by using of mechanical allodynia (Von Frey) test and thermal hyperalgesia test during 14, 17, 20, 23, 26 and 40 days after neuritis occurrence. **Results:** Results indicated that creation of CCI increases behavioral responses as significant. Curcumin injection with dosage of 30 mg/Kg leads to decrease of mechanical allodynia from 20th and thermal hyperalgesia from 23th day. This effect has been observed until 40th day. Curcumin injection with dosage of 60 mg/Kg leads to decrease of mechanical allodynia and thermal hyperalgesia in 26th day. Turmeric injection with dosage of 60 mg/kg had no effect on mechanical allodynia and thermal hyperalgesia. **Conclusion:** Finding shown that curcumin has positive effect on decrease of neuropathic pain that induced by CCI. Previous study suggested that the effect of curcumin is partly attributed to attenuation of lipid peroxidation in the periphery that finally reduced of inflammation.

Abbreviations: CCI, Chronic Constriction Injury; DNA, Deoxyribonucleic Acid; TNF- α , Tumor necrosis factor alpha; NO, Nitric Oxide; NADH, Nicotinamide Adenine Dinucleotide Hydrogen; LDH, Lactate dehydrogenase;

* Corresponding author: aavafaei@semums.ac.ir

doi: [10.29252/jmp.19.75.141](https://doi.org/10.29252/jmp.19.75.141)

Received 2 June 2019; Received in revised form 24 November 2019; Accepted 30 November 2019

© 2020. Open access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)