

Evaluation of Analgesic Effects of Hydroalcoholic Extract of *Allium cepa* L. in Animal Model of Neuropathic Pain

Sanaz Mahdipour¹, Samaneh Teimouri¹, Omid Reza Tamtaji², Mojgan Mohammadifar³, Mohsen Taghizadeh⁴, Sayyed Alireza Talaie^{5*}

1.B.Sc Student of Laboratory Sciences, Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

2.M.Sc Student of Physiology, Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

3.M.Sc Student of Biochemistry, Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

4.Associate Professor, Ph.D of Nutrition, Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

5.Ph.D of Physiology, Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Received: 23 Jan 2017, Accepted: 26 Feb 2017

Abstract

Background: Neuropathic pain is a chronic pain that affects on the patient's quality of life. Use of herbal instead of synthetic drugs recently has been increased due to side effects of synthetic drugs and herbal effective components. Flavonoids are herbal compounds that have analgesic and anti-inflammatory effects. Because *Allium cepa* L. has a great amount of flavonoids, this study has been designed to evaluate analgesic effects of alcoholic extract of *Allium cepa* L. on neuropathic pain behavior in chronic constriction injury model in rats.

Materials and Methods: In this experimental study, neuropathic pain induced by chronic constriction injury (CCI model) in Rats. Animals were randomly divided into 4 groups (n=10 for each): Sham, CCI model, receiving red onion hydroalcoholic extract at a dose of 100 mg/kg and a group receiving gabapentin (100 mg/kg). Red onion extract and gabapentin were administered by gavage for 21 days. Using thermal hyperalgesia, mechanical and thermal allodynia tests, the analgesic effects of extract have been measured.

Results: Findings of this study revealed that CCI surgery on rats induced hyperalgesia, mechanical and thermal allodynia. Daily intakes of alcoholic extract of red onion and gabapentin significantly increase the paw withdrawal latency; increase the threshold to mechanical allodynia and decrease in response to acetone.

Conclusion: Oral use of alcoholic extract of *Allium cepa* L. reduces neuropathic pain behavior in CCI model in rats.

Keywords: *Allium cepa* L., Allodynia, Gabapentin, Hyperalgesia, Neuropathic pain, Rats

*Corresponding Author:

Address: Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Email: talaie@kaums.ac.ir

بررسی اثر ضددردی عصاره هیدروالکلی پیاز قرمز (*Allium cepa* L.) در مدل حیوانی درد نوروپاتیک

ساناز مهدی پور^۱، سمانه تیموری^۱، امیدرضا تمناجی^۲، مژگان محمدی فر^۳، محسن تقی زاده^۴، سید علیرضا طلائی^{۵*}

۱. دانشجوی کارشناسی علوم آزمایشگاهی، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۲. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۳. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۴. دانشیار، دکتری تغذیه، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۵. دکتری فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۴ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۸

چکیده

زمینه و هدف: درد نوروپاتیک یکی از دردهای مزمن است که بر کیفیت زندگی بیماران اثر می‌گذارد. اخیرا کاربرد گیاهان دارویی به جای داروهای سنتتیک با توجه به عوارض جانبی نامطلوب این داروها و تنوع در مواد موثره گیاهی افزایش یافته است. فلاونوئیدها از ترکیب‌های گیاهی هستند که اثر ضد دردی و ضد التهابی آن‌ها ثابت شده است. با توجه به مقادیر بالای ترکیب‌های فلاونوئیدی در پیاز قرمز، این پژوهش با هدف بررسی اثر عصاره پیاز قرمز بر رفتارهای درد نوروپاتی در مدل آسیب فشاری مزمن بر عصب سیاتیک (CCI) در موش‌های صحرایی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر، جهت ایجاد درد نوروپاتی طبق مدل CCI، از ایجاد فشار بر عصب سیاتیک موش صحرایی استفاده شد. حیوانات به ۴ گروه شاهد (انجام جراحی کاذب)، جراحی CCI، دریافت کننده عصاره هیدروالکلی پیاز قرمز با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم وزن بدن و دریافت کننده گاباپنتین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تقسیم شدند (n=10 سر برای هر گروه). عصاره پیاز قرمز و گاباپنتین به مدت ۲۱ روز به صورت گاوژ تجویز شد. اثر ضد دردی عصاره پیاز با استفاده از تست‌های رفتاری هایپرآلژزیای حرارتی، آلودینیای مکانیکی و حرارتی سنجیده شد.

یافته‌ها: نتایج پژوهش حاضر نشان داد که انجام عمل CCI روی موش‌های صحرایی موجب ایجاد هایپرآلژزیای آلودینیای مکانیکی و حرارتی می‌گردد. دریافت روزانه عصاره الکل پیاز قرمز و گاباپنتین به طور معنی‌داری موجب افزایش زمان تاخیر در عقب کشیدن پا در هایپرآلژزیای حرارتی، افزایش آستانه پاسخ به آلودینیای مکانیکی و کاهش درصد پاسخ دهی به پاشیدن استون گردید.

نتیجه‌گیری: مصرف خوراکی عصاره پیاز قرمز علائم ناشی از درد نوروپاتیک را در موش‌های صحرایی مدل آسیب فشاری مزمن بر عصب سیاتیک کاهش می‌دهد.

واژگان کلیدی: درد نوروپاتیک، پیاز قرمز، هایپرآلژزیای آلودینیای مکانیکی، موش صحرایی

*نویسنده مسئول: ایران، کاشان، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی

Email: talaei@kaums.ac.ir

مقدمه

درد نوروپاتیک (Neuropathic pain) یکی از دردهای مزمن است که در اثر آسیب سلول‌های عصبی و اختلال در عملکرد سیستم عصبی مرکزی، محیطی یا اتونوم ایجاد می‌شود. از نشانه‌های این نوع درد می‌توان به احساس ناخوشایند سوزش و گزگز (Dysesthesia)، افزایش حساسیت به محرک‌های دردناک (Hyperalgesia) و احساس درد در مواجهه با محرک‌های غیر-دردناک (Alldoynia) اشاره نمود. بی‌خوابی و افسردگی از علائم رفتاری دردهای نوروپاتیک می‌باشند (۱). حساس شدن گیرنده‌های درد در محیط باعث افزایش شدت پاسخ به محرک‌های حرارتی و مکانیکی می‌شود. از مهم‌ترین علل ایجاد این نوع درد می‌توان به وارد شدن آسیب به سیستم اعصاب مرکزی یا محیطی به ویژه آسیب‌های نخاعی، عفونت‌ها و التهابات عصبی، اختلالات متابولیکی مثل نوروپاتی دیابتی یا اورمی و ایسکمی اشاره کرد (۲). مکانیسم‌های متعددی برای ایجاد دردهای نوروپاتیک مطرح شده‌اند که از بین آن‌ها می‌توان به افزایش فعالیت گیرنده‌های NMDA، آزاد شدن بیش از حد ناقل‌های عصبی تحریکی مانند گلوتامات در شاخ خلفی نخاع، کاهش فعالیت مسیرهای مهارتی و افزایش نیتریک اکساید اشاره نمود (۳). هم‌چنین، مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که افزایش فاکتورهای پیش التهابی و ایجاد التهاب نیز از مکانیسم‌های مهم در ایجاد دردهای نوروپاتیک می‌باشند (۴). علاوه بر این، افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) نیز می‌تواند باعث ایجاد و تشدید دردهای نوروپاتیک شود (۵). علی‌رغم پیشرفت‌های روزافزون علم پزشکی، درمان‌های رایج برای درد نوروپاتیک نسبی بوده و بیماران با مشکلات زیادی روبه‌رو هستند. داروهای زیادی مثل مخدرها، داروهای ضدتشنج و ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ای برای درمان درد نوروپاتیک پیشنهاد شده‌اند، اما باید این را در نظر گرفت که هر یک از این داروها عوارض جانبی قابل توجهی دارند (۶).

استفاده از گیاهان برای درمان بیماری‌ها پیشینه تاریخی دارد و گیاهان دارویی پایه و اساس بسیاری از درمان‌ها در طب سنتی بوده‌اند. امروزه گیاهان دارویی به دلیل داشتن عوارض جانبی و هزینه کم‌تر مورد توجه قرار گرفته‌اند. تنوع در مواد موثره، اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی قوی و توانایی پیش‌گیری از رشد تومورها سبب گسترش تحقیقات پزشکی در مورد خواص گیاهان دارویی شده است (۷). ترپنوئیدها، کومارین‌ها، فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات فنولی از جمله مواد شیمیایی موجود در گیاهان دارویی می‌باشند که خواص بسیاری را به آن‌ها نسبت داده‌اند. از جمله اشکال پرکاربرد گیاهان عصاره‌ها می‌باشند که پتانسیلی امیدوارکننده برای حفظ و ارتقای سلامت، پیش‌گیری و درمان برخی از بیماری‌ها را دارا می‌باشند. پیاز خوراکی (*Allium cepa* L.) یکی از مهم‌ترین سبزیجات در سراسر جهان است که مناطق اصلی تولید آن چین، هند، ایالات متحده، روسیه، ترکیه و ایران می‌باشد. پیاز یک منبع مهم ترکیبات گیاهی از جمله فلاونوئیدها، فروکتوالیگوساکاریدها، تیوسولفانات‌ها و دیگر ترکیبات گوگردی است (۸). فلاونوئیدها از جمله مواد موثره گیاهی هستند که اثرات ضد درد و ضد التهابی آن‌ها ثابت شده است (۹). برای عملکرد فلاونوئیدها چندین مکانیسم از جمله مهار فاکتور هسته‌ای kB، مهار مسیر سیکلواکسیژناز، مهار پراکسیداسیون لیپیدی و مهار سنتز نیتریک اکساید پیشنهاد شده است؛ با این حال مکانیسم عمل این ترکیبات به طور کامل مشخص نمی‌باشد (۱۰، ۱۱). آنالیز نتایج کروماتوگرافی مایع با کارایی (HPLC) بالا پیاز نشان داده است بیش‌ترین فلاونوئیدهای موجود در پیاز کوئرستین و آنتوسیانیدین می‌باشند (۱۲). اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی کوئرستین در مطالعات تجربی بسیاری گزارش شده است (۱۳). Civi و همکاران نشان دادند که کوئرستین می‌تواند درد ناشی از آسیب مزمن فشاری بر عصب سیاتیک موش‌های صحرایی را بهبود بخشد (۱۴). نشان داده شده است آنتوسیانین‌های موجود در آلبالو می‌توانند درد ناشی از کاراژینان را در موش‌های

نظر هرباریوم و سلامت، توسط کارشناس ارشد گیاه‌شناسی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی شرکت باریج اسانس مورد تایید قرار گرفت. پیازهای خریداری شده خرد شده و سپس در دمای اتاق خشک شدند. سپس، پیاز خشک شده آسیاب شد. پس از آسیاب کردن پودر به دست آمده در داخل پرکولاتور قرار داده شد و به میزان کافی الکل اتیلیک ۹۶ درجه به آن اضافه گردید تا ۵ سانتی‌متر از سطح پیاز را الکل بگیرد. پس از ۷۲ ساعت، مایع حاصل از پرکولاتور با استفاده از کاغذ صافی، صاف گردید و به منظور تغلیظ، محلول حاصل در دمای ۴۰ درجه قرار گرفت تا تمامی الکل آن خارج شود. در نهایت مقدار ماده خشک عصاره تغلیظ شده جهت گاوآژ اندازه‌گیری شد.

ایجاد مدل درد نوروپاتیک: برای ایجاد مدل حیوانی درد نوروپاتیک از روش آسیب فشاری مزمن عصب سیاتیک (Chronic Constriction Injury) استفاده شد که توسط Bennett و Xie معرفی شده است (۱۷)؛ بدین منظور ابتدا حیوانات با تزریق داخل صفاقی سدیم پنتوباریتال (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شده و پس از حصول اطمینان از بیهوشی کامل، موهای بالا و پشت ران حیوان کاملاً تراشیده شد. سپس، برش کوچکی به طول ۲ سانتی‌متر در قسمت خارجی ران چپ زده شد. پس از بریدن و کنار زدن عضلات آن ناحیه و رویت عصب سیاتیک به وسیله پنس مخصوص اتصالات هم‌بندی عصب از سایر بافت‌ها جدا گردید. در مرحله بعد با استفاده از نخ کرومیک ۴/۰ در محل قبل از سه شاخه شدن عصب سیاتیک ۴ گره شل با فواصل ۱ میلی‌متری ایجاد گردید، به نحوی که بر عصب فشار وارد شده اما جریان خون عصب قطع نشود. میزان شل بودن گره‌ها با استفاده از حرکت دادن آن‌ها روی عصب تخمین زده می‌شد. بعد از آن عضله و پوست هر کدام جداگانه به وسیله نخ نایلون ۴/۰ دوخته شدند و ناحیه جراحی استریل شد.

صحرائی مهار کنند (۱۵). از آنجایی که اثرات ضددردی گیاهان هم خانواده پیاز مانند سیر به اثبات رسیده است (۱۶) و با توجه به اثرات نامطلوب درد نوروپاتیک بر کیفیت زندگی بیماران و عدم وجود یک درمان مناسب و بدون عوارض جانبی، هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره الکل پیاز در کاهش درد نوروپاتی ایجاد شده در موش‌های صحرائی نر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در مطالعه تجربی حاضر از ۴۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار به وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. موش‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه شاهد (Sham)، جراحی CCI، دریافت کننده عصاره هیدروالکلی پیاز قرمز با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و دریافت کننده گاباپنتین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تقسیم شدند (n=10) سر برای هر گروه). به غیر از گروه شاهد عمل CCI (Chronic constriction injury) بر روی بقیه گروه‌ها انجام شد و در گروه شاهد پس از باز کردن محل عبور عصب سیاتیک بدون زدن ناقص عصب دوباره محل جراحی شده بخیه زده شد. عصاره پیاز قرمز و گاباپنتین به مدت ۲۱ روز و هر روز راس ساعت ۱۰ صبح به صورت گاوآژ تجویز شد. در طی این مدت به گروه شاهد جهت در نظر گرفتن استرس گاوآژ آب مقطر داده شد. موش‌ها در طول مدت مطالعه با دسترسی آزاد به آب و غذا و در شرایط دمایی مناسب (۲۲±۲) نگهداری شدند. میزان رطوبت اتاق نگه‌داری حیوانات ۴۰ تا ۵۰ درصد بود. سیکل شبانه روزی موش‌ها به صورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی تنظیم گردید. تمامی دستورات اخلاقی مصوب کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

تهیه عصاره الکل پیاز: به منظور تهیه عصاره الکل، ابتدا پیاز مورد نیاز از فروشگاه‌های شهر کاشان خریداری شده و از

آزمون‌ها:

هایپر آلژزیای حرارتی: در این آزمایش از دستگاه Radiant heat plantar test (Ugo Bassil, Italy) استفاده شد. با استفاده از این دستگاه با تاباندن اشعه مادون قرمز از میان سطح پلکسی گلاس به کف پای حیوان میزان تحمل نسبت به محرک آسیب رسان حرارتی مورد سنجش قرار می‌گیرد. این روش توسط Hargreaves و همکارانش معرفی شده است (۱۸). در این روش، بخش میانی کف پای حیوان در معرض اشعه قرار گرفته و زمان تاخیر در عقب کشیدن پا (Paw Withdrawal Latency) (PWL) با دقت ۰/۱ ثانیه ثبت می‌گردد. تحریکات حرارتی سه مرتبه و با فواصل ۵ تا ۱۰ دقیقه تکرار می‌شد. و نقطه برش آزمایش ۲۲ ثانیه بود (۱۹).

آلودینیای مکانیکی: برای انجام این آزمون، حیوانات را بر روی یک شبکه سیمی و در داخل یک محفظه پلاکسی گلاس به ابعاد ۲۰×۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر 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 فوق در محدوده ۲ تا ۶۰ گرم ساخت شرکت Stoelting, USA استفاده شد (تارها دارای وزن ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۵، ۲۶ و ۶۰ گرم می‌باشند). هر آزمایش را با تار دارای کم‌ترین وزن شروع کرده و به ترتیب در صورت عدم پاسخ حیوان، تار با شماره بالاتر انتخاب می‌گردید. هر تار را سه بار متوالی به فاصله ۵ ثانیه و هر بار به مدت یک ثانیه به کف پای حیوان فشار داده، اگر ۲ بار متوالی پاسخ داده می‌شد (حیوان پای خود را بلند می‌کرد) آستانه پاسخ به حساب می‌آمد 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 (۲۰).

آلودینیای حرارتی: جهت مشخص کردن حساسیت حیوان به آلودینیای حرارتی از پاشیدن استون به کف پا استفاده شد (۲۱). در این روش حیوان بر روی یک شبکه سیمی قرار

داده شد و به وسیله یک سرنگک انسولین که به جای سوزن آن یک لوله باریک پلی پروپیلن قرار داشت، یک قطره استون به کف پای چپ حیوان پاشیده شد. این آزمایش ۵ بار و هر بار به فاصله ۳ دقیقه انجام گرفت. در صورتی که با پاشیده شدن استون حیوان پای خود را بلند می‌کرد، به عنوان پاسخ مثبت و در غیر این صورت پاسخ منفی در نظر گرفته می‌شد. درصد پاسخ از طریق تعداد پاسخ مثبت حیوان نسبت به کل تعداد تحریک محاسبه گردید.

آنالیز آماری: پس از جمع‌آوری داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف از نرمال بودن آن‌ها اطمینان حاصل شد. داده‌ها با استفاده از آزمون Repeated measurement ANOVA مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و برای مقایسه دویه دوی گروه‌ها از پس آزمون Tukey استفاده گردید. تمامی آزمون‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شده و نتایج در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ و به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد از میانگین ارائه گردیده است.

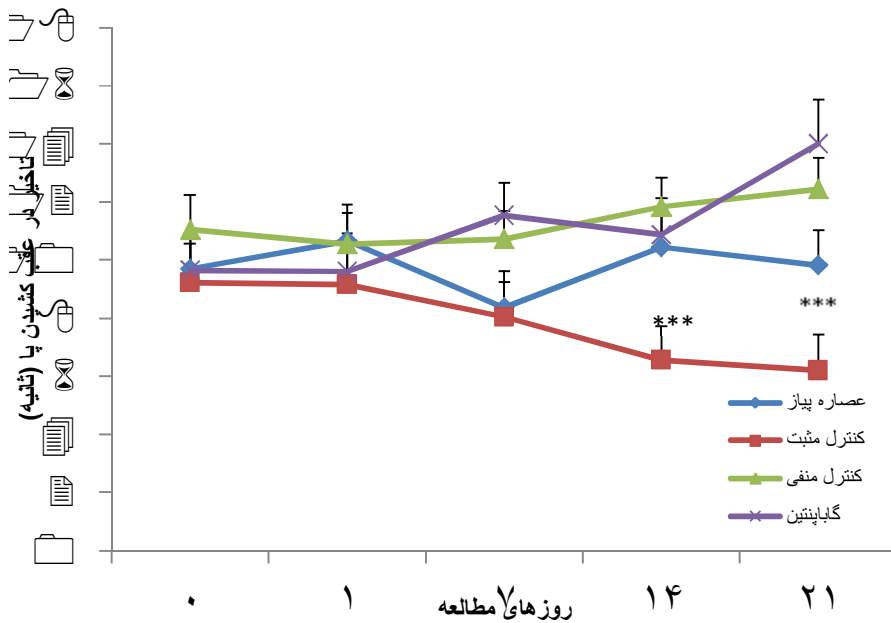
یافته‌ها

هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی اثرات ضد درد عصاره الکی پیاز قرمز در مدل آسیب مزمن ناشی از فشردگی عصب (CCI) و مقایسه آن با داروی گاباپنتین بود. نتایج آزمون‌های رفتاری انجام شده به شرح ذیل می‌باشد.

هایپر آلژزیای حرارتی: همان‌گونه که در نمودار ۱ نشان داده شده است متعاقب گره زدن عصب سیاتیک تاخیر در عقب کشیدن پا به طور فزاینده‌ای طی روزهای بعدی کاهش می‌یابد و اختلاف بین گروه‌های CCI و شاهد در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از جراحی معنی‌دار است ($p < 0.001$). دریافت عصاره پیاز قرمز موجب شد تا اختلاف تاخیر در عقب کشیدن پا نسبت به گروه شاهد طی روزهای مختلف آزمایش تفاوت معنی‌داری نداشته و به علاوه اختلاف آن با گروه CCI طی روزهای ۱۴ و ۲۱ پس از جراحی معنی‌دار باشد؛ بدین معنی

ترتیب که اختلاف بین گروه گاباپنتین و CCI در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ معنی دار بود ($p < 0.001$).

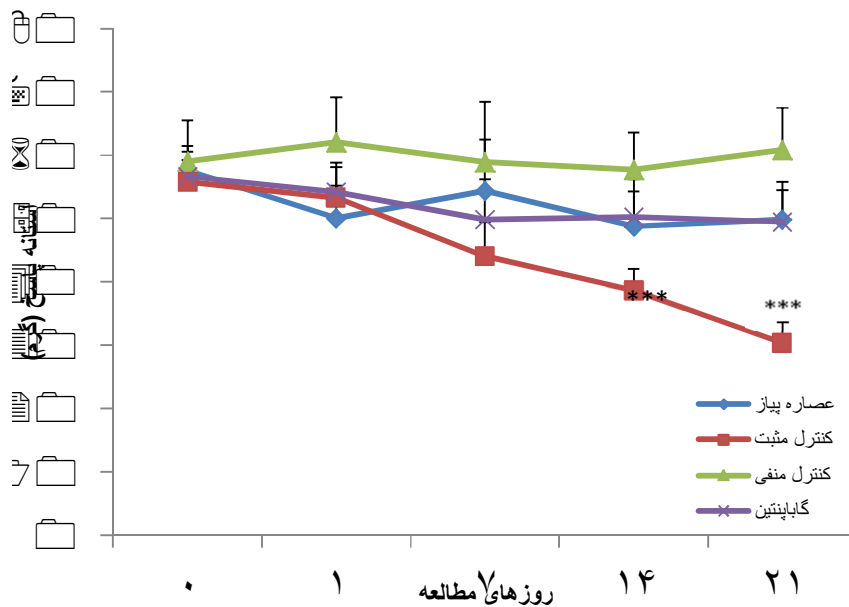
که اثرات ضد درد عصاره پیاز قرمز در آزمون هایپر آلژزیای حرارتی از روز ۱۴ به بعد ظاهر شده است. در مورد گاباپنتین اثر ضد درد از روز ۷ پس از جراحی مشاهده شد؛ بدین



نمودار ۱. مقایسه تاثیر دریافت عصاره هیدروالکلی پیاز قرمز و گاباپنتین بر تاخیر در عقب کشیدن پا در آزمون هایپر آلژزیای حرارتی. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد میانگین نشان داده شده‌اند. اختلاف معنی دار بین گروه CCI و بقیه گروه‌ها در روزهای ۱۴ و ۲۱ پس از جراحی وجود داشته ($p < 0.001$) و اختلاف بین گروه شاهد و سایر گروه‌ها معنی دار نیست.

CCI افزایش داده، به طوری که اختلاف بین گروه دریافت کننده عصاره و گروه CCI در روزهای ۱۴ و ۲۱ بعد از عمل معنی دار بوده ($p < 0.001$) و همچنین اختلاف بین گروه دریافت کننده عصاره و گروه شاهد معنی دار نیست. دریافت داروی گاباپنتین نیز آستانه پاسخ حیوانات را بالا برد و اختلاف این گروه با گروه CCI طی روزهای ۱۴ و ۲۱ بعد از جراحی معنی دار گردید.

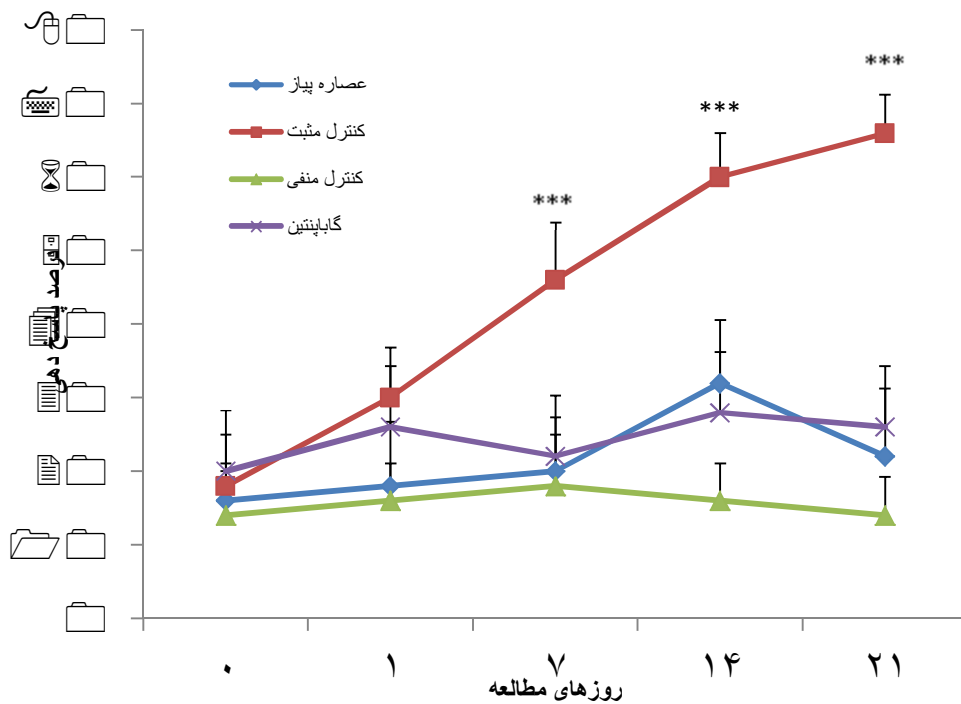
آلودینیای مکانیکی: آنالیز نتایج مربوط به آزمون آلودینیای مکانیکی نشان داد انجام عمل CCI به طور قابل توجهی آستانه پاسخ به فیلامان‌های von Frey را کاهش می‌دهد؛ به طوری که از روز ۷ بعد از عمل جراحی به بعد اختلاف بین گروه‌های CCI و شاهد معنی دار است ($p < 0.001$). با توجه به نمودار ۲ می‌توان مشاهده کرد که دریافت عصاره هیدروالکلی پیاز قرمز به طور قابل توجهی آستانه پاسخ به آزمون آلودینیای مکانیکی را در موش‌های صحرانی گروه



نمودار ۲. مقایسه تاثیر دریافت عصاره هیدروالکلی پیاز قرمز و گاباپنتین بر آستانه پاسخ در آزمون آلودینای مکانیکی. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد میانگین نشان داده شده‌اند. اختلاف معنی‌دار بین گروه CCI و بقیه گروه‌ها در روزهای ۱۴ و ۲۱ پس از جراحی وجود داشته ($p < 0.001$) و اختلاف بین گروه شاهد و سایر گروه‌ها معنی‌دار نیست.

آلودینای حرارتی: داده‌های مربوط به آزمون آلودینای حرارتی (پاشیدن استون) در نمودار ۳ نشان داده شده است. انجام عمل CCI باعث شد درصد پاسخ‌دهی به پاشیدن استون به کف پا به شدت طی روزهای بعد از عمل افزایش یافته و طی ۲۱ روز بیش از ۲ برابر افزایش یابد. آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که از روز ۷ بعد از عمل جراحی به بعد اختلاف بین گروه‌های CCI و شاهد در درصد پاسخ‌دهی به پاشیدن استون معنی‌دار است ($p < 0.001$). بررسی داده‌ها نشان داد که دریافت عصاره توسط موش‌های صحرائی تحت عمل CCI

قرار گرفته باعث می‌شود درصد پاسخ‌دهی آن‌ها به پاشیدن استون به شدت کاهش یافته، به طوری که اختلاف بین گروه‌های دریافت‌کننده عصاره و گروه CCI از روز ۷ بعد از عمل به بعد معنی‌دار بوده ($p < 0.001$) و اختلاف آن‌ها با گروه شاهد معنی‌دار نیست. هم‌چنین، آنالیز داده‌ها نشان می‌دهد که دریافت داروی گاباپنتین از درصد پاسخ‌دهی حیوانات به شدت کاسته و اختلاف این گروه با گروه CCI طی روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد از جراحی معنی‌دار گردید.



نمودار ۳. مقایسه تاثیر دریافت عصاره هیدروالکلی پیاز قرمز و گاباپنتین بر درصد پاسخ‌دهی در آزمون آلودینیای حرارتی. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد میانگین نشان داده شده‌اند. اختلاف معنی‌دار بین گروه CCI و بقیه گروه‌ها در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از جراحی وجود داشته ($p < 0.001$) و اختلاف بین گروه شاهد و سایر گروه‌ها معنی‌دار نیست

بحث

برای مطالعه درد نوروپاتیک و بررسی مکانیسم‌های دخیل در ایجاد آن، مدل‌های حیوانی زیادی معرفی شده‌اند که در بین آنها مدل آسیب فشاری مزمن عصب سیاتیک Chronic Constriction Injury (CCI) به دلیل ایجاد علائم ناشی از آن با علائم نمونه انسانی مورد پذیرش بیش‌تری قرار گرفته است. در این مدل با زدن چند گره شل روی عصب سیاتیک، عصب دچار التهاب شده و این آسیب در سطح نخاع و فوق نخاهی نیز ظاهر می‌شود. از مهم‌ترین علائم دردهای نوروپاتیک ایجاد آلودینیا و هایپرآلژزیا می‌باشد که در مدل CCI این علائم به طور قابل قبولی ایجاد می‌شوند (۲۲). لذا در مطالعه حاضر از مدل ایجاد آسیب فشاری مزمن روی عصب سیاتیک استفاده شد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان دهنده موثر بودن عمل جراحی CCI در ایجاد درد می‌باشد. انجام

عمل CCI باعث ایجاد آلودینیا و هایپرآلژزیا در موش‌های گروه CCI گردید که تا آخرین روز آزمایش نیز باقی ماند. ایجاد فشار مزمن روی سیاتیک می‌تواند منجر به افزایش آپوپتوز، افزایش میزان فاکتورهای التهابی از جمله $TNF-\alpha$ و استرس اکسیداتیو در سطح عصب، نخاع و فرانتاجی گردد (۱). نقش فاکتورهای التهابی آزاد شده از سلول‌های میکروگلیا در پیدایش و پیشرفت درد نوروپاتی در مطالعات پیشین ثابت شده است (۴). افزایش سطح مالون دی آلدئید در عصب سیاتیک، نخاع و مغز (ناحیه پری فرونتال کورتکس) نشان‌گر نقش رادیکال‌های آزاد در ایجاد نوروپاتی می‌باشد (۲۳). همچنین، افزایش سطح نیتريت در عصب سیاتیک و نخاع موید این نکته است که افزایش نیتريك اکساید نیز می‌تواند در شکل‌گیری درد در موش‌های صحرايي مدل CCI موثر باشد. در مطالعه دیگری افزایش نیتريك

سبز (*Camellia sinensis*) در آزمون رایتینگ اثر ضد دردی خوبی از خود نشان داده است (۳۳). مطالعات انجام شده روی گیاهان دارای فلاونوئید و مواد فنولی نشان داده است که این ترکیب‌ها می‌توانند اثر ضد درد و ضد التهابی چشم‌گیری داشته باشند (۳۴، ۳۵). برای مثال ثابت شده است اثر ضد دردی گیاه شبدر قرمز (*Trifolium pretense* L.) به دلیل وجود مقادیر بالای ترکیب‌های فنولی در آن می‌باشد (۳۶). اثرات ضددردی گیاهان هم خانواده پیاز مانند سیر به اثبات رسیده است (۳۷). عصاره سیر (*Allium sativum* L.) می‌تواند باعث کاهش درد ناشی از تزریق استیک اسید در تست رایتینگ شود (۳۸). در مطالعه Bhanot و همکاران گزارش شده است که عصاره متانولی سیر و پیاز بر بهبود درد ناشی از نوروپاتی دیابتی موثر می‌باشد (۳۹). مقایسه اثر ضد دردی عصاره پیاز، سیر و زنجبیل نشان داده است که عصاره پیاز درد ایجاد شده در تست رایتینگ را بیشتر مهار می‌کند (۴۰).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش موش‌های دریافت‌کننده عصاره الکل پیاز قرمز نسبت به گروه CCI درد کم‌تری را احساس کرده‌اند. جهت تعیین مکانیسم اثر ضد دردی پیاز پژوهش‌های بیشتر نیاز است. توصیه می‌شود با استفاده از داروهای مهارکننده مسیرهای ایجاد درد، برای مثال داروهای مهارکننده آنزیم سیکلواکسیژناز یا نالوکسان برای مهار عملکرد شبه اپیوئیدی، به بررسی اثر ضددردی عصاره الکل پیاز قرمز پرداخته شود.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر حاصل بخشی از نتایج طرح پژوهشی شماره ۹۲۰۸۶ مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان می‌باشد. لذا بدین وسیله از آن معاونت تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

اکساید و آنزیم نیتریک اکساید سنتاز القایی (Inducible nitric oxide synthase) در نخاع و سیاتیک موش‌های CCI گزارش شده است (۲۴). Horst و همکاران نشان دادند N-استیل سیستین با مهار آنزیم iNOS و کاهش متابولیت‌های آن می‌تواند منجر به کاهش درد نوروپاتیک در مدل CCI گردد (۲۵).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره الکل پیاز قرمز می‌تواند شدت درد را در آزمون‌های هایپرآلژزیای حرارتی، آلودینیای مکانیکی و حرارتی کاهش دهد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پیاز در حفاظت از سلول‌های انسانی در مقابل استرس اکسیداتیو مشخص شده است (۲۶). آنالیز عصاره پیاز نشان داده است که این گیاه دارای مقادیر بالای فلاونوئیدها به خصوص فلاونول می‌باشد (۸). حداقل ۲۵ نوع فلاونول در پیاز وجود دارد که بیش‌ترین آن‌ها کوئرستین و مشتقات آن می‌باشند. میزان فلاونوئیدها در پیاز قرمز (۱۹۱۷-۴۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن گیاه تر) نسبت به پیاز زرد یا سفید (۱۱۸۷-۲۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن گیاه تر) بیش‌تر می‌باشد (۲۷).

فلاونوئیدها می‌توانند باعث کاهش فعالیت و بیان آنزیم‌های سیکلواکسیژناز و نیتریک اکساید سنتاز شده و از این طریق اثرات ضد دردی خود را اعمال کنند (۲۸، ۲۹). نشان داده شده است که فلاونوئیدها با تاثیر بر گیرنده‌های N-متیل -D-آسپاراتات (NMDA) سبب کاهش کلسیم درون سلولی و به دنبال آن مهار فعالیت آنزیم‌های وابسته به کلسیم، نیتریک اکساید سنتاز و فسفولیپاز A₂ می‌شوند (۳۰). پروستاگلاندین E افزایش تحریک پذیری عصبی و حساس شدن گیرنده‌های درد را سبب می‌گردد. مهار پروستاگلاندین E موجب تحریک کمتر گیرنده‌های درد می‌شود (۳۱). کوئرستین با کاهش فعالیت و بیان آنزیم‌های سنتزکننده نیتریک اکساید و سیکلواکسیژناز موجب کاهش پردردی ناشی از التهاب می‌گردد (۳۲). مشخص شده است کوئرستین موجود در چای

14. Civi, S., et al., Effects of quercetin on chronic constriction nerve injury in an experimental rat model. 2016. 158(5): p. 959-65; discussion 965.

15. Tall, J.M., et al., Tart cherry anthocyanins suppress inflammation-induced pain behavior in rat. Behavioural Brain Research, 2004. 153(1): p. 181-188.

16. Nirjhor, S.A., et al., Methanol extract of *Allium sativum* L. leaves show antinociceptive activity in acetic acid-induced writhing tests in mice. Advances in Natural and Applied Sciences, 2014. 8(4): p. 203-208.

17. Bennett, G.J. and Y.-K. Xie, A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. Pain, 1988. 33(1): p. 87-107.

18. Hargreaves, K., et al., A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. Pain, 1988. 32(1): p. 77-88.

19. Bannon, A.W. and A.B. Malmberg, Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. Curr Protoc Neurosci, 2007. Chapter 8: p. Unit 8.9.

20. Chaplan, S., et al., Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. Journal of neuroscience methods, 1994. 53(1): p. 55-63.

21. Yoon, C., et al., Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. Pain, 1994. 59(3): p. 369-376.

22. Austin, P.J., A. Wu, and G. Moalem-Taylor, Chronic constriction of the sciatic nerve and pain hypersensitivity testing in rats. JoVE (Journal of Visualized Experiments), 2012(61): p. e3393-e3393.

23. Valsecchi, A.E., et al., Genistein, a natural phytoestrogen from soy, relieves neuropathic pain following chronic constriction sciatic nerve injury in mice: anti-inflammatory and antioxidant activity. Journal of neurochemistry, 2008. 107(1): p. 230-240.

24. Naik, A.K., et al., Role of oxidative stress in pathophysiology of peripheral neuropathy and modulation by N-acetyl-L-cysteine in rats. European Journal of Pain, 2006. 10(7): p. 573-573.

25. Horst, A.a., et al., Effect of N-acetylcysteine on the spinal-cord glutathione system and nitric-oxide metabolites in rats with neuropathic pain. Neuroscience letters, 2014. 569: p. 163-168.

منابع

1. Nickel, F.T., et al., Mechanisms of neuropathic pain. European Neuropsychopharmacology, 2012. 22(2): p. 81-91.

2. Hughes, J.P., et al., Understanding chronic inflammatory and neuropathic pain. Annals of the New York Academy of Sciences, 2012. 1255(1): p. 30-44.

3. Moalem, G. and D.J. Tracey, Immune and inflammatory mechanisms in neuropathic pain. Brain research reviews, 2006. 51(2): p. 240-264.

4. Sommer, C. and M. Kress, Recent findings on how proinflammatory cytokines cause pain: peripheral mechanisms in inflammatory and neuropathic hyperalgesia. Neuroscience letters, 2004. 361(1): p. 184-187.

5. Kim, H.K., et al., Reactive oxygen species (ROS) play an important role in a rat model of neuropathic pain. Pain, 2004. 111(1): p. 116-124.

6. Ro, L. and K. Chang, Neuropathic pain: mechanisms and treatments. Chang Gung medical journal, 2005. 28(9): p. 597.

7. Bent, S., Herbal Medicine in the United States: Review of Efficacy, Safety, and Regulation. Journal of General Internal Medicine, 2008. 23(6): p. 854-859.

8. Rodriguez Galdon, B., E.M. Rodriguez Rodriguez, and C. Diaz Romero, Flavonoids in onion cultivars (*Allium cepa* L.). J Food Sci, 2008. 73(8): p. C599-605.

9. Kim, H.P., et al., Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. Journal of pharmacological sciences, 2004. 96(3): p. 229-245.

10. Bell, R.F., et al., Food, pain, and drugs: Does it matter what pain patients eat? Pain, 2012. 153(10): p. 1993-1996.

11. Guardia, T., et al., Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat. Il farmaco, 2001. 56(9): p. 683-687.

12. Lombard, K.A., E. Geoffriau, and E. Peffley, Flavonoid quantification in onion by spectrophotometric and high performance liquid chromatography analysis. HortScience, 2002. 37(4): p. 682-685.

13. Anand David, A.V., R. Arulmoli, and S. Parasuraman, Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. Pharmacogn Rev, 2016. 10(20): p. 84-89.

26. Tedesco, I., et al., Identification and Quantification of Flavonoids from Two Southern Italian Cultivars of *Allium cepa* L., Tropea (Red Onion) and Montoro (Copper Onion), and Their Capacity to Protect Human Erythrocytes from Oxidative Stress. *J Agric Food Chem*, 2015. 63(21): p. 5229-38.
27. Slimestad, R., T. Fossen, and I.M. VÃ¥gen, Onions: A Source of Unique Dietary Flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007. 55(25): p. 10067-10080.
28. Mann, G.E., et al., Activation of endothelial nitric oxide synthase by dietary isoflavones: role of NO in Nrf2-mediated antioxidant gene expression. *Cardiovasc Res*, 2007. 75(2): p. 261-74.
29. Santangelo, C., et al., Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Ann Ist Super Sanita*, 2007. 43(4): p. 394-405.
30. Hu, J., et al., A role of periaqueductal grey NR2B-containing NMDA receptor in mediating persistent inflammatory pain. *Mol Pain*, 2009. 5: p. 71.
31. Galvez, J., et al., Antidiarrhoeic activity of *Euphorbia hirta* extract and isolation of an active flavonoid constituent. *Planta medica*, 1993. 59(04): p. 333-336.
32. Izzi, V., et al., The effects of dietary flavonoids on the regulation of redox inflammatory networks. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2012. 17: p. 2396-418.
33. Valerio, D.A., et al., Quercetin reduces inflammatory pain: inhibition of oxidative stress and cytokine production. *Journal of natural products*, 2009. 72(11): p. 1975-1979.
34. Denny, C., et al., Guava pomace: a new source of anti-inflammatory and analgesic bioactives. *BMC Complement Altern Med*, 2013. 13: p. 235.
35. Adedapo, A.A., et al., Anti-inflammatory and analgesic activities of the aqueous extract of *Cussonia paniculata* stem Bark. *Records of Natural Products*, 2012. 2(2): p. 46.
36. Lam, A.N., et al., Effect of red clover isoflavones on cox-2 activity in murine and human monocyte/macrophage cells. *Nutr Cancer*, 2004. 49(1): p. 89-93.
37. Garg, G. and J.D. Adams, Treatment of neuropathic pain with plant medicines. *Chinese journal of integrative medicine*, 2012. 18(8): p. 565-570.
38. Kumar, G.R. and K.P. Reddy, Reduced nociceptive responses in mice with alloxan induced hyperglycemia after garlic (*Allium sativum* Linn.) treatment. *Indian J Exp Biol*, 1999. 37(7): p. 662-6.
39. Bhanot, A. and R. Shri, A comparative profile of methanol extracts of *Allium cepa* and *Allium sativum* in diabetic neuropathy in mice. *Pharmacognosy Research*, 2010. 2(6): p. 374-384.
40. Farjana, F., et al., Antinociceptive activity studies with methanol extract of onion, garlic and ginger in mice. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 2014. 8(8): p. 169-175.