Journal of Arak University of Medical Sciences
Volume 29, Issue 3
August & September 2026

Research Article

Investigating the Effect of Vitamine (B1/B6/B12) Administration on Blood Glucose, Pain, and Memory Indexes in an Animal Model of Streptozotocin (STZ)-Induced Diabetic Neuropathy in Male Mice

Negin Golestani Eraghi[1], Elham Ghasemi[1*], Zahra Ahmadloo[2], Saeed Pazhoohan[1], Masoumeh Gholami[1], Mitra Noori[3*]

[1] Department of Physiology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran
[2] Department of Immunology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran
[3] Department of Biology, Faculty of Sciences, Arak University, Arak, Iran

*** Corresponding author**: Mitra Noori, Department of Biology, Faculty of Sciences, Arak University, Arak, Iran.
Email: m-noori@araku.ac.ir

DOI: 10.61882/jams.29.3.245

How to Cite this Article:
Golestani Eraghi N, Ghasemi E, Ahmadloo Z, Pazhoohan S, Gholami M, Noori M. Investigating the Effect of Vitamine (B1/B6/B12) Administration on Blood Glucose, Pain, and Memory Indexes in an Animal Model of Streptozotocin (STZ)-Induced Diabetic Neuropathy in Male Mice. *J Arak Uni Med Sci*. 2026;**29**(3): 245- 52. DOI: 10.61882/jams.29.3.245

Received: 26.01.2026
Published: 01.08.2026

Keywords:
Diabete (type Ⅰ);
Diabetic Neuropathy;
Neurobion;
Cognitive Memory;
Anxiety Memory

© 2024 Arak University of Medical Sciences

Abstract

Introduction: One of the most common complications of diabetes is diabetic neuropathy, which is often associated with pain, loss of sensation, and amputation. The complex mechanism of this disease is not yet fully understood, leading to inadequate assessment and treatment. Prevention or diagnosis in the early stages of the disease is very important to prevent the onset of symptoms and progression of neuropathy. Therefore, the aim of this study was to investigate the effects of Neurobion administration on blood glucose, pain, and memory indices in an animal model of streptozocin-induced diabetic neuropathy in male mice.

Methods: In this study, 21 male mice were divided into 3 groups. The first group (control group) received saline only, the second group (diabetes group) received 100 mg/Kg streptozotocin, and the third group (vitamin B group) received 100 mg/Kg streptozotocin and 2 ml/Kg Neurobion (B1/B6/B12). Then, a glucometer kit was used to check blood sugar, an elevated plus maze and a novel object recognition test were used to check memory, and a formalin test was used to check pain.

Results: Our results showed that administration of 2 ml/kg of Neurobion to streptozotocin-induced diabetic male mice had no effect on reducing blood sugar and cognitive memory, but improved pain index and anxiety memory.

Conclusions: B vitamins play an important role in the process of nerve regeneration and cognitive functions. According to the results obtained, it is suggested that Neurobion be administered simultaneously with drugs effective in improving diabetic neuropathy and at different doses to examine its effects.

Copyright *© 2024 The Author(s); Published by Journal of Arak University of Medical Sciences. This is an open access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http"//creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) witch permits others to copy and redistribute material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.*

مقاله پژوهشی

بررسی اثر تجویز ویتامین B1/B6/B12 بر شاخص‌های قندخون، درد و حافظه مدل حیوانی نوروپاتی دیابتی القاشده با استرپتوزوسین در موش‌های سوری نر

نگین گلستانی عراقی[۱]، الهام قاسمی[۱]، زهرا احمدلو[۲]، سعید پژوهان[۱]، معصومه غلامی[۱]، میترا نوری[۳*]

[۱] گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
[۲] گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
[۳] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران

* نویسنده مسئول: میترا نوری، استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران. ایمیل: m-noori@araku.ac.ir

DOI: 10.61882/jams.29.3.245

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۰۶
تاریخ چاپ: ۱۴۰۵/۰۵/۱۰

واژگان کلیدی:
دیابت نوع یک؛
نوروپاتی دیابتی؛
نوروبیون؛
ویتامین گروه ب؛
حافظه شناختی؛
حافظه اضطرابی

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی اراک محفوظ است.

چکیده

مقدمه: یکی از عوارض بسیار شایع دیابت، نوروپاتی دیابتی بوده که اغلب با ایجاد درد، از دست دادن حس و قطع عضو همراه است. مکانیسم پیچیده این بیماری هنوز به‌طور کامل روشن نشده و منجر به ارزیابی و درمان ناکافی می‌شود. پیشگیری یا تشخیص در مراحل اولیه بیماری برای جلوگیری از شروع علائم و پیشرفت نوروپاتی، بسیار مهم است؛ بنابراین، هدف از این مطالعه، بررسی تجویز نوروبیون بر شاخص‌های قندخون، درد و حافظه مدل حیوانی نوروپاتی دیابتی القاشده با استرپتوزوسین در موش‌های سوری نر می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه، ۲۱ سر موش سوری نر به ۳ گروه ۷تایی تقسیم شدند. گروه اول (گروه کنترل) فقط سالین، گروه دوم (گروه دیابت) فقط استرپتوزوسین با دوز ۱۰۰ mg/kg به‌صورت داخل صفاقی و گروه سوم (گروه ویتامین B) استرپتوزوسین با دوز ۱۰۰ mg/kg و نوروبیون (B1/B6/B12) با دوز ۲ ml/kg به‌صورت زیر جلدی دریافت کردند. سپس از کیت گلوکومتر برای بررسی قندخون، از آزمون ماز بعلاوه مرتفع و آزمون تشخیص شیء جدید برای بررسی حافظه و آزمون فرمالین برای بررسی درد استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج ما نشان داد که تجویز ۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم نوروبیون (ویتامین B1/B6/B12) به موش‌های سوری نر دیابتی شده با استرپتوزوسین بر کاهش قندخون و حافظه شناختی آن‌ها تأثیری نداشته اما شاخص درد ($P < ۰/۰۰۱$) و حافظه اضطرابی ($P < ۰/۰۵$) را بهبود می‌بخشد.

نتیجه‌گیری: ویتامین‌های گروه B نقش مهمی را در فرایند بازسازی عصبی و عملکردهای شناختی ایفا می‌کنند. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده پیشنهاد می‌شود تا نوروبیون با داروهای مؤثر در بهبود نوروپاتی دیابتی به‌صورت هم‌زمان و با دوزهای مختلف تجویز شوند تا اثرات آن مورد بررسی قرار گیرد.

ارجاع: گلستانی عراقی نگین، قاسمی الهام، احمدلو زهرا، پژوهان سعید، غلامی معصومه، نوری میترا. بررسی اثر تجویز ویتامین B1/B6/B12 بر شاخص‌های قندخون، درد و حافظه مدل حیوانی نوروپاتی دیابتی القاشده با استرپتوزوسین در موش‌های سوری نر. *مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک* ۱۴۰۵؛ ۲۹ (۳): ۲۴۵- ۲۵۲.

مقدمه

امروزه دیابت در سطح جهان به یک اپیدمی تبدیل شده و شایع‌ترین عارضه این بیماری نوروپاتی محیطی دیابتی (Diabetic Peripheral Neuropathy) DPN است (۱). تظاهرات بالینی نوروپاتی شامل بی‌حسی، گزگز، درد یا ضعف بوده و بسته به رشته‌های عصبی درگیر، علائم بالینی متفاوت است (۲). اختلال حس در نوروپاتی دیابتی الگوی دستکش جورابی دارد یعنی ابتدا طولانی‌ترین آکسون های پا و سپس دست‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرند و از دست دادن حس به‌صورت آسیب پیش‌رونده دیستال به پروگزیمال پیشرفت می‌کند (۳، ۴). نوروپاتی در ابتدا موجب حساسیت بیش‌ازحد فرد به درد اولیه شده و سبب ناتوانی او می‌شود؛ با گذر زمان و پیشرفت بیماری، عدم حساسیت همراه با بهبود ضعیف زخم و عفونت می‌تواند منجر به ایجاد ضایعاتی در اندام‌ها شود که در شرایط شدید قطع عضو اندام ممکن است ضروری باشد (۴). گرچه علت دقیق نوروپاتی تا حد زیادی نامشخص است اما شواهد نشان می‌دهد که اختلال در تعادل متابولیک و فیزیولوژیک در محیط عصبی همراه با اثرات دیابت که مستقیماً بر عصب و همچنین عروق ریز تأمین‌کننده اعصاب تأثیر می‌گذارد، در ایجاد نوروپاتی نقش دارند (۵). همچنین هیپرگلیسمی مزمن و سطوح بالای گلوکز پلاسما باعث ایجاد ناهنجاری‌های متابولیکی شده و در طی مکانیسم‌های بیوشیمیایی ناکارآمد

منجر به آسیب عصبی می‌شود (۴). افزایش قند خون در بیماران دیابتی، سبب تولید بیشتر گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species) ROS و رادیکال‌های آزاد اکسیژن در بدن شده که به‌تبع آن استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شود (۶، ۷). اثرات متعدد تخریب کننده استرس اکسیداتیو بر بدن منجر به پیشرفت عوارض دیابت ازجمله نوروپاتی شده و همچنین اختلال در متابولیسم گلوکز، باعث کاهش حجم هیپوکامپ و تغییراتی در عروق ریز می‌شود که بر توانایی یادگیری، مسیرهای عصبی و تثبیت حافظه تأثیر می‌گذارد؛ به‌عبارت‌دیگر، به دلیل استرس اکسیداتیو محصولات نهایی گلیکاسیون، در مغز تغییراتی ایجاد می‌گردد که منجر به آپوپتوز در سلول و بافت می‌شود (۸، ۹). اکثر تحقیقات هیپرگلیسمی را به عنوان اولین نشانه این بیماری در نظر می‌گیرند و وضعیت نوروپاتی را در هر دو نوع دیابت (نوع ۱ و ۲) با کنترل قند خون بهبود می‌بخشند (۱۰). با وجود گزینه‌های درمانی متعدد برای نوروپاتی دیابتی، این بیماری همچنان یک مشکل بالینی است زیرا بسیاری از درمان‌ها یا برای موارد خاص مؤثر نیستند و یا باگذشت زمان اثربخشی آن‌ها کم می‌شود. همچنین بسیاری از درمان‌ها نیز به دلیل عوارض جانبی به‌خوبی تحمل نمی‌شوند (۱۱).

ویتامین‌های گروه B، دسته‌ای از ویتامین‌های محلول در آب هستند که به‌عنوان کوفاکتور در مسیرهای متابولیسم سلولی نقش دارند (۱۱). ویتامین‌های این گروه دائماً از اعضاب در برابر تأثیرات مخرب محیطی محافظت می‌کنند؛ به‌طور مثال، ویتامین B1 به عنوان یک آنتی‌اکسیدان موضعی عمل می‌کند، ویتامین B6 متابولیسم عصبی را متعادل می‌کند و ویتامین B12 غلاف‌های میلین را حفظ می‌کند. بااین‌حال، آسیب عصبی گاهی اوقات به دلیل عدم تعادل بین عوامل محافظتی، استرس و عوامل آسیب رساننده تجمعی رخ می‌دهد (۱۲). مصرف کافی ویتامین B برای رشد و سنتز اسید نوکلئیک در همه سلول‌ها ضروری بوده و ثابت شده است که کمبود ویتامین B1 (تیامین)، ویتامین B6 (پیریدوکسین) و ویتامین B12 (کوبالامین) می‌تواند باعث نوروپاتی شود (۱۱، ۱۳، ۱۴). این ویتامین‌ها به دلیل عملکردهای مهمشان در سیستم عصبی، ویتامین‌های «نوروتروپیک» نیز نامیده می‌شوند (۱۲). ویتامین B12 ممکن است اثربخشی نورآدرنالین و ۵-هیدروکسی تریپتامین را در سیستم مهاری نزولی درد افزایش دهد زیرا این ویتامین در مسیرهای ریشه‌های خلفی نخاع، انتقال حس‌های ارتعاش و لرزش و حس‌های عمقی نقش دارد و کمبود آن می‌تواند با نوروپاتی دیابتی همراه باشد (۱۳). دوز های بالای متیل کوبالامین با افزایش قابل‌توجه در میزان بازسازی فیبر عصبی- حرکتی همراه بوده که می‌تواند مکانیسمی برای اصلاح و درمان پاتوفیزیولوژی زمینه‌ای باشد به همین دلیل در برخی از کشورها از ویتامین B12 و کوآنزیم‌های آن برای درمان درد استفاده می‌شود (۱۳). ویتامین B6 نیز که در بسیاری از غذاها و مکمل‌های غذایی یافت می‌شود، به سه شکل طبیعی پیریدوکسین، پیریدوکسال و پیریدوکسامین وجود دارد (۱۴). ویتامین B6 یک کوفاکتور برای تقریباً ۱۵۰ واکنش است که متابولیسم گلوکز، لیپیدها، اسیدهای آمینه، DNA و انتقال‌دهنده‌های عصبی را تنظیم می‌کنند. علاوه بر این، با مقابله با تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته (Advanced Glycation End-Products) AGEs نقش آنتی‌اکسیدانی را ایفا می‌کند (۱۵). پیریدوکسین (B6)، مانند سیانوکوبالامین (B12) و فولات (B9)، برای تبدیل متیونین به سیستئین مهم است و از این‌رو برای عملکرد عصبی و بقای نورون‌ها ضروری است و مصرف کم یا زیاد B6 هر دو به عنوان عوامل خطر برای ابتلا به نوروپاتی محیطی (Peripheral Neuropathy) PN در نظر گرفته می شوند (۱۴). مطالعات اپیدمیولوژیک، ارتباط آشکاری را بین سطح ویتامین B6 و دیابت و همچنین اثر محافظتی ویتامین B6 را بر عوارض دیابت نشان داده‌اند (۱۵). ویتامین B1 (تیامین) به عنوان یک کوآنزیم در متابولیسم کربوهیدرات نقش کلیدی دارد و منبع اصلی انرژی برای فیبرهای عصبی است. تیامین پیروفسفات برای تغذیه پیروواتها به متابولیسم انرژی اکسیداتیو ضروری است و در نهایت منجر به تولید آدنوزین تری فسفات (Adenosine triphosphate) ATP می‌شود. علاوه بر این، مطالعات متعدد نشان می‌دهد که ویتامین B1 به عنوان یک آنتی‌اکسیدان موضعی عمل کرده و از اعصاب در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کند (۱۲).

با توجه به اینکه ویتامین‌های نوروتروپیک گروه B، تیامین (B1)، پیریدوکسین (B6) و کوبالامین (B12) از عوامل کلیدی هستند که به روش‌های مختلف، قابلیت حیات عصبی را حفظ می‌کنند؛ هدف از این مطالعه، بررسی اثرات ویتامین‌های گروه B با تجویز نوروبیون بر شاخص‌های درد و حافظه مدل حیوانی نوروپاتی دیابتی القاء شده با استرپتوزوسین (دیابت نوع یک) در موش‌های سوری نر است.

روش کار

در این مطالعه تجربی، ۲۱ سر موش سوری نر بالغ و جوان در محدوده سنی ۹-۱۰ هفته با وزن ۲۵-۳۰ گرم از دانشگاه اراک خریداری و در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی اراک با شرایط کنترل‌شده (دمای تقریبی ۲ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد و در دوره ۱۲ ساعت تاریکی/ روشنایی) و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. دو هفته پس از سازگاری حیوانات با محیط، استرپتوزوسین (STZ) که از شرکت سیگما آمریکا خریداری شده بود، به ۱۴ حیوان القا شد و ۷ موش دیگر در گروه کنترل قرار گرفتند. استرپتوزوسین ابتدا در سالین حل و به‌صورت داخل صفاقی به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش تزریق شد. سپس برای اطمینان از ایجاد دیابت، ۷۲ ساعت بعد از آخرین تزریق استرپتوزوتوسین، با استفاده از خون سیاهرگ دمی و به کمک کیت گلوکومتر، میزان قند خون حیوانات اندازه‌گیری شد تا میزان آن از ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بیشتر باشد. در صورت عدم وجود این مقدار، دوز یادآور به حیوانات تزریق می‌شد (۱۶). در نهایت حیواناتی که قند خون آن‌ها به بالای ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر رسید، به‌عنوان موش‌های دیابتی در نظر گرفته و به‌طور تصادفی به دو گروه ۷تایی تقسیم شدند. گروه کنترل فقط سالین دریافت کردند. بعد از گذشت یک ماه به دلیل هایپرگلایسمی مزمن، مدل نوروپاتی دیابتی در حیوانات ایجاد شد. برای تائید ایجاد نوروپاتی و تأثیر نوروبیون بر آن آزمون‌های رفتاری انجام شد. یک گروه از موش‌های دیابتی شده به مدت ۵ هفته به‌صورت ۳ روز یک‌بار، آمپول نوروبیون با دوز ۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم (یک میلی‌لیتر نوروبیون شامل ۳۳/۳ میلی‌گرم B1، ۳۳/۳ میلی‌گرم B6 و ۰/۳۳۳ میلی‌گرم B12) به‌صورت زیرجلدی (در پشت) دریافت کردند (۱۷). در طی این مدت قند خون حیوانات هر دو هفته یک‌بار اندازه‌گیری شد تا تغییرات بررسی شوند.

آزمون تشخیص شیء جدید (Novel Object Recognition Test)

آزمون تشخیص شئ جدید یک ارزیابی ساده و در عین حال پرکاربرد برای بررسی جنبه‌های مختلف یادگیری و حافظه در جوندگان است که در آن نیازی به هیچ انگیزهٔ خارجی، پاداش یا تنبیه نیست و تنها بر رفتار ذاتی جستجوگری جوندگان تکیه دارد. این آزمون با استفاده از جعبه (باکس) رو بازی که ابعاد آن ۵۰ × ۵۰ × ۵۰ و قابل تمیز کردن است، انجام شد. این آزمون، شامل سه مرحله است. در مرحله اول (مرحله سازش) سازگاری حیوان با محیط انجام می شود. ابتدا حیوان در باکس آزمون قرار می‌گرفت و به مدت ۱۰ دقیقه آزادانه و بدون وجود هیچ شیئی محوطهٔ آن را بررسی می کرد؛ سپس حیوان به قفس خود برگردانده می شد. ۲۴ ساعت پس از مرحله‌ی سازش، دو شئ کاملاً یکسان از نظر خصوصیات ظاهری (جنس، شکل، رنگ و بافت) در گوشه‌های مجاور و قرینهٔ باکس به فاصلهٔ ۱۰ سانتی‌متر از دیوار قرار داده می شوند. این دو شئ توسط حیوان قابل حمل و یا جابه‌جایی نیستند؛ سپس حیوان به مدت ۱۰ دقیقه در داخل باکس قرار می گرفت و به بررسی اشیاء می پرداخت (مرحله آموزش). برای پیشگیری از ایجاد اجبار به جستجوگری، حیوان در کنار دیوار سمت مقابل اشیاء در باکس قرار داده می شد و در آخر حیوان به قفس خود برگردانده می شد. ۲۴ ساعت پس از مرحله آموزش، یک شی جدید با خصوصیت ظاهری متفاوت را با یکی از اشیاء قدیمی جایگزین کرده و سپس حیوان را داخل جعبه، قرار داده شد تا به رفتار جستجوگرانه خود بپردازد (مرحله آزمون). کاوش یک شیء به عنوان زمانی تعریف می‌شد که طی آن حیوانات با اشیاء تعامل داشتند یا آن‌ها را با بینی خود در فاصله ۱ سانتی‌متری مورد بررسی قرار دادند. لازم به ذکر است، پس از هر آزمایش، به منظور جلوگیری از تأثیر محرک‌های بویایی بر رفتار حیوان، هم اشیا و هم جعبه توسط الکل ۷۰ درصد ضدعفونی می‌شد و برای سهولت و دقت مشاهدات، ثبت رفتار حیوان توسط دوربینی که در بالای باکس تعبیه شده بود، انجام شد (۱۸). برای این آزمون یک شاخص محاسبه شد: شاخص شئ جدید (Recognition index) RI: (نسبت زمان گذرانده شده برای بررسی شئ جدید به مجموع زمان گذرانده شده برای بررسی شئ جدید با شیء که قبلاً با آن آشنایی داشت.)

آزمون رفتاری (Elevated Plus Maze)

آزمون Elevated Plus Maze از بیزاری طبیعی موش ها نسبت به فضاهای باز و مرتفع استفاده می کند و به محققان امکان می دهد رفتار اکتشافی و حافظه آنها را در یک محیط کنترل شده ارزیابی کنند. این ماز به شکل بعلاوه بوده و با ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر از سطح زمین بر روی چهارپایه استوار است. دو تا از بازوها فاقد دیواره جانبی و انتهایی هستند (بازوهای باز: ۱۰×۵۰ سانتی‌متر) و دو بازوی دیگر دارای دو دیواره جانبی و یک دیواره انتهایی بوده ولی سقف آن باز است (بازوهای بسته ۴۰×۱۰×۵۰). در محل برخورد این چهار بازو یک صفحه مربع شکل به ابعاد ۱۰×۱۰ قرار دارد. هر حیوان به‌تنهایی در مرکز ماز به صورتی گذاشته می‌شود که صورت حیوان به سمت بازوی باز باشد و ۵ دقیقه در ماز به‌صورت آزاد حرکت کند. عبور هر چهار دست و پای حیوان از خط ورودی بازوها ورود محسوب می‌گردد (۱۹). تمام حرکات حیوان ازجمله تعداد دفعات ورود حیوان به بازوهای باز، بازوهای بسته و مجموع زمان صرف شده در بازوهای باز و همچنین مجموع زمان‌های صرف شده در بازوی بسته در مدت ۵ دقیقه فیلم‌برداری و محاسبه شد. پس از هر آزمون نیز دستگاه با الکل تمیز شد تا بو یا رد حیوان قبلی حذف شود. برای این آزمون نیز دو شاخص زیر ارزیابی شد: ۱- تعداد دفعات ورود به بازوی باز: (نسبت ورود به بازوی باز به مجموع ورود به بازوهای باز و بسته) ۲- درصد زمان حضور در بازوهای باز: (نسبت زمان صرف شده در بازوهای باز به مجموع زمان صرف شده در بازوهای باز و بسته ×۱۰۰)

آزمون فرمالین برای بررسی درد

آزمایش فرمالین به‌طور گسترده در تحقیقات درد استفاده می‌شود و برخی از مکانیسم‌های آن شبیه به مکانیسم‌های درد بالینی در انسان است. بلافاصله پس از تزریق، فرمالین دو موج (مرحله اولیه و مرحله نهایی) از رفتار قوی و دردزا را ایجاد می‌کند که با لیسیدن، گاز گرفتن، بلند کردن و تکان دادن پنجه تزریق‌شده حیوان مشخص می‌شود (۲۰). حدود ۳۰ دقیقه قبل از آزمون فرمالین، حیوانات به محل آزمایش آورده شدند تا با محیط تطابق پیدا کنند. سپس فرمالین (۲۰ میکرولیتر با غلظت ۱/۸۵٪) (سیگما، انگلستان) به صورت زیر جلدی به پنجه پای راست عقبی حیوان تزریق شد و بلافاصله در محفظه آزمایش، از جنس پلکسی گلاس با ابعاد ۳۰×۳۰×۴۰ متشکل از سه دیوار پوشیده و یک دیوار شفاف قرار داده شد. یک دوربین فیلم‌برداری با زاویه تقریبی ۳۰ درجه نسبت به سطحی که محفظه آزمایش روی آن قرارگرفته و ۵۰ سانتی‌متر دورتر از آن قرار داده شد، بنابراین تمام رفتارهای موش به‌راحتی برای تجزیه و تحلیل بعدی ثبت شد. پاسخ‌های رفتاری درد با استفاده از یک کرونومتر با محاسبه تعداد دفعات جمع‌کردن و لیسیدن پنجه پای تزریق‌شده، به کمک آینه‌ای که با زاویه ۴۵ درجه نسبت به سطح افق در زیر محفظه تعبیه‌شده بود، ثبت شدند. مرحله اول آزمایش به عنوان زمان بین صفر تا ۱۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین تعیین شد، درحالی‌که مرحله آخر (یا دوم) از ۱۵ دقیقه به بعد (تا ۴۵ دقیقه) بود. لنگیدن، تغییر حرکت یا نظافت سایر قسمت‌های بدن به عنوان رفتارهای درد محسوب نمی‌شد (۲۰).

آنالیز آماری

جهت آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار GraphPad Prism استفاده شد. با توجه به این‌که داده‌های حاصل دارای توزیع نرمال بودند با استفاده از (Shapiro–Wilk)، برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و برای مشاهده تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی (Tukey's post-hoc test) استفاده شد. تمامی داده‌ها، به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است. همچنین P< ۰/۰۵ ازنظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

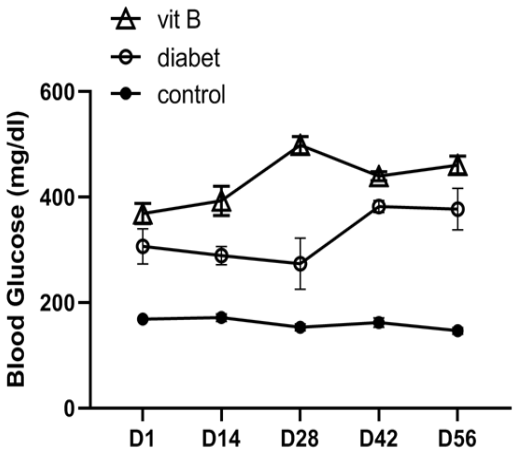
تمامی مراحل اجرای کار بعد از دریافت کد اخلاق با شناسه IR.ARAKMU.AEC.1404.011 از طرف کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اراک صورت گرفت.

یافته‌ها

بررسی اثر نوروبیون بر قندخون

در طی آزمایش، هر دو هفته یک‌بار قندخون حیوانات با کمک دستگاه قندخون اندازه‌گیری و ثبت شد تا روند تغییرات ارزیابی شود. آنالیز واریانس

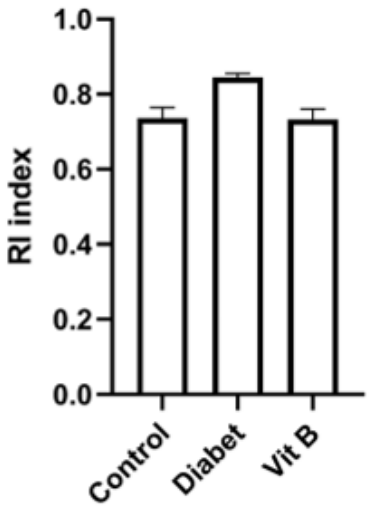
یک‌طرفه (One-way ANOVA) نشان داد که تزریق زیر جلدی نوروبیون بر روی کاهش قندخون تأثیری نداشته و روند آن تقریباً ثابت بوده است بنابراین نوروبیون به‌تنهایی نمی‌تواند قندخون حیوانات مبتلا به دیابت را کاهش دهد (شکل ۱).



شکل ۱. نمودار مقایسه نتایج تغییرات قندخون (گروه کنترل در مقایسه با گروه دیابت و گروه ویتامین ب)

بررسی اثر نوروبیون بر تشخیص شئ جدید

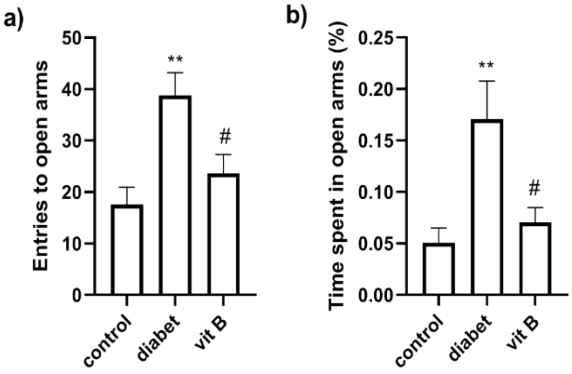
در طول آزمون، یک شیء جدید، جایگزین یکی از اشیاء قدیمی (آشنا) شد تا حافظه شناختی موش توسط شاخص شئ جدید (RI) مورد ارزیابی قرار گیرد. هر چه این شاخص از مقادیر بالاتری برخوردار باشند، حاکی از حافظه‌ی شناختی قابل قبول در موش است. آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) نشان داد که شاخص‌های RI در گروه دیابت و گروه ویتامین (ب) نسبت به گروه کنترل، تفاوت معناداری نداشته است بنابراین، درمان با نوروبیون تأثیری در حافظه شناختی ندارد.



شکل ۲. نمودار نتایج حافظه شناختی. شاخص RI ($P > ۰/۰۵$)

بررسی اثر نوروبیون بر آزمون (EPM)

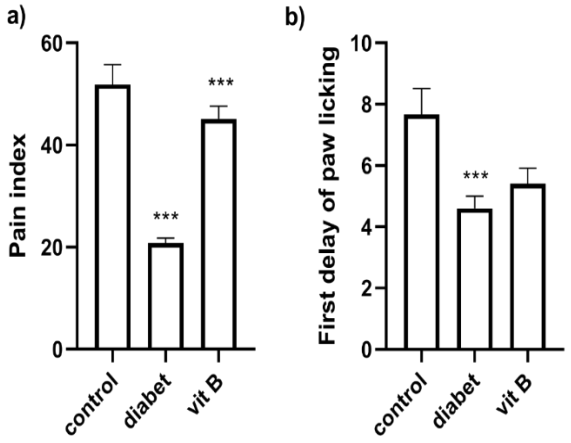
در این آزمون، افزایش زمان حضور در بازوهای باز و تعداد ورود به بازوهای باز معیار کاهش حافظه ا ضطرابی در نظر گرفته شد. محا سبات از طریق انجام روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) برای مقایسه گروه‌ها با گروه کنترل آن‌ها انجام شد. در گروه دیابت نسبت به گروه کنترل، تعداد دفعات ورود به بازوی باز (نمودار a) و درصد زمان حضور در بازوهای باز (نمودار b) به‌طور معناداری افزایش پیدا کرده است ($P < ۰/۰۱$) که بیانگر اختلال حافظه اضطرابی می‌باشد. از طرفی درمان با نوروبیون منجر به کاهش معنادار در هر دو پارامتر، در مقایسه با گروه دیابت شد ($P < ۰/۰۵$)؛ بنابراین، تجویز نوروبیون منجر به بهبود حافظه اضطرابی شد.



شکل ۳. نمودار نتایج حافظه اضطرابی. a) تعداد دفعات ورود به بازوی باز. **: ($P < ۰/۰۱$) و #: ($P < ۰/۰۵$) نسبت به گروه کنترل. b) درصد زمان حضور در بازوهای باز. **: ($P < ۰/۰۱$) و #: ($P < ۰/۰۵$) نسبت به گروه کنترل.

بررسی اثر نوروبیون بر تست فرمالین

محاسبات این آزمون از طریق انجام روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) برای مقایسه گروه‌ها با گروه کنترل انجام شد. در این آزمون، گروه دیابت کاهش معناداری در شاخص درد و اولین تأخیر در بروز پاسخ نسبت به گروه کنترل داشت. ($P < ۰/۰۰۱$). تجویز نوروبیون شاخص درد را افرایش داد ($P < ۰/۰۰۱$) ولی تأثیری بر اولین تأخیر در بروز پا سخ نسبت به گروه کنترل ندا شت؛ بنابراین درمان با نوروبیون تاحد زیادی می‌تواند درد ناشی از نوروپاتی دیابتی را بهبود ببخشد.



شکل ۴. نمودار نتایج آزمون فرمالین. a) شاخص درد. ***: ($P < ۰/۰۰۱$) نسبت به گروه کنترل. b) اولین تأخیر در بروز پاسخ. ***: ($P < ۰/۰۰۱$) نسبت به گروه کنترل.

بحث

ما در این مطالعه، تأثیر تجویز نوروبیون بر شاخص‌های قندخون، درد و حافظه مدل حیوانی نوروپاتی دیابتی القاشده با استرپتوزوسین را در موش‌های سوری نر مورد بررسی قراردادیم. نتایج ما نشان داد که تجویز نوروبیون بر کاهش قندخون و حافظه شناختی موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین تأثیری نداشته اما شاخص درد و حافظه اضطرابی را بهبود بخشید.

مطالعات متعدد روی حیوانات، شواهدی را برای نقش ویتامین‌های نوروتروپیک گروه B (B1، B6 و B12) در فرایند بازسازی عصب ارائه می‌دهند. Stracke و همکاران توانستند نشان دهند که ویتامین B1 از اعصاب محیطی در برابر آسیب ناشی از هایپرگلیسمی در موش‌های زنده، به‌ویژه هنگامی‌که در اوایل دوره دیابت تجویز شود، محافظت می‌کند. آن‌ها به‌طور دقیق نشان دادند که سرعت هدایت عصبی در موش‌های دیابتی تحت درمان با ویتامین B1 پس از سه ماه تجویز، در مقایسه با گروه کنترل دیابتی درمان‌نشده، به‌طور قابل‌توجهی افزایش‌یافته است که به کاهش تشکیل محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته (AGEs) نسبت داده شد (۲۱). علاوه بر این، Song و همکاران دریافتند که ویتامین B1 پس از فشرده‌سازی مزمن ریشه‌های پشتی، تحریک‌پذیری عصبی نورون‌های موش صحرایی را به‌طور مثبت تحت تأثیر قرار می‌دهد، یعنی منجر به بهبود انتقال سیگنال و درعین‌حال کاهش تحریک‌پذیری بیش‌ازحد می‌شود که نشان‌دهنده یک اثر ترمیمی است (۲۲).

ویتامین B6 (پیریدوکسین) برای متابولیسم اسیدآمینه ضروری است. ازاین‌رو، ویتامین B6 متابولیسم انتقال‌دهنده‌های عصبی (مانند GABA و سروتونین) را که برای انتقال سیگنال در سیستم عصبی ضروری هستند، تضمین می‌کند و با آزادسازی گلوتامات مرتبط است. ویتامین B6 ممکن است با سرکوب ورود Ca^{2+} وابسته به ولتاژ پیش سیناپسی و فعالیت پروتئین کیناز C، آزادسازی گلوتامات را مهار کند (۲۳). علاوه بر این، ویتامین B6 می‌تواند با افزایش سنتز GABA فعالیت نورون‌های گلوتاماترژیک تحریکی را متعادل کند (۲۴). همچنین برای سنتز اسفنگولیپیدها که از اجزای ضروری غلاف میلین هستند، موردنیاز است (۲۵).

طبق چندین مطالعه شواهد قوی برای عملکرد بازسازی عصبی ویتامین B12 (کوبالامین) وجود دارد. به‌عنوان‌مثال، آزمایش‌ها روی موش‌ها نشان داد که این ویتامین تشکیل میلین را افزایش داده و پاسخ‌های تخریب والری را کاهش می‌دهد (۲۶) و مشابه ویتامین B1 و B6، اعتقاد بر این است که دارای اثر محافظت عصبی نیز هستند (۲۷). کوبالامین برای چرخه متیونین وابسته به فولات ضروری است. اگر مقدار B12 کافی نباشد، نه‌تنها پروتئین‌های مهم (به‌عنوان‌مثال پروتئین‌پایه میلین) نمی‌توانند تولید شوند، بلکه هموسیستئین نیز تجمع می‌یابد و استرس اکسیداتیو و آسیب را افزایش می‌دهد (۲۶, ۲۷). این امر ممکن است دژنراسیون والرین را تشدید کرده و پیشرفت بازسازی را به تأخیر انداخته یا حتی از آن جلوگیری کند. درحالی‌که نقش مهم ویتامین B12 در بازسازی آکسون به دلیل تثبیت میکروتوبول‌ها تنها در چندین بیماری سیستم عصبی مرکزی (CNS) نشان داده شده است، اثر دیگری، یعنی سطح استرس شبکه آندوپلاسمی (ER) نیز احتمالاً برای سیستم عصبی محیطی (PNS) تعیین‌کننده است (۲۸، ۲۹). به‌ویژه در مورد آسیب عصبی همراه با التهاب، استرس ER افزایش می‌یابد و از سطوح خود- محافظتی فراتر می‌رود و منجر به مرگ نورونی می‌شود (۲۸، ۲۹). یوان و همکارانش با استفاده از ویتامین B12 برای بازسازی عصب در موش‌ها پس از آسیب عصب سیاتیک، نشان دادند که این ویتامین نه‌تنها به‌طور قابل‌توجهی بهبود عملکرد را افزایش می‌دهد، بلکه تعداد فیبرهای میلین‌دار، قطر فیبرها و آکسون‌های میلین‌دار و تعداد تیغه‌ها را نیز افزایش می‌دهد (۳۰).

کمبود ویتامین B12 ناشی از عللی همچون رژیم گیاهخواری مطلق، سندرم‌های سوء جذب معده، بیماری‌های گوارشی و یا داروها سبب ایجاد نوعی میلوپاتی می‌شود که تحت عنوان دژنراسیون مرکب تحت حاد (Subacute combined degeneration) شناخته شده است. علاوه بر این کمبود فولات هم می‌تواند نوعی میلوپاتی ایجاد کند که امروزه به دلیل غنی‌سازی رژیم غذایی با فولات به‌ندرت دیده می‌شود. این میلوپاتی با علائمی همچون پارستزی (Paresthesia) و گزگز در دست‌ها و پاها، از دست دادن حس موقعیت و ارتعاش و ضعف اسپاستیک و آتاکسیک پیش‌رونده اندام‌ها بروز می‌کند. آتروفی عصب اپتیک و تحریک‌پذیری یا سایر علائم شناختی نیز ممکن است در موارد پیشرفته بروز کند. دژنراسیون مرکب تحت حاد بیشتر به‌صورت منتشر است تا کانونی و علائم عموماً به‌صورت قرینه هستند و نشان‌دهنده درگیری مسیرهای خلفی و جانبی ریشه‌های نخاع در سیستم عصبی می‌باشد. تشخیص این بیماری با یافتن گلبول‌های قرمز ماکروسیتیک، غلظت پایین B12 سرم و افزایش سطح سرمی متیل مالونیک اسید و هیپرهموسیستئینمی تائید می‌شود (۳۱).

سطوح بالای هموسیستئین کل در گردش خون بیماران مبتلابه اختلالات نورودژنراتیو و دمانس ناشی از آلزایمر شناسایی‌شده است. در مطالعه‌ای مکمل همزمان فولات و ویتامین B12 تولید بیش‌ازحد بتاآمیلوئید ناشی از هیپرهموسیستئینمی و نقص حافظه را کاهش داده که نشان از تأثیر این گروه از ویتامین‌ها در بهبود اختلالات شناختی دارد (۳۲).

امروزه دریافت مقدار متوسطی از ویتامین‌های گروه B از طریق رژیم غذایی و یا با مصرف مکمل‌های برای پیشگیری از اختلالات و بیماری‌های عصبی سال‌ها است که پذیرفته‌شده است. باوجوداین، شواهدی هم وجود

دارد، که مصرف بیش‌ازاندازه مکمل‌های حاوی ویتامین‌های گروه B دارای اثرات جانبی مضر بر تکامل سیستم عصبی دارد. در این مطالعه ما تأثیر مصرف دوز ۳۳/۳ میلی‌گرم B1، ۳۳/۳ میلی‌گرم B6 و ۰/۳۳۳ میلی‌گرم B12 را بر حافظه شناختی، حافظه اضطرابی، آزمون درد و شاخص قندخون مورد بررسی قرار دادیم. نتایج ما نشان داد که تجویز این مقدار بر کاهش قندخون و حافظه شناختی تأثیری نداشته اما شاخص درد ($P < ۰/۰۰۱$) و حافظه اضطرابی ($P < ۰/۰۵$) را بهبود می‌بخشد.

نتیجه‌گیری

همان‌طور که گفته شـــد ویتامین‌های گروه B نقش مهمی را در فرایند بازسازی عصبی و عملکردهای شناختی ایفا می‌کند. با توجه به اینکه کمبود ویتامین B12 یک علت قابل‌درمان برای میلوپاتی و اختلالات حسی است که با تشخیص زودهنگام آن می‌توان از آسیب عصبی دائمی پیشگیری کرد و طبق نتایج به دســـت آمده از مقالات و تأثیر مثبت نوروبیون بر بهبود حافظه اضطرابی و شاخص درد، پیشنهاد می شود تا نوروبیون با داروهای مؤثر در بهبود نوروپاتی دیابتی به‌صـورت هم‌زمان تجویز شـوند تا اثرات آن مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاصل با همکاری دانشگاه اراک انجام شده است. از تمامی افرادی که در انجام آن ما را یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌نماییم.

سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان در تمامی قسمت‌های مقاله نقش داشتند.

تضاد منافع

منفعت یا سود مالی شخصی از بابت انتشار این مقاله برای نویسندگان مقاله وجود ندارد.

References

1. Khan S, Ahmad S, Khan M, Lohani M, Khan MS, Haneef M. Diabetic peripheral neuropathy: navigating controversies and pioneering advances. Adv Life Sci. 2025;12(1): 1-12.
2. Castelli G, Desai KM, Cantone RE. Peripheral neuropathy: evaluation and differential diagnosis. Am Fam Physician. 2020;102(12):732-9. **pmid**: 33320513
3. Yaşar H, Çifci A. Current approach to diabetic polyneuropathy: current diagnosis and treatment. Intercont J Int Med. 2023;1(3):66-70.
4. O'Brien PD ,Sakowski SA, Feldman EL. Mouse models of diabetic neuropathy. ILAR J. 2014;54(3):259-72. **pmid**: 24615439 **doi:** 10.1093/ilar/ilt052
5. Gonçalves NP, Vægter CB, Andersen H, Østergaard L, Calcutt NA, Jensen TS. Schwann cell interactions with axons and microvessels in diabetic neuropathy. Nat Rev Neurol. 2017;13(3):135-47.**doi:** 10.1038/nrneurol.2016.201
6. Newsholme P, Cruzat VF, Keane KN, Carlessi R, de Bittencourt Jr PIH. Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes. Biochem J 2016;473(24):4527-50. **pmid**: 27941030 **doi:** 10.1042/BCJ20160503C
7. Furukawa S, Fujita T ,Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. J Clin Invest. 2017;114(12):1752-61. **pmid**: 15599400 **doi:** 10.1172/JCI21625
8. Noor A, Zahid S. Alterations in adult hippocampal neurogenesis ,aberrant protein s-nitrosylation, and associated spatial memory loss in streptozotocin-induced diabetes mellitus type 2 mice. Iran J Basic Med Sci. 2017;20(10):1159-65. **pmid**: 29147492 **doi:** 10.22038/IJBMS.2017.9366
9. Nowotny K, Jung T, Höhn A, Weber D, Grune T. Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. Biomolecules. 2015;5(1):194-222. **pmid**: 25786107 **doi:** 10.3390/biom5010194
10. Calcutt NA. Diabetic neuropathy and neuropathic pain: a (con) fusion of pathogenic mechanisms? Pain. 2020;161(Suppl 1):S65-S86. **pmid**: 32999525 **doi:** 10.1097/j.pain.0000000000001922
11. Karaganis S, Song XJ. B vitamins as a treatment for diabetic pain and neuropathy. J Clin Pharm Ther. 2021;46(5):1199-212. **pmid**: 33565138 **doi:** 10.1111/jcpt.13375
12. Baltrusch S. The role of neurotropic B vitamins in nerve regeneration. Biomed Res Int. 2021;2021(1):9968228. **pmid**: 34337067 **doi:** 10.1155/2021/9968228
13. Jayabalan B, Low LL. Vitamin B supplementation for diabetic peripheral neuropathy. Singapore Med J. 2016;57(2):55-9. **pmid**: 26892473 **doi:** 10.11622/smedj.2016027.
14. Muhamad R, Akrivaki A, Papagiannopoulou G, Zavridis P, Zis P. The role of vitamin B6 in peripheral neuropathy: a systematic review. Nutrients. 2023;15(13):2823. **pmid**: 37447150 **doi:** 10.3390/nu15132823
15. Mascolo E, Vernì F. Vitamin B6 and diabetes: relationship and molecular mechanisms. Int J Mol Sci. 2020;21(10):3669. **pmid**: 32456137 **doi:** 10.3390/ijms21103669
16. Ito M, Kondo Y, Nakatani A, Hayashi K, Naruse A. Characterization of low dose streptozotocin-induced progressive diabetes in mice. Environ Toxicol Pharmacol. 2001;9(3):71-8. **pmid**: 11167151 **doi:** 10.1016/s1382-6689(00)00064-8
17. Dimpfel W, Spüler M, Bonke D. Influence of repeated vitamin B administration on the frequency pattern analysed from rat brain electrical activity (Tele-Stereo-EEG). Klin Wochenschr. 1990;68(2):136-41. **pmid**: 2157086 **doi:** 10.1007/BF01646862
18. Lueptow LM. Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice. J Vis Exp. 2017(126):55718. **pmid**: 28892027 **doi:** 10.3791/55718
19. Pellow S, File SE. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. Pharmacol Biochem Behav. 1986;24(3):525-9. **pmid**: 2871560 **doi:** 10.1016/0091-3057(86)90552-6
20. Lopes DM, Cater HL, Thakur M, Wells S, McMahon SB. A refinement to the formalin test in mice. F1000Res. 2019;8:891. **pmid**: 31489182 **doi:** 10.12688/f1000research.18338.
21. Stracke H, Hammes H, Werkmann D, Mavrakis K, Bitsch I, Netzel M, et al. Efficacy of benfotiamine versus thiamine on function and glycation products of peripheral nerves in diabetic rats. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2001;109(06):330-6. **pmid**: 11571671 **doi:** 10.1055/s-2001-17399
22. Song X-S, Huang Z-J, Song X-J. Thiamine suppresses thermal hyperalgesia, inhibits hyperexcitability, and lessens

alterations of sodium currents in injured, dorsal root ganglion neurons in rats. Anesthesiology. 2009;110(2):387-400. **pmid**: 19194165 **doi:** 10.1097/ALN.0b013e3181942f1e
23. Yang T-T, Wang S-J. Pyridoxine inhibits depolarization-evoked glutamate release in nerve terminals from rat cerebral cortex: a possible neuroprotective mechanism? J Pharmacol Exp Ther. 2009;331(1):244-54. **pmid**: 19628631 **doi:** 10.1124/jpet.109.155176
24. Dakshinamurti K, Dakshinamurti S, Czubryt M. Vitamin B6: effects of deficiency, and metabolic and therapeutic functions. Handbook of Famine, Starvation, and Nutrient Deprivation. 2017. P. 1-23.
25. Combs Jr GF, McClung JP. The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health. Academic press; 2016.
26. Liao W-C, Chen J-R, Wang Y-J, Tseng G-F. Methylcobalamin, but not methylprednisolone or pleiotrophin, accelerates the recovery of rat biceps after ulnar to musculocutaneous nerve transfer. Neuroscience. 2010;171(3):934-49. **pmid**: 20884334 **doi:** 10.1016/j.neuroscience.2010.09.036
27. Tamaddonfard E, Farshid A, Samadi F, Eghdami K. Effect of vitamin B12 on functional recovery and histopathologic changes of tibial nerve-crushed rats. Drug Res (Stuttg). 2014;64(09):470-5. **pmid**: 24470311 **doi:** 10.1055/s-0033-1363219
28. Wu F ,Xu K, Liu L, Zhang K, Xia L, Zhang M, et al. Vitamin B12 enhances nerve repair and improves functional recovery after traumatic brain injury by inhibiting ER stress-induced neuron injury. Front Pharmacol. 2019;10:437087. **pmid**: 31105562 **doi:** 10.3389/fphar.2019.00406
29. Nouri A, Patel K ,Montejo J, Nasser R, Gimbel DA, Sciubba DM, et al. The role of vitamin B12 in the management and optimization of treatment in patients with degenerative cervical myelopathy. Global Spine J. 2019;9(3):331-7. **pmid**: 31192102 **doi:** 10.1177/2192568218758633
30. Yuan Y, Shen H, Yao J, Hu N, Ding F, Gu X. The protective effects of Achyranthes bidentata polypeptides in an experimental model of mouse sciatic nerve crush injury. Global Spine J. 2010;81(1):25-32. **pmid**: 31192102 **doi:** 10.1177/2192568218758633
31. Loscalzo J, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson J. Harrison's principles of internal medicine. McGaw Hill; 2022.
32. Nassiri-Asl M, Sarookhani M-R, Abbasi E, Zangivand A-A, Shakiba E, Sedighi A, et al. The effects of pre-treatment with vitamin B6 on memory retrieval in rats. Food chemistry. 2012;132(2):1046-8. **doi:**10.1016/j.foodchem.2011.11.095