Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 22, No. 4, Sep-Oct 2014
Pages: 1379-1386

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۲، شماره ۴، مهر و آبان ۱۳۹۳
صفحه: ۱۳۸۶-۱۳۷۹

اثر تجویز داخل نخاعی ویتامین K2 بر ادم التهابی پای موش صحرایی، القاء شده با فرمالین

فاطمه حجی‌پور[۱]، مسعود فریدونی[*۲]، علی مقیمی[۳]

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۳- استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۲۵ تاریخ پذیرش:۱۳۹۳/۴/۱۹

چکیده

مقدمه: یکی از مشتقات ویتامین K که توسط باکتری‌های روده‌ای سنتز می‌شود، ویتامین K2 است. در مطالعات بسیاری، حضور غلظت‌های زیاد این ویتامین در مغز و عملکردهای مهم آن به اثبات رسیده است. ویتامین K2 قادر است تولید بسیاری از میانجی‌های التهابی را در بیماری‌های گوناگون مهارکند. این مطالعه به بررسی اثر ویتامین K2 در نخاع، در ادم التهابی القاء شده توسط فرمالین در پا می‌پردازد.

روش بررسی: در این مطالعه پژوهشی، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (۲۵۰g- ۲۰۰) به جزء گروه کنترل، پس از گذراندن دوران بهبودی جراحی کانول‌گذاری جهت تجویز نخاعی (Intrathecal- i.t.)، در چهار گروه شم (DMSO) و ویتامین K2 با غلظت‌های ۲، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم در ۱۰ میکرولیتر قرار گرفتند. در هر گروه حجم ادم التهابی ناشی از تزریق ۰/۰۵ ml فرمالین ۲/۵٪ به کف پای حیوانات پس از یک ساعت به روش پلتیسمومتری سنجیده شد.

نتایج: تجویز نخاعی ویتامین K2 منجر به کاهش معنی‌داری در حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین گردید ($p<۰/۰۱$). به علاوه کمترین غلظت از ویتامین K2 (۲μg/۱۰μl) نسبت به سایر غلظت‌ها حجم ادم التهابی القاء شده با فرمالین را به میزان بیشتری کاهش داد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: ویتامین K2 احتمالاً با کاهش و گاهی ممانعت از فعالیت سیکلواکسیژنازها و سنتز پروستاگلاندین‌ها، کاهش رادیکال‌های آزاد مانند ROS، موادی همچون NO و به دنبال آن کاهش رهاسازی میانجی‌های مولد و پیش‌برنده التهاب در نخاع و متعاقباً محیط موجب کاهش حجم ادم التهابی القاء شده توسط فرمالین می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: ویتامین K2، تجویز نخاعی، التهاب، ادم، پلتیسمومتری

[*](نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۵۵۲۴۲۰۱۵؛ پست الکترونیکی: fereidoni@um.ac.ir

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-11-02]

مقدمه

التهاب بخشی از پاسخ‌های بیولوژیکی بافت‌ها به محرک‌های آزارنده و سلول‌های آسیب دیده می‌باشد و فرآیندی است که طی آن ارگانیسم تلاش می‌کند تا محرک‌های آسیب‌رسان را حذف کرده و واکنش‌های بهبودی را آغاز نماید و یکی از پاسخ‌های سیستم ایمنی ذاتی است که در برابر طیف وسیعی از عوامل مخرب ایجاد می‌گردد(۱،۲). التهاب عصبی واکنشی است که در آن مغز به عفونت‌ها، بیماری‌ها و بسیاری از آسیب‌های مخرب پاسخ می‌دهد. دو گروه از سلول‌های ایمنی در واکنش‌های التهاب عصبی درگیر هستند، گروه اول شامل: لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و ماکروفاژها در سیستم خونی و گروه دوم شامل میکروگلیاها و آستروسیت‌ها در سیستم عصبی مرکزی (CNS) می‌باشد(۳،۴). شواهد نشان می‌دهد که التهاب مغزی در بسیاری از بیماری‌ها مانند آلزایمر، پارکینسون، افسردگی، صرع، هانتینگتون، مالتیپل اسکلروزیس و سایر بیماری‌های نورودژنراتیو نیز وجود دارد(۵). اگرچه امروزه با داروهای متنوع شیمیایی گام‌های مؤثری در کاهش میزان التهاب و درمان بسیاری از این دست بیماری‌ها برداشته شده است اما عوارض شدید این داروها نیز اجتناب ناپذیر است. از این جهت تحقیقات جدید به دنبال یافتن راهی برای درمان با کمترین عوارض ممکن می‌باشد که در این میان ویتامین‌ها جایگاه قابل توجهی را به خود اختصاص می‌دهند.

ویتامین K2 یا Menaquinone-4 که به اختصار به صورت MK-4 نیز نمایش داده می‌شود از خانواده ویتامین K و محلول در چربی است که در نتیجه عمل باکتری‌ها در روده سنتز می‌گردد. تمام اعضای خانواده ویتامین K از به اشتراک گذاشتن یک حلقه نفتوکوئینون متیله شده و زنجیره‌های جانبی آلیفاتیک متفاوت که منشأ انواع مختلف این ویتامین می‌باشند، تشکیل شده‌اند(۶،۷). تحقیقات اخیر حاکی از تأثیر این ویتامین در بهبود بیماری‌هایی همچون آلزایمر(۸)، مالتیپل اسکلروزیس(۹) می‌باشند. همچنین اثرات ضددردی این ویتامین در افراد مبتلا به پوکی استخوان(۱۰) و در برخی از انواع سرطان‌ها(۱۱) نیز مشخص شده است. از طرفی مطالعات گوناگون انجام شده نشان داد که مصرف حتی بالاترین دوزهای ویتامین K2 هیچگونه عوارضی ندارند(۶). همچنین ویتامین K2 اثراتی بر مسیرهای بیوسنتز فاکتورهای پیش‌برنده التهابی نیز نشان داده است و در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید میزان درد و التهاب مفاصل با مصرف این ویتامین به میزان چشمگیری کاهش یافته است(۱۲). از آنجایی که حداقل بخشی از التهاب موسوم به التهاب نوروژنیک در اثر تحریکات شیمیایی، زمانی رخ می‌دهد که گیرنده‌های درد در پاسخ به مواد آزاد شده از بافت ملتهب و آسیب دیده تحریک می‌شوند(۲) و این مواد شامل طیف وسیعی از مولکول‌های انتقال پیام مانند میانجی‌های عصبی، پپتیدهایی همچون ماده P، CGRP: Calcitonin Gene-Related Peptide، عوامل رشد عصبی، ایکوزانوئیدها و عواملی همچون پروستاگلاندین‌ها، ترومبوکسان‌ها، لوکوترین‌ها، اندوکانابینوئیدها، نوتروفین‌ها، سیتوکاین‌ها و کموکاین‌ها هستند که به طور همزمان در سیستم عصبی مرکزی و در شاخ پشتی نخاع نیز آزاد می‌شوند(۱۳). آزاد سازی محیطی این مواد منجر به اتساع عروق و خروج پروتئین‌های پلاسما می‌گردد و باعث بروز این التهاب نوروژنیک می‌شود(۱۴). از آنجایی که فواید ویتامین‌های مختلف و خصوصاً ویتامین K در ممانعت از بروز بسیاری از بیماری‌ها و یا کاهش شدت آنها به روشنی ثابت شده است نقش آن در کاهش واکنش‌های التهابی که به دلیل بسیاری از این بیماری‌ها ایجاد می‌شود، انکارناپذیر است. لذا با توجه به مشکلات درمان التهاب، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات ویتامین K2 در سطح نخاع بر ادم التهابی القاء شده در پای موش صحرایی توسط تزریق کف پایی فرمالین انجام شده است. بدین جهت از روش پلتیسمومتری برای اندازه‌گیری حجم ادم التهابی القاء شده با تزریق فرمالین در پنجه پای حیوان استفاده شده است.

روش بررسی

در این پژوهش از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با سن تقریبی ۲/۵ ماه و وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-11-02]

تمامی حیوانات در شرایط محیطی کنترل شده ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و به دور از هرگونه آلودگی صوتی در قفس‌های مخصوصی از جنس پلکسی گلاس در گروه‌های ۵ تا ۶ تایی نگهداری شدند. موش‌های صحرایی در تمام مدت به جز زمان انجام آزمایش‌ها به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند و چند روز قبل از انجام آزمایش‌ها برای تطابق با محیط روزانه چند ساعت در فضای آزمایشگاه قرار گرفتند. تمام آزمایش‌ها برای یکنواخت‌سازی اثر ریتم‌های سیرکادین در پاسخ‌های حیوانات بین ساعت ۱۰ صبح تا ۲ بعدازظهر انجام گردید. تمامی مراحل تکثیر و پرورش حیوانات در حیوانخانه و انجام آزمایش‌ها در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی جانوری گروه زیست‌شناسی دانشگاه فردوسی و مطابق با دستورالعمل‌های اخلاقی در خصوص کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت(۱۵). در این پژوهش از پودر ویتامین K2 (محصول شرکت Sargent-Welch) و DMSO به عنوان حلال این ویتامین استفاده گردید. جهت انجام آزمایش‌ها حیوانات به طور تصادفی به پنج گروه هفت‌تایی شامل گروه شم دریافت‌کننده DMSO و سه گروه دریافت‌کننده ویتامین K2 با غلظت‌های ۲µg/۱۰µl، ۱۰µg/۱۰µl و ۲۰µg/۱۰µl تقسیم شدند. همچنین به منظور اطمینان از عدم تأثیر عمل جراحی جهت تجویزهای نخاعی بر نتایج آزمایش‌ها، یک گروه از موش‌های صحرایی به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد که در آن، حیوانات مورد انجام عمل جراحی کانول‌گذاری و دریافت هیچ دارویی قرار نگرفتند. جهت تجویز نخاعی، کانول‌گذاری در فضای تحت عنکبوتیه بر اساس روش Yaksh & Rudy انجام گردید(۱۶). در این روش ابتدا حیوانات توسط تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰mg/kg) و زایلوزین (۲۰mg/kg) بی‌هوش شد. پس از این که موهای پشت سر حیوان تراشیده شد، سر موش در دستگاه استرئوتاکس ثابت گردید و در فاصله بین گوش‌ها و به طرف پایین برشی به اندازه ۲ سانتیمتر ایجاد گردید. با باز شدن برش عضلات گردنی به آرامی کنار زده شدند تا جایی که غشاء اطلس- اکسی‌پیتیال نمایان گردید. آنگاه با ایجاد خراشی بر روی این غشاء، مایع مغزی- نخاعی خارج شد که نشان‌دهنده دستیابی به فضای تحت عنکبوتیه بود. سپس کانول پلی‌اتیلنی (PE-10) به طول ۱۱ سانتیمتر به فضای تحت عنکبوتیه فرو برده شد به طوری که ۳ سانتیمتر از آن جهت تجویزها، خارج از نخاع باقی ماند و فقط ۸ سانتیمتر آن وارد گردید. در این حالت انتهای کانول بین قطعات کمری ۴ و ۵ قرار گرفت. پس از یک دوره ۵ تا ۷ روزه بهبودی، فقط حیواناتی مورد آزمایش قرار گرفتند که هیچگونه نقص حرکتی نداشتند. داروها با حجم ۱۰ میکرولیتر و به کمک سرنگ هامیلتون ۵۰ میکرولیتری و لوله رابط تجویز شدند.

برای اندازه‌گیری حجم ادم ناشی از التهاب القاء شده توسط تزریق کف پایی فرمالین از روش پلتیسمومتری که اولین بار توسط Fereidoni و همکاران ارائه شد، استفاده گردید(۱۷). در این روش تفاضل حجم اولیه و ثانویه پا، قبل و یک ساعت پس از تزریق کف پایی ۰/۰۵ ml فرمالین ۲/۵٪ جهت القای التهاب به کف پای عقبی سمت چپ حیوان، نشان‌دهنده حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین بود.

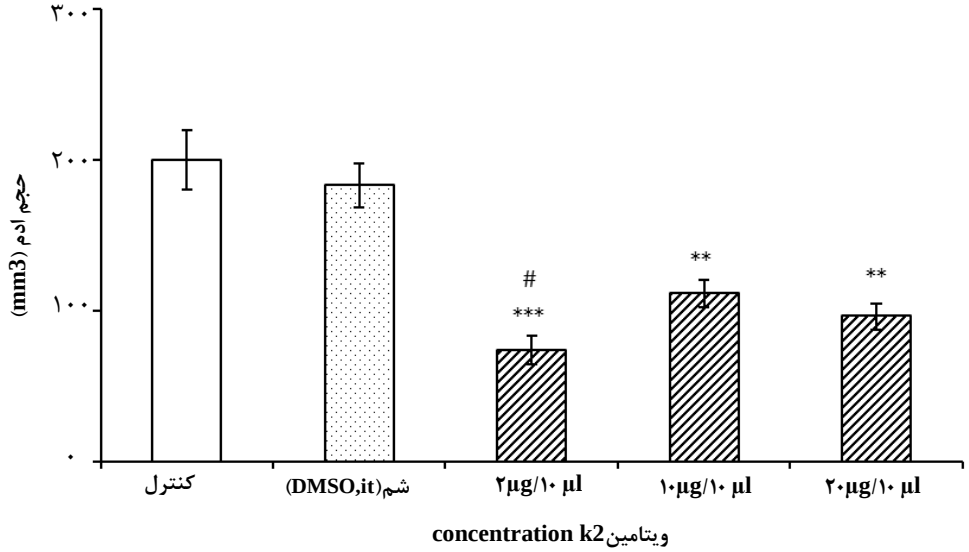
معنی‌داری تفاوت بین میانگین‌ها به کمک آزمون ANOVA یک طرفه و با استفاده از نرم‌افزار آماری GraphPad Prism 5 مقایسه میانگین‌ها با آزمون T- Student–Newman–Keuls صورت گرفت. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

مقایسه حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین در دو گروه کنترل (بدون تیمار) و شم (دریافت کننده حلال DMSO) حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار در حجم ادم التهابی بین این دو گروه بود، که این مسئله بیانگر این بود که عمل جراحی به منظور انجام تجویز نخاعی در ادامه روند آزمایش بی‌تأثیر است. همچنین نتایج به دست آمده نشان داد که حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین در سه گروه دریافت‌کننده غلظت‌های ۲µg/۱۰µl و ۱۰µg/۱۰µl و ۲۰µg/۱۰µl ویتامین K2 نسبت به گروه شم (دریافت‌کننده حلال DMSO) کاهش معنی‌داری یافت ($p<0/01$). از طرفی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-11-02]

تجویز نخاعی غلظت ۲μg/۱۰μl از ویتامین K2 در مقایسه با سایر گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین K2 منجر به کاهش معنی‌دار بیشتری در حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین گردید (p<۰/۰۵)، (نمودار ۱).



نمودار ۱: مقایسه حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین در گروه کنترل، گروه شم (DMSO) و گروه‌های دریافت‌کننده غلظت‌های مختلف ویتامین K2 (۲، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم در ۱۰ میکرولیتر).
(***p<۰/۰۰۱ و **p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه شم و #p<۰/۰۵ در مقایسه با سایر گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین K2). داده‌ها به صورت میانگین± انحراف استاندارد ارائه شده‌اند (n=۷).

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تجویز نخاعی ویتامین K2 قادر است حجم ادم التهابی ناشی از تزریق فرمالین به کف پا در موش صحرایی را به طور معنی‌داری کاهش دهد. با توجه به اینکه حجم ادم التهابی القاء شده توسط فرمالین حدود یک ساعت پس از تزریق فرمالین به کف پای حیوان ارزیابی گردید، می‌توان تصور کرد که احتمالاً روند آزاد سازی میانجی‌های التهابی در طول این مدت کاهش یافته است(۱۸). همچنین یافته‌ها حاکی از آن بود که تجویز نخاعی کمترین غلظت ویتامین K2 (۲μg/۱۰μl) بیشترین تأثیر بر کاهش حجم ادم التهابی القاء شده با فرمالین را در مقایسه با سایر غلظت‌های تجویز شده ویتامین K2 داشته است.

بررسی‌های پیشین نشان می‌دهد که با آسیب بافت، سلول‌های خونی مانند بازوفیل‌ها، ماست سل‌ها و پلاکت‌ها، در محل آسیب میانجی‌های التهابی همچون هیستامین، نیتریک اکساید، اینترلوکین۱- آلفا، ۱- بتا و ... ترشح می‌کنند. همچنین پروتئین‌های پپتیدی التهابی با اثر کوتاه مدت مانند ماده P و CGRP نیز ترشح می‌شوند. سلول‌های سیستم ایمنی نیز مواد شیمیایی التهابی همچون سیتوکاین‌ها را ترشح می‌کنند که منجر به جذب و فعال شدن دیگر سلول‌ها می‌گردد و در نواحی آسیب دیده و متعاقباً در نخاع آنزیم‌هایی مانند سیکلواکسیژنازها (COX)، تولید میانجی‌های پیش‌برنده التهاب خصوصاً پروستاگلاندین‌ها را افزایش می‌دهند(۱۹).

از آنجایی که فواید انواع ویتامین‌ها در ممانعت از بروز بیماری‌ها و یا کاهش شدت آنها به روشنی ثابت شده است؛ در واکنش‌های التهابی نیز که در بسیاری از بیماری‌ها خصوصاً بیماری‌های نورودژنراتیو ایجاد می‌شود نیز نقش آنها انکارناپذیر

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-11-02]

است که در این میان انواع ویتامین K از اهمیت چشمگیری برخوردار هستند(۶). شواهد موجود حاکی از آن است که با توجه به اینکه التهاب مزمن از ویژگی‌های امراضی همچون پوکی استخوان و ناراحتی‌های قلبی و عروقی است، مصرف مکمل‌های انواع ویتامین K ممکن است با کاهش تولید میانجی‌های التهابی در استخوان‌ها، عروق و قلب اثر حفاظتی داشته باشد(۱۰). همچنین مشخص شده که رابطه معکوسی بین غلظت سرمی انواع ویتامین K و شاخص‌های التهابی وجود دارد؛ به طوری که کمبود ویتامین K در تغذیه حیوانات باعث افزایش بیان ژن‌های دخیل در پاسخ‌های التهابی حاد می‌شود؛ در مقابل در افرادی که مصرف طبیعی این مکمل‌ها را داشتند، پاسخ‌های التهابی القاء شده با LPS به طور چشمگیری سرکوب می‌گردد(۶). همچنین نمونه‌ای از اثرات ضدالتهابی ویتامین نوع K2 در بیماران مبتلا به پوکی استخوان (با کاهش تولید میانجی‌های التهابی در استخوان‌ها)، آرتریت‌روماتوئید، بیماری مالتیپل اسکلروزیس و برخی از سرطان‌ها مشاهده شده است(۷). یکی از دلایل اصلی پاتولوژی بیماری‌های ذکر شده، التهاب و یا تولید میانجی‌های پیش‌برنده التهابی می‌باشد که با کاهش میزان ویتامین K2 همراه بوده و تجویز این ویتامین از شدت و عوارض این بیماری‌ها تا حد قابل‌توجهی کاسته است(۷). به علاوه در پژوهشی دیگر مشخص شده که نوسانات در سطح ویتامین K2 در مغز موش صحرایی سبب ایجاد التهاب مغزی می‌گردد و دلیل آن، رابطه عکس میزان ویتامین K2 با میزان سنتز اسفنگولیپیدهایی همچون سرآمیدها است. مطالعات نشان داده‌اند، افزایش غلظت سرآمیدها تا سه برابر میزان طبیعی حاکی از درگیری آنها در فرآیندهای التهابی است و در تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی (ROS) از میتوکندری‌ها نقش دارند(۲۰). مطالعه دیگری نشان داد که ویتامین K2 دارای اثرات مهاری بر رهاسازی برادی‌کینین‌ها و ماده P در سیستم مرکزی می‌باشد(۲۱). همچنین اثرات آنتی‌اکسیدانی ویتامین K2 در برخی مطالعات صورت گرفته مشخص شده است. به این ترتیب رادیکال‌های آزادی مانند ROS و موادی همچون NO که در پاسخ‌های التهابی افزایش می‌یابند با مصرف ویتامین K2 کاهش پیدا کرده و به دنبال آن میزان التهاب کاهش می‌یابد(۲۲). بنابراین با توجه به یافته‌های پیشین می‌توان اثرات ضدالتهابی ویتامین K2 را به این صورت توضیح داد که احتمالاً این ویتامین با مهار عوامل مرکزی دخیل در التهاب و میانجی‌های پیش‌برنده التهاب، منجر به کاهش حجم ادم ناشی از التهاب القاء شده توسط تزریق کف پایی فرمالین شده است. به این ترتیب که احتمالاً ویتامین K2 با اثرات مهاری خود بر رهاسازی میانجی‌های التهابی مانند برادی‌کینین، ماده P، نیتریک‌اکساید، سیکلواکسیژنازها و غیره و همچنین اثرات آنتی‌اکسیدانی خود توانسته است آزادسازی میانجی‌های التهابی را در سیستم عصبی مرکزی و به دنبال آن در محیط کاهش دهد. با توجه به نتایج حاصل شده از این تحقیق به نظر می‌رسد که توان اثرات ضدالتهابی ویتامین K2 تا حدودی با افزایش غلظت آن کاهش یافته است که البته میزان توانایی کاهش التهاب در غلظت ۲۰µg/۱۰µl بیشتر از غلظت ۱۰µg/۱۰µl بوده است که شاید به علت اثر ویتامین K2 در مهار سروتونین و تسهیل گیرنده‌های AMPA باشد(۲۳) و با افزایش غلظت، اثرات ضدالتهابی ویتامین K2 با اثر محرک آن روی گیرنده‌های AMPA و افزایش تحریک‌پذیری نخاع تا حدودی خنثی و یا تضعیف شود که البته این مورد نیز نیازمند تحقیق بیشتر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تجویز نخاعی ویتامین K2 منجر به کاهش التهاب ناشی از تزریق کف پایی فرمالین می‌گردد. بنابراین شاید بتوان ویتامین K2 را به عنوان یک ترکیب مؤثر با کمترین اثرات سوء در کاهش فرآیندهای التهابی تلقی کرد، همچنین آن را به عنوان یک دیدگاه درمانی جهت بسیاری از بیماری‌های التهابی از جمله بیماری‌های نورودژنراتیو مدنظر گرفت که این امر مستلزم تحقیقات بیشتر می‌باشد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-11-02]

References:

1- Vodovotz Y, Csete M, Bartels J, Chang S, An G. ***Translational systems biology of inflammation.*** PLoS Comput Biol 2008; 4(4): e1000014.

2- Nathan C. ***Points of control in inflammation***. Nature 2002; 420(6917): 846-52.

3- Kumar R, Clermont G, Vodovotz Y, Chow CC. ***The dynamics of acute inflammation.*** J Theor Biol 2004; 230(2): 145-55.

4- Aktas O, Ullrich O, Infante-Duarte C, Nitsch R, Zipp F. ***Neuronal damage in brain inflammation.*** Arch Neurol 2007; 64(2): 185-9.

5- Amor S, Puentes F, Baker D, van der Valk P. ***Inflammation in neurodegenerative diseases.*** Immunology 2010; 129(2): 154-69.

6- Hegarty JM, Yang H, Chi NC. ***UBIAD1-mediated vitamin K2 synthesis is required for vascular endothelial cell survival and development.*** Development 2013; 140(8): 1713-9.

7- El Asmar MS, Naoum JJ, Arbid EJ. ***Vitamin k dependent proteins and the role of vitamin k2 in the modulation of vascular calcification: a review.*** Oman Med J 2014; 29(3): 172-7.

8- Sato Y, Kanoko T, Satoh K, Iwamoto J. ***Menatetrenone and vitamin D2 with calcium supplements prevent nonvertebral fracture in elderly women with Alzheimer's disease.*** Bone 2005; 36(1): 61-8.

9- Torkildsen Ø, Løken-Amsrud KI, Wergeland S, Myhr KM, Holmøy T. ***Fat-soluble vitamins as disease modulators in multiple sclerosis.*** Acta Neurol Scand Suppl 2013; (196): 16-23.

10- Onodera K, Shinoda H, Zushida K, Taki K, Kamei J. ***Antinociceptive effect induced by intraperitoneal administration of vitamin K2 (menatetrenone) in ICR mice.*** Life Sci 2000; 68(1): 91-7.

11- Oztopçu P, Kabadere S, Mercangoz A, Uyar R. ***Comparison of vitamins K1, K2 and K3 effects on growth of rat glioma and human glioblastoma multiforme cells in vitro.*** Acta Neurol Belg 2004; 104(3): 106-10.

12- Ebina K, Shi K, Hirao M, Kaneshiro S, Morimoto T, Koizumi K, et al. ***Vitamin K2 administration is associated with decreased disease activity in patients with rheumatoid arthritis.*** Mod Rheumatol 2013; 23(5): 1001-7.

13- Svensson CI, Brodin E. ***Spinal astrocytes in pain processing: non-neuronal cells as therapeutic targets.*** Mol Interv 2010; 10(1): 25-38.

14- Steinke JW, Borish L. ***Cytokines and chemokines.*** J Allergy Clin Immunol 2006; 117(2 Suppl Mini-Primer): S441-5.

15- Zimmermann M. ***Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals.*** Pain 1983; 16(2): 109-10.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-11-02]

16- Yaksh TL, Rudy TA. ***Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space.*** Physiol Behav 1976; 17(6): 1031-6.

17- Fereidoni M, Ahmadiani A, Semnanian S, Javan M. ***An accurate and simple method for measurement of paw edema.*** J Pharmacol Toxicol Methods 2000; 43(1): 11-4.

18- Tjølsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. ***The formalin test: an evaluation of the method.*** Pain 1992; 51(1): 5-17.

19- Dray A. ***Inflammatory mediators of pain.*** Br J Anaesth 1995; 75(2): 125-31.

20- Ballou LR, Laulederkind SJ, Rosloniec EF, Raghow R. ***Ceramide signalling and the immune response.*** Biochim Biophys Acta 1996; 1301(3): 273-87.

21- Onodera K, Shinoda H, Zushida K, Taki K, Kamei J. ***Antinociceptive effect induced by intraperitoneal administration of vitamin K2 (menatetrenone) in ICR mice.*** Life Sci 2000; 68(1): 91-7.

22- Aktas O, Waiczies S, Smorodchenko A, Dorr J, Seeger B, Prozorovski T, et al. ***Treatment of relapsing paralysis in experimental encephalomyelitis by targeting Th1 cells through atorvastatin.*** J Exp Med 2003; 197(6): 725-33.

23- Bogdanov NG, Polushkin BV. ***Increase in the serotonin (5-hydroxytryptamine) sensitivity of portions of the rat colon in K-avitaminosis caused by ligation of the bile duct.*** Biull Eksp Biol Med 1965; 60(11): 28-30.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-11-02]

The Effect of Intrathecal Administration of Vitamin K2 on Inflammatory Rat Paw Edema Induced by Formalin

Hajipoor F(MSc)[1], Fereidoni M(PhD)*[2], Moghimi A(PhD)[3]

[1-3]*Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran*

Received: 14 Feb 2014 ***Accepted:*** 10 Jul 2014

Abstract

Introduction: vitamin K2 involves one of the vitamin K derivatives which is synthesized by intestinal bacteria. A great number of studies have demonstrated the presence of high concentration of vitamin K2 as well as its important functions in the brain. Vitamin K2 is capable to inhibit many inflammatory mediators in different diseases. Therefore, this study intended to investigate the effect of vitamin K2 at the level of spinal cord in inflammatory paw edema induced by formalin.

Methods: In this research study, male Wistar rats (200-250g), except those of the control group, after recovery from cannulation surgery for intrathecal administration (i.t.), were classified into four groups including sham (DMSO), 2µg/10µl vitamin K2, 10µg/10µl vitamin K2 and 20µg/10µl vitamin K2. In each group, inflammatory edema volume caused by sub plantar injection of formalin (0.05 ml, 2.5%) was measured after one hour using plethysmometric method.

Results: The study results indicated that I.t injection of vitamin K2 reduced formalin induced inflammatory paw edema significantly ($P<0.01$). In addition, in comparison with the other concentrations, the lowest concentration of vitamin K2 (2µg/10µl) demonstrated the highest decrease in inflammatory paw edema volume induced by formalin ($P<0.05$).

Conclusion: Vitamin K2 can reduce the edema volume induced by formalin, probably by diminishing as well as inhibiting the activity of COX and synthesis of prostaglandins. Moreover, this effect on edema can be exerted via reducing free radicals such as ROS and NO followed by decreasing the release of inflammatory and pro-inflammatory mediators in the spinal cord and thus in the peripheral.

Keywords: Edema; Inflammation; Intrathecal Administration; Plethysmometric Method; Vitamin K2

This paper should be cited as:
Hajipoor F, Fereidoni M, Moghimi A.***The effect of intrathecal administration of vitamin K2 on inflammatory rat paw edema induced by formalin***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2014; 22(4): 1379-86.

****Corresponding author: Tel: +98 915 5242015, Email: fereidoni@um.ac.ir***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-11-02]