

اثر ضد درد تجویز درازمدت آنتوسیانین سیانیدین در موش صحرایی دیابتی: شواهد رفتاری

سیما نصری^۱ PhD، مهرداد روغنی^{*} PhD، توراندخت بلوچ‌نژاد مجرد^۲ PhD، محبوبه بلوردی^۱ BSc، طاهره ربانی^۱ BSc

^{*}مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و ^۱گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

^۱گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

^۲گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

چکیده

اهداف: درد ناشی از نوروپاتی اعصاب محیطی از شکایات مهم افراد مبتلا به دیابت قندی است. با توجه به این که تاکنون ترکیبات دارویی مناسب و بدون عوارض جانبی برای درمان این عارضه یافت نشده، توجه محققان به گیاهان دارویی و مواد موثر استخراج شده از آنها معطوف شده است. سیانیدین کاهش‌دهنده استرس اکسیداتیو، آنتی‌اکسیدان قوی و ضدالتهاب است و خاصیت ضددیابتی در دیابت نوع ۲ دارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ضد درد تجویز درازمدت سیانیدین در موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد.

مواد و روش‌ها: از ۴۸ سر موش صحرایی برای انجام این مطالعه مورد-شاهدی استفاده شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به ۶ گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با سیانیدین یا سدیم‌سالیسیلات، دیابتی، دیابتی تحت تیمار با سیانیدین و دیابتی دریافت‌کننده سدیم‌سالیسیلات تقسیم شدند. سیانیدین یک هفته پس از القای دیابت به‌میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی به‌مدت ۲ ماه تجویز شد. آستانه درد با استفاده از آزمون غوطه‌ورکردن دم در آب داغ و میزان احساس درد در آزمون فرمالین مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها با SigmaStat 3.5 تحلیل شد.

یافته‌ها: درمان با سیانیدین به‌مدت دو ماه موجب کاهش معنی‌دار در نمرات درد در مرحله مزمن آزمون فرمالین در موش‌های دیابتی شد. درمان با سیانیدین تفاوت معنی‌دار در زمان بیرون کشیدن دم از آب در موش‌های دیابتی ایجاد نکرد.

نتیجه‌گیری: تجویز درازمدت سیانیدین به‌مدت دو ماه بر آستانه احساس درد تأثیری ندارد ولی موجب کاهش معنی‌دار میزان احساس درد در مدل تجربی دیابت قندی می‌شود و می‌تواند به‌عنوان یک درمان کمکی در هیپرآلرژی دیابتی مطرح شود.

کلیدواژه‌ها: سیانیدین، دیابت قندی، درد، آزمون فرمالین، آزمون غوطه‌ورکردن دم در آب داغ

Antinociceptive effect of chronic administration of the anthocyanin cyanidin in diabetic rats: Behavioral evidence

Nasri S.¹ PhD, Roghani M.* PhD, Baluchnejad Mojarad T.² PhD, Balvardi M.¹ BSc, Rabani T.¹ BSc

*“Drug Plants Research Center” and “Department of Physiology, School of Medicine”, Shahed University, Tehran, Iran

¹Department of Biology, Payam-e-Noor University, Tehran, Iran

²Department of Physiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Aims: The pain caused by peripheral nerve neuropathy is one of the most frequent complaints of diabetic patients. Nowadays, researchers are looking for new extracts of therapeutic herbs as a cure for diabetic hyperalgesia due to lack of proper and safe medications. Cyanidin is a potent antioxidant and anti-inflammatory agent, which reduces oxidative stress and also plays an anti-diabetic role in type II of diabetes mellitus. This study was designed to investigate the antinociceptive effect of cyanidin in diabetic rats.

Materials & Methods: 48 rats were used in this case-control study. Rats were divided into control, cyanidin treated control, diabetic, sodium salicylate treated diabetic, and cyanidin treated diabetic groups. Intra peritoneal cyanidin injection was performed one week after diabetes induction for two months. Pain threshold and nociception were evaluated using hot water tail immersion and formalin tests respectively. Data was analyzed by SigmaStat 3.5.

Results: Cyanidin treated diabetic rats had lower nociceptive scores at chronic phase of formalin test. Cyanidin treatment didn't cause a significant change in tail immersion latency in diabetic rats.

Conclusion: Although chronic treatment with cyanidin does not affect pain threshold but significantly reduces nociception in an experimental model of diabetes mellitus and this may be considered as an auxiliary treatment for diabetic hyperalgesia.

Keywords: Cyanidin, Diabetes Mellitus, Pain, Formalin Test, Hot Tail Immersion Test

مقدمه

بیماری دیابت قندی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های سیستم غدد درون‌ریز بدن محسوب می‌شود که براساس پیش‌بینی به‌عمل‌آمده، در آینده، شیوع آن در جامعه انسانی افزایش خواهد یافت [۱]. کمبود یا کاهش نسبی میزان انسولین در این بیماری با عوارض متابولیکی حاد نظیر کتواسیدوز، اغمای هیپراسمولار و اختلال متابولیک مزمن و عوارض نامطلوب در درازمدت نظیر رتینوپاتی، نوروپاتی، گرفتاری عروق کلیوی، ضایعات پوستی و اختلالات سیستم قلب و گردش خون همراه است [۲]. از نظر بالینی، درد ناشی از نوروپاتی اعصاب محیطی یکی از شکایات مهم افراد مبتلا به دیابت قندی محسوب می‌شود [۳، ۴].

وجود هیپرگلیسمی در دیابت قندی با اعمال اثرات سمی بر سیستم عصبی محیطی یکی از علل بروز نوروپاتی دردناک است [۵، ۶]. از طرف دیگر، بروز حالت دیابت قندی، پاسخ‌های سلولی و عروقی دخیل در واکنش‌های التهابی بدن را در مقایسه با حالت نرمال تشدید می‌کند که بخشی از آن به‌علت افزایش آزادشدن میانجی‌های التهابی نظیر هیستامین و برادی‌کینین است و خود این تغییرات، بخشی از عوارض ناشی از بیماری از جمله تشدید پاسخ به محرک‌های دردزا را در درازمدت توجیه می‌نماید. به‌همین علت استفاده از عوامل ضدالتهابی می‌تواند تا حدودی بخشی از عوارض این بیماری را کاهش دهد [۷، ۸].

با توجه به این‌که تاکنون ترکیبات دارویی مناسب (نظیر سالیسیلات‌ها و ترکیبات ضدالتهابی غیراستروئیدی) و عاری از عوارض جانبی برای درمان حالت‌های دردزا به‌ویژه در حالت دیابت قندی یافت نشده [۹]، لذا توجه محققان به گیاهان دارویی و مواد موثر استخراج شده از آنها معطوف شده است.

از جمله این مواد، پلی‌فنل‌ها هستند که در گیاهان، میوه‌ها و سبزیجات، روغن زیتون و برگ چای یافت می‌شوند. فلاونوئیدها بزرگ‌ترین گروه از پلی‌فنل‌ها هستند و تاکنون بیش از ۲۰۰۰ نوع فلاونوئید خاص در طبیعت شناسایی شده است. فلاونوئیدها براساس ساختمان ملکولی، انواع متنوعی از مواد از جمله آنتوسیانین‌ها را در برمی‌گیرند [۱۰]. مشخص شده است که مصرف غذاها یا ترکیبات غنی از پلی‌فنل‌ها می‌تواند سطح سرمی آنتی‌اکسیدانت‌ها را در خون افزایش دهد [۱۰]. در همین راستا، مصرف ترکیبات پلی‌فنلیک، اثرات مفید و بارزی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو اعمال می‌نماید. در طی چند سال اخیر، به جنبه‌های بالقوه درمانی و پیشگیری‌کننده این ترکیبات در بیماری‌های مختلف از جمله انواع سرطان‌ها، بیماری‌های قلبی-عروقی، التهابی و متابولیک شامل دیابت قندی و بیماری‌های تحلیل‌برنده عصبی توجه خاصی شده است [۱۰]. به‌علاوه، مطالعات اپیدمیولوژیک حاکی از آن است که تغییر عادات غذایی و مصرف آنتی‌اکسیدانت‌ها از راه غذا می‌تواند شیوع بیماری‌های متابولیک را کاهش دهد [۱۱].

در این خصوص، سیانیدین در گروه آنتوسیانین‌ها دارای خاصیت کاهش‌دهندگی استرس اکسیداتیو و حفاظت بافت در برابر آسیب اکسیداتیو [۱۲]، خاصیت آنتی‌اکسیدانتی قوی [۱۳]، ضدالتهابی [۱۴] و خاصیت ضددیابتی در دیابت نوع ۲ است [۱۵]. درخصوص اثرات ضددیابتی آن، مطالعه ساساکی و همکاران روی موش‌های سوری مبتلا به دیابت نوع ۲ نشان داد که تجویز خوراکی مشتق‌های گلوکوزیدی سیانیدین در جهت کاهش قند خون (اثر آنتی‌هیپرگلیسمیک) عمل نموده و حتی با افزایش حساسیت بافتی نسبت به انسولین باعث کاهش ذخایر چربی بدن می‌شود [۱۵].

با توجه به این‌که افزایش سطح قند و چربی‌های خون به‌طور بارز در دیابت قندی به‌ویژه نوع ۱ رخ می‌دهد و این‌گونه تغییرها، عوارض بعدی بیماری را به‌همراه دارد [۱] و با توجه به اثر ضدالتهابی سیانیدین [۱۴] و نقش مهم میانجی‌های التهاب در بروز برخی عوارض دیابت قندی از جمله حالات دردزا [۷، ۸]، هدف از این تحقیق، بررسی اثر ضددردی تجویز درازمدت سیانیدین در مدل تجربی دیابت قندی القا شده توسط استرپتوزوتوسین در موش صحرایی نر به کمک دو آزمون فرمالین و غوطه‌ورکردن دم در آب داغ بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۴۸ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور؛ تهران) در محدوده وزنی 268 ± 32 گرم استفاده شد. تمام حیوان‌ها در دمای $23-21$ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان‌ها آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس؛ کرج) در طول مدت بررسی دسترسی داشتند.

در این بررسی از آن دسته موش‌های صحرایی نر استفاده شد که در شرایط طبیعی بدون برقراری حالت روزه‌داری، میزان گلوکز سرم آنها کمتر از 250 و برابر با $147/6 \pm 9/8$ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود [۱۶]. در این خصوص از شبکه رترواوربیتال و لوله موئینه برای خونگیری استفاده شد [۱۶].

موش‌ها به‌طور تصادفی به ۶ گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با سیانیدین یا سدیم‌سالیسیلات، دیابتی، دیابتی تحت تیمار با سیانیدین و دیابتی دریافت‌کننده سدیم‌سالیسیلات (کنترل مثبت) تقسیم شدند. در این رابطه، با انجام بررسی آماری (آنالیز واریانس یک‌طرفه)، در صورت تأیید عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها از نظر وزن، کار ادامه می‌یافت، در غیر این صورت گروه‌بندی مجدداً انجام می‌شد.

برای دیابتی‌نمودن موش‌ها از داروی استرپتوزوتوسین به‌صورت تک‌دوز و داخل صفاقی به‌میزان 60 میلی‌گرم بر کیلوگرم در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد [۱۶]. سدیم‌سالیسیلات، یک ساعت قبل از انجام آزمون فرمالین به‌میزان 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق شد [۱۷]. داروی سیانیدین نیز یک هفته پس از القای دیابت به‌میزان 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم

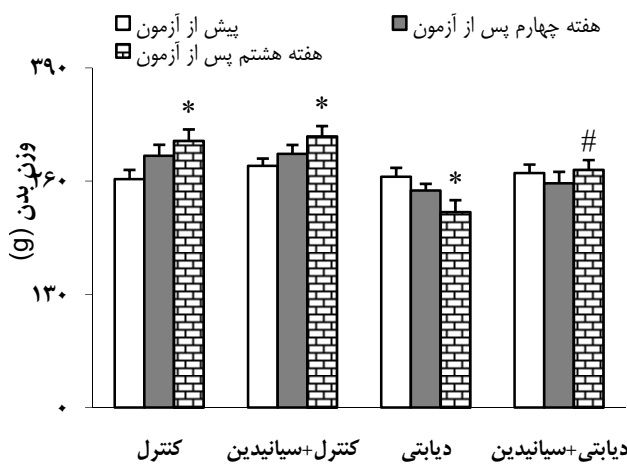
اثر ضد درد تجویز درازمدت آنتوسیانین سیانیدین در موش صحرایی دیابتی: شواهد رفتاری ۱۳۷

موش ثبت شد. زمان قطع آزمایش در صورت بیرون کشیدن دم نیز ۳۰ ثانیه در نظر گرفته شد.

برای آنالیز آماری در مورد نتایج وزن و گلوکز از آزمون آنالیز واریانس با اندازه گیری مکرر استفاده شد. در مورد نتایج درد نیز آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی مورد استفاده قرار گرفت. به علاوه، $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد. تمامی داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شد.

نتایج

از نظر وزن حیوان در هفته قبل از کار، تفاوت معنی دار بین گروه‌ها مشاهده نشد. به علاوه، در گروه دیابتی در هفته هشتم کاهش معنی داری در مقایسه با هفته قبل از بررسی مشاهده شد ($p < 0.05$). از طرف دیگر، تفاوت موجود بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت درمان با سیانیدین در هفته هشتم در حد معنی دار بود ($p < 0.05$) و میزان وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با سیانیدین در مقایسه با گروه دیابتی کاهش کمتری نشان داد. تیمار گروه کنترل با سیانیدین نیز افزایش وزن منطقی و قابل انتظاری را به دنبال داشت (نمودار ۱).



نمودار ۱) اثر تجویز سیانیدین بر میزان وزن موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی. * $p < 0.05$ (در مقایسه با هفته قبل از بررسی) و # $p < 0.05$ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)

از نظر میزان گلوکز سرم نیز در هفته قبل از بررسی، تفاوت معنی دار بین گروه‌ها یافت نشد. در هفته‌های چهارم و هشتم، میزان گلوکز سرم در گروه دیابتی به صورت معنی دار بیشتر از همان گروه در هفته پیش از بررسی بود ($p < 0.01$).

همچنین در هفته هشتم، هرچند سطح سرمی گلوکز در گروه دیابتی تحت تیمار با سیانیدین در حد غیر معنی دار بیشتر از هفته پیش از بررسی بود، اما سطح گلوکز در این گروه در همین هفته در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده به طور معنی دار کمتر بود ($p < 0.05$). به علاوه، گروه کنترل تحت تیمار با سیانیدین نیز کاهش محسوس و

به صورت داخل صفاقی و یک روز در میان به مدت ۲ ماه تجویز شد [۱۸]. برای حل نمودن این دارو از حلال کرموفور استفاده شد. گروه کنترل و دیابتی نیز مشابه سایر گروه‌ها، حلال دارو (کرموفور) را در طول مدت آزمایش با همان حجم دریافت نمودند. یک هفته پس از تزریق، برای اطمینان از دیابتی بودن حیوان‌ها، قند ادرار به روش نوار ادراری (شرکت گلوکویاب؛ تهران) کنترل شد و فقط حیوان‌های دیابتی شده به مرحله بعدی برای شروع تیمار راه یافتند [۱۶]. البته در هفته‌های بعد، علائم بارز دیابت قندی نظیر پرخوری، پرنوشی، دیورز و کاهش وزن نیز در موش‌ها دیده شد. میزان وزن حیوانات و گلوکز سرم با روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست‌شیمی؛ تهران) قبل از انجام کار و طی هفته‌های چهارم و هشتم پس از بررسی اندازه گیری شد.

آزمون فرمالین: از نظر زمانی این آزمون ۲ تا ۳ روز پس از انجام آزمون غوطه‌ور کردن دم در آب داغ و بین ساعت‌های ۱۲ تا ۱۷ انجام پذیرفت. برای انجام آن نیز از روش متداول *دایسون و دنیس* استفاده شد [۱۹]، بدین ترتیب که حیوان در محفظه‌ای از جنس پلکسی گلاس ($40 \times 40 \times 40$ سانتی‌متر) تحت شرایط آرام قرار گرفت و پس از گذشت ۱۵ دقیقه، ۵۰ میکرولیتر از محلول فرمالین ۲/۵٪ به صورت زیرجلدی به کف پای حیوان تزریق شد. سپس شدت درد حیوان براساس تقسیم‌بندی زیر به ۴ درجه تفکیک گردید:

- ۰- حیوان بدون توجه به پای تزریق شده می‌نشیند یا راه می‌رود.
 - ۱- پای حیوان با محفظه تماس داشته، ولی حیوان وزن بدن خود را بیشتر روی پای سالم می‌اندازد.
 - ۲- حیوان پنجه دردناک را کاملاً از سطح محفظه بلند می‌کند.
 - ۳- حیوان پنجه تزریق شده را از شدت درد می‌لیسد، گاز می‌گیرد یا به شدت تکان می‌دهد.
- ثبت پاسخ‌های رفتاری بلافاصله پس از تزریق فرمالین آغاز و تا دقیقه ۶۰ ادامه یافت. در این ارتباط، پاسخ در هر ۱۵ ثانیه ثبت و به عنوان شاخصی از میزان درد در آزمون فرمالین در نظر گرفته شد. با استفاده از این روش اعداد ۰ تا ۳ برای امتیاز درد در زمان‌های مختلف به دست آمد. میانگین درد در ۱۰ دقیقه اول بعد از تزریق فرمالین به عنوان مرحله اول یا حاد و در دقیقه‌های ۱۶ تا ۶۰ به عنوان مرحله دوم یا مزمن در نظر گرفته شد.

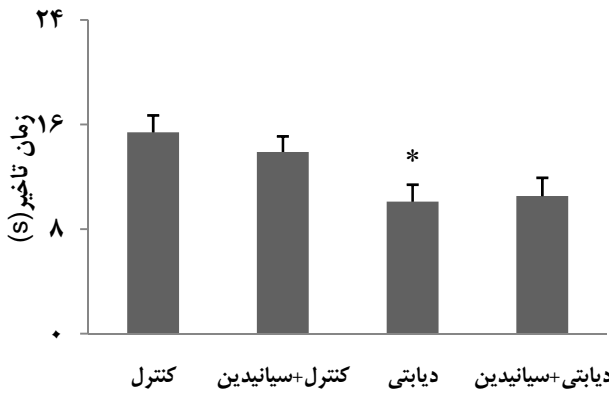
آزمون غوطه‌ور کردن دم در آب داغ: این آزمون به روش توصیف شده توسط کورتیکس و همکاران [۲۰] انجام پذیرفت. برای انجام این کار به منظور سازش، حیوان به مدت ۱۵ دقیقه در داخل محفظه محدودکننده موش، تحت شرایط استاندارد آزمایشگاه قرار گرفت و سپس دم حیوان در داخل آب داغ در دمای ۴۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و میزان تأخیر در بیرون کشیدن دم از آب با استفاده از زمان سنج اندازه‌گیری شد. هر آزمایش در مورد هر حیوان ۴ بار با فاصله زمانی ۵ دقیقه تکرار شد و نهایتاً میانگین داده در مورد هر

معنی دار گلوکز سرم را در مقایسه با گروه کنترل تیمار نشده نشان نداد (نمودار ۲).



نمودار ۲ اثر تجویز سیانیدین بر میزان گلوکز سرم موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی، # $p < 0.05$ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)، * $p < 0.05$ ، ** $p < 0.01$ (در مقایسه با هفته قبل از بررسی)

میزان شدت درد در مرحله حاد در گروه دیابتی تحت تیمار با سیانیدین به‌طور غیرمعنی‌دار کمتر از گروه دیابتی بود. به‌علاوه، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار بین دو گروه دیابتی دریافت‌کننده سدیم‌سالیسیلات و سیانیدین در فاز مزمن آزمون فرمالین مشاهده نشد.



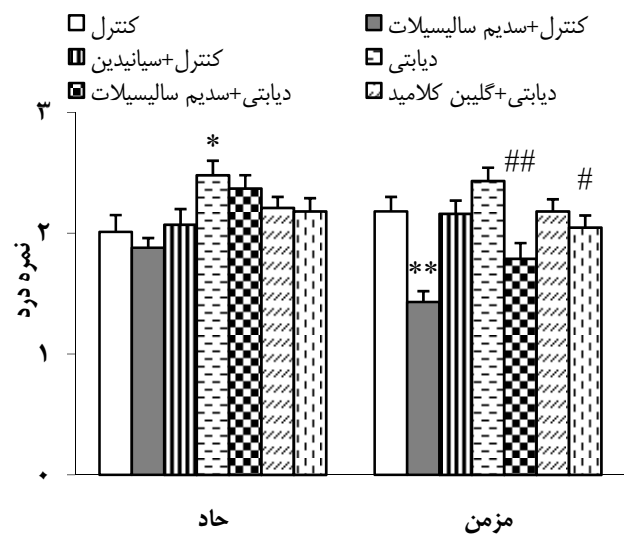
نمودار ۳ مدت‌زمان تاخیر در بیرون کشیدن دم از آب داغ در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار با سیانیدین * $p < 0.05$ (در مقایسه با گروه کنترل در همان مرحله)

در مورد آزمون غوطه‌ور کردن دم در آب داغ که برای سنجش آستانه درد حرارتی کاربرد دارد (نمودار ۴)، در گروه دیابتی کاهش معنی‌داری در مدت‌زمان تاخیر در بیرون کشیدن دم در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0.05$) که خود حاکی از بروز هیپرآلژزی حرارتی در موش‌های دیابتی، ۸ هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین است. به‌علاوه، اگرچه درمان موش‌های دیابتی با سیانیدین به‌مدت ۸ هفته موجب افزایش مختصر این زمان تاخیر در مقایسه با گروه دیابتی درمان‌نشده شد، ولی تفاوت موجود بین این دو گروه از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین، درمان موش‌های گروه کنترل با سیانیدین نیز تفاوت معنی‌داری را از این نظر در مقایسه با گروه کنترل ایجاد ننمود.

بحث

نتایج بررسی حاضر نشان داد که تجویز درازمدت سیانیدین به‌مدت ۸ هفته اثر هیپوگلیسمیک داشته و نمره درد در موش‌های دیابتی در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین بیشتر از موش‌های گروه کنترل بود و درمان با سیانیدین موجب کاهش معنی‌دار نمره درد در مقایسه با گروه دیابتی فقط در مرحله مزمن شد. ضمناً با تجویز سدیم‌سالیسیلات به موش‌های دیابتی، کاهش معنی‌دار در نمره درد فقط در مرحله مزمن مشاهده شد. در مورد آزمون غوطه‌ور کردن دم در آب داغ نیز در گروه دیابتی، کاهش معنی‌دار در مدت‌زمان تاخیر در بیرون کشیدن دم در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد و درمان موش‌های دیابتی با سیانیدین موجب افزایش معنی‌دار این زمان تاخیر در مقایسه با گروه دیابتی نشد.

نتایج بررسی‌های قبلی نشان می‌دهد که موش‌های صحرایی



نمودار ۴ شدت درد در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار با سیانیدین. * $p < 0.05$ (در مقایسه با گروه کنترل در همان مرحله)، # $p < 0.05$ ، ## $p < 0.01$ (در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده در همان مرحله)

در آزمون فرمالین (نمودار ۳)، تزریق کف‌پایی فرمالین، پاسخ بارز دوفازی را در تمام گروه‌ها ایجاد نمود. هیپرآلژزی ظاهر شده به‌دنبال تزریق کف‌پایی فرمالین در گروه دیابتی در هر دو مرحله بیشتر از گروه کنترل بود، هرچند فقط در فاز حاد به سطح معنی‌دار رسید ($p < 0.05$). به‌علاوه تجویز سدیم‌سالیسیلات به موش‌های گروه دیابتی موجب کاهش معنی‌دار نمره درد، فقط در مرحله دوم آزمون فرمالین در مقایسه با گروه دیابتی شد ($p < 0.01$). از طرف دیگر، درمان با سیانیدین به‌مدت ۸ هفته موجب کاهش معنی‌دار نمره درد در مقایسه با گروه دیابتی فقط در مرحله مزمن آزمون شد ($p < 0.05$)، هرچند

نتیجه گیری

به طور خلاصه تجویز درازمدت سیانیدین به مدت ۲ ماه هر چند بر آستانه احساس درد تأثیری ندارد، ولی موجب کاهش معنی دار میزان احساس درد در مدل تجربی دیابت قندی القا شده توسط استرپتوزوتوسین می شود که این می تواند به عنوان درمان کمکی در هیپرالژزی دیابتی مطرح شود.

تشکر و قدردانی: نویسندگان مقاله مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم فریبا انصاری، کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد به خاطر کمک به انجام آزمایش ها اعلام می دارند.

منابع

- 1- Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: Complications and therapeutics. *Med Sci Monit.* 2006;12:130-47.
- 2- Amos AF, Carty DJ, Zimmer P. The rising global burden of diabetes and its complications: Estimates and projection to the year 2010. *Diabetes Med.* 1997;14:81-5.
- 3- Ziegler D. Painful diabetic neuropathy: Advantage of novel drugs over old drugs? *Diabetes Care.* 2009;32:414-9.
- 4- Dobretsov M, Hastings SL, Romanovsky D, Stimers JR, Zhang JM. Mechanical hyperalgesia in rat models of systemic and local hyperglycemia. *Brain Res.* 2003;960:174-83.
- 5- Obrosova IG. Diabetic painful and insensate neuropathy: Pathogenesis and potential treatments. *Neurotherapeutics.* 2009;6:638-47.
- 6- Calcutt NA, Backonja MM. Pathogenesis of pain in peripheral diabetic neuropathy. *Curr Diab Rep.* 2007;7:429-34.
- 7- Sears B. Anti-inflammatory diets for obesity and diabetes. *J Am Coll Nutr.* 2009;28:482-91.
- 8- Sonnett TE, Levien TL, Gates BJ, Robinson JD, Campbell RK. Diabetes mellitus, inflammation and obesity: Proposed treatment pathways for current and future therapies. *Ann Pharmacother.* 2010;44:701-11.
- 9- Cameron N, Cotter M, Inkster M, Nangle M. Looking to the future: Diabetic neuropathy and effects of rosuvastatin on neurovascular function in diabetes models. *Diabetes Res Clin Pract.* 2003;61:35-9.
- 10- Buer CS, Imin N, Djordjevic MA. Flavonoids: New roles for old molecules. *J Integr Plant Biol.* 2010;52:98-111.
- 11- Tang H, Dong X, Day RS, Hassan MM, Li D. Antioxidant genes, diabetes and dietary antioxidants in association with risk of pancreatic cancer. *Carcinogenesis.* 2010;31(4):607-13.
- 12- Tarozzi A, Marchesi A, Hrelia S, Angeloni C, Andrisano V, Fiori J, et al. Protective effects of cyanidin-3-O-beta-glucopyranoside against UVA-induced oxidative stress in human keratinocytes. *Photochem Photobiol.* 2005;81:623-9.
- 13- Noda Y, Kaneyuki T, Mori A, Packer L. Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidins: Delphinidin, cyanidin and pelargonidin. *J Agric Food Chem.* 2002;50:166-71.
- 14- He YH, Xiao C, Wang YS, Zhao LH, Zhao HY, Tong Y, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of cyanidin from cherries on rat adjuvant-induced arthritis. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 2005;30:1602-5.
- 15- Sasaki R, Nishimura N, Hoshino H, Isa Y, Kadowaki M, Ichi T. Cyanidin 3-glucoside ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity due to downregulation of retinol binding

دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین به طور غیرمنتظره، رفتار تشدید شده مربوط به درد را در آزمون فرمالین، به دنبال تجویز محرک های شیمیایی به داخل پنجه پا پس از گذشت حداقل ۳ تا ۴ هفته نشان می دهند که خود دلالت بر وجود مکانیزم های غیرنرمال و متعدد در پردازش سیگنال های محیطی درد دارد [۱۹، ۲۰، ۲۱].

قبلا وجود هیپرالژزی مکانیکی به عنوان اولین نشانه نوروپاتی دیابتی به اثبات رسیده است که علت آن تا حدودی به اثر سمی مقدار بالای گلوکز بر سیستم عصبی محیطی و فعال شدن مسیر بیوشیمیایی آلدوزدوکتاز و الکل های با چند گروه هیدروکسیل نسبت داده شده است [۲۱]. به علاوه وجود حالت دیابت، پردازش سیگنال های درد را در ناحیه نخاع، تحت تاثیر قرار می دهد [۲۰]. همچنین کاهش آستانه درد حرارتی در موش های دیابتی شده در آزمون غوطه ور کردن دم در آب داغ نیز به اثبات رسیده است [۲۲]. از طرف دیگر، نتایج تحقیقات اخیر نشان می دهد که موش های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین را می توان به عنوان مدل درد مزمن به حساب آورد که در مورد آن نشانه های هیپرالژزی و آلودینی به خوبی مشاهده می شود [۲۳، ۲۴].

با توجه به این که در فاز مزمن آزمون فرمالین در نمونه های نرمال و دیابتی شده، مکانیزم های محیطی و در فاز حاد آن، مکانیزم های مرکزی دخالت دارند [۲۵، ۲۶] و تزریق داخل صفاقی سدیم سالیسیلات به موش های گروه کنترل و دیابتی موجب کاهش میزان احساس درد فقط در فاز دوم آزمون شد، لذا این ماده از طریق مکانیزم محیطی اثرات خود را اعمال می کند که نتایج تحقیق حاضر موید این نظر است.

همچنین نتایج به دست آمده در این بررسی نشان داد که تجویز درازمدت سیانیدین در گروه دیابتی به مدت ۸ هفته موجب کاهش معنی دار پاسخ درد در مرحله مزمن آزمون فرمالین در موش های دیابتی می شود که خود دال بر اعمال اثر محیطی این گیاه و احتمالا اعمال اثر ضد التهابی است که این مساله با نتایج تحقیق هی و همکاران مطابقت دارد [۱۴]. در این رابطه محققان اخیر نشان دادند که سیانیدین جداسازی شده از برخی میوه ها در مدل تجربی آرتریت القا شده توسط آجوانت دارای اثر ضد التهابی قوی بوده که این تا حدودی با خاصیت محافظت کنندگی و آنتی اکسیدانی آن در ارتباط است [۱۴].

به علاوه تال و همکاران نشان دادند که آنتوسیانین ها به طور کلی قادر به مهار احساس درد به دنبال پدیده های التهابی هستند [۲۷] که این یافته به خوبی کاهش درد در فاز مزمن آزمون فرمالین را در موش های صحرایی دیابتی تحت درمان با سیانیدین در تحقیق حاضر توجیه می نماید. همچنین در این تحقیق، بخش دیگری از اثرات سودمند سیانیدین بر درد را می توان به اثر پایین آورندگی گلوکز آن نسبت داد [۱۵] که موجب کاهش تغییر در اعصاب محیطی و التهاب ناشی از آن می شود [۷].

- hyperalgesia during the formalin test in diabetic rats. *Neurosci Lett.* 1999;262:101-4.
- 22- Sharma S, Kulkarni SK, Chopra K. Effect of resveratrol, a polyphenolic phytoalexin, on thermal hyperalgesia in a mouse model of diabetic neuropathic pain. *Fundam Clin Pharmacol.* 2007;21:89-94.
- 23- Calcutt NA. Potential mechanisms of neuropathic pain in diabetes. *Int Rev Neurobiol.* 2002;50:205-28.
- 24- Hasanein P, Parviz M, Keshavarz M, Roohbakhsh A. URB597, an inhibitor of fatty acid amide hydrolase, reduces hyperalgesia in diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 2009;87:432-9.
- 25- Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. Modified formalin test: Characteristic biphasic pain response. *Pain.* 1989;38:347-52.
- 26- Rosland JH, Tjolsen A, Maehle B, Hole K. The formalin test in mice-effect of formalin concentration. *Pain.* 1990;42:235-42.
- 27- Tall JM, Seeram NP, Zhao C, Nair MG, Meyer RA. Tart cherry anthocyanins suppress inflammation-induced pain behavior in rat. *Behav Brain Res.* 2004;153:181-8.
- protein-4 expression in diabetic mice. *Biochem Pharmacol.* 2007;74:1619-27.
- 16- Roghani M, Baluchnejadmojarad T. hypoglycemic and hypolipidemic effect and antioxidant activity of chronic epigallocatechin-gallate in streptozotocin-diabetic rats. *Pathophysiology.* 2010;17:55-9.
- 17- Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Roghani-Dehkordi F. Antinociceptive effect of *Teucrium polium* leaf extract in the diabetic rat formalin test. *J Ethnopharmacol.* 2005;97:207-10.
- 18- Matsui T, Ebuchi S, Kobayashi M, Fukui K, Sugita K, Terahara N, et al. Anti-hyperglycemic effect of diacylated anthocyanin derived from *Ipomoea batatas* cultivar Ayamurasaki can be achieved through the alpha-glucosidase inhibitory action. *J Agric Food Chem.* 2002;50:7244-8.
- 19- Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain.* 1977;4:161-74.
- 20- Courteix C, Eschalier A, Lavarenne J. Streptozotocin-induced diabetic rats: Behavioral evidence for a model of chronic pain. *Pain.* 1993;53:81-8.
- 21- Cesena RM, Calcutt NA. Gabapentin prevents