

## اثر خدد در تجویز درازمدت آنتو سیانین سیانیدین در موش صحرایی دیابتی: شواهد رفتاری

سیما نصری<sup>۱</sup>, PhD, مهرداد روغنی<sup>\*</sup>, PhD, توراندخت بلوجنژاد مجرد<sup>۲</sup>, PhD, محبوبه بلوردی<sup>۱</sup>, BSc, طاهره ربانی<sup>۱</sup>

\*مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

<sup>۲</sup> گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

### چکیده

**اهداف:** درد ناشی از نوروپاتی اعصاب محیطی از شکایات مهم افراد مبتلا به دیابت قدری است. با توجه به این که تاکنون ترکیبات دارویی مناسب و بدون عوارض جانبی برای درمان این عارضه یافته نشده، توجه محققان به گیاهان دارویی و مواد موثر استخراج شده از آنها معطوف شده است. سیانیدین کاهش دهنده استرس اکسیدانتیو، آنتی اکسیدان قوی و ضدالتهاب است و خاصیت خدد در دیابت نوع ۲ دارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر خدد در 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 به طور تصادفی به ۶ گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با سیانیدین یا سدیم‌سالیسیلات، دیابتی، دیابتی تحت تیمار با سیانیدین و دیابتی دریافت کننده سدیم‌سالیسیلات تقسیم شدند. سیانیدین یک هفته پس از القای دیابت به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به مدت 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 به مدت دو ماه موجب کاهش معنی دار در نمرات درد در مرحله مزمن آزمون فرمالین در موش‌های دیابتی شد. درمان با سیانیدین تفاوت معنی دار در زمان بیرون‌کشیدن دم از آب در موش‌های دیابتی ایجاد نکرد.

**نتیجه‌گیری:** تجویز درازمدت سیانیدین به مدت دو ماه بر آستانه احساس درد تأثیری ندارد ولی موجب کاهش معنی دار میزان احساس درد در مدل تجربی دیابت قندی می‌شود و می‌تواند به عنوان یک درمان کمکی در هیپرآلزی 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.<sup>1</sup> PhD, Roghani M.\* PhD, Baluchnejad Mojarad T.<sup>2</sup> PhD, Balvardi M.<sup>1</sup> BSc, Rabani T.<sup>1</sup> BSc

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

<sup>1</sup>Department of Biology, Payam-e-Noor University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Department 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

در این خصوص، سیانیدین در گروه آنتوسبیانین‌ها دارای خاصیت کاهش‌دهنگی 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]. در خصوص اثرات ضددیابتی آن، مطالعه ساساکی و همکاران روی موش‌های سوری مبتلا به دیابت نوع ۲ نشان داد که تجویز خوراکی مشتق‌های گلوكوزیدی 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 این که افزایش سطح قند و چربی‌های خون به طور بارز در دیابت قندی بهویژه نوع ۱ رخ می‌دهد و این گونه تغییرها، عوارض بعدی بیماری را به همراه 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 القاشه توسعه استرتپوزوتوسین 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  $268 \pm 33$  گرم استفاده شد. تمام حیوان‌ها در دمای ۲۱–۲۳ 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 گلوكز سرم آنها کمتر از ۲۵ و برابر با  $147/6 \pm 9/8$  میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود [۱۶]. در این خصوص از شیکه رتیواروبیتال و لوله مؤینه برای خونگیری استفاده شد [۱۶].

موش‌ها به طور 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 تائید عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها از نظر وزن، کار ادامه می‌یافتد، در غیر این صورت گروه‌بندی مجددًا انجام می‌شد.

برای دیابتی‌نمودن موش‌ها از داروی استرتپوزوتوسین به صورت تک‌دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد [۱۶]. سدیم‌سالیسیلات، یک ساعت قبل از انجام آزمون فرمالین به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق شد [۱۷]. داروی سیانیدین نیز یک هفته پس از القای دیابت به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم

بیماری دیابت قندی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های سیستم غدد درون‌ریز بدن محسوب می‌شود که براساس پیش‌بینی به عمل آمده، 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 تشید می‌کند که بخشی از آن به علت افزایش آزادشن میانجی‌های التهابی نظیر هیستامین و برادی‌کینین است و خود این تغییرات، بخشی از عوارض ناشی از بیماری از جمله تشید پاسخ به محرک‌های دردزا را در درازمدت توجیه می‌نماید. بهمین علت استفاده از عوامل ضدالتهابی می‌تواند تا حدودی بخشی از عوارض این بیماری را کاهش دهد [۷، ۸].

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

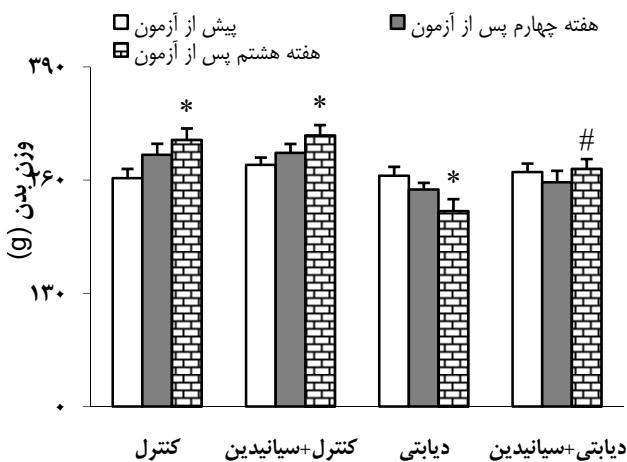
از جمله این مواد، پلی‌فنل‌ها هستند که در گیاهان، میوه‌ها و سبزیجات، رونگ زیتون و برگ چای یافت می‌شوند. فلاونوئیدها بزرگ‌ترین گروه از پلی‌فنل‌ها هستند و تاکنون بیش از ۲۰۰۰ نوع فلاونوئید خاص در طبیعت شناسایی شده است. فلاونوئیدها براساس ساختمان ملکولی، انواع متنوعی از مواد از جمله آنتوسبیانین‌ها در بر می‌گیرند [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 بازی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو اعمال می‌نماید. در طی چند سال اخیر، به جنبه‌های بالقوه درمانی و پیشگیری کننده 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]. به علاوه، مطالعات اپیدمیولوژیک حاکی از آن است که تغییر عادات غذایی و مصرف آنتی‌اکسیدانت‌ها از راه غذا می‌تواند شیوع بیماری‌های متابولیک را کاهش دهد [۱۱].

۱۳۷ اثر ضددرد تجویز درازمدت آنتوسبیانین سیانیدین در موش صحرایی دیابتی: شواهد رفتاری  
موش ثبت شد. زمان قطع آزمایش در صورت بیرون نکشیدن دم نیز  
۳۰ ثانیه در نظر گرفته شد.

برای آنالیز آماری در مورد نتایج وزن و گلوکز از آزمون آنالیز واریانس با اندازه‌گیری 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 ± 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. \*، (در مقایسه با هفته قبل از بررسی) و #، (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، هر چند سطح سرمی گلوکز در گروه دیابتی تحت تیمار با سیانیدین در حد غیرمعنی 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 گلوكوبای؛ تهران) کنترل شد و فقط حیوان‌های دیابتی شده به مرحله بعدی برای شروع تیمار راه یافتند [۱۶]. البته در هفته‌های بعد، عالیم باز دیابت قندی نظیر پرخوری، پرنوشی، دیورز و کاهش وزن نیز در موش‌ها دیده شد. میزان وزن حیوانات و گلوکز سرم با روش آنژیمی گلوکزاکسیداز (شرکت زیست‌شیمی؛ تهران) قبل از انجام کار و طی هفته‌های چهارم و هشتم پس از بررسی اندازه‌گیری شد.

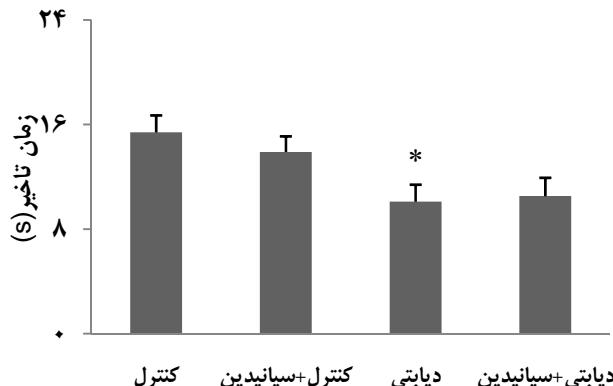
آزمون فرمالین: از نظر زمانی این آزمون ۲ تا ۳ روز پس از انجام آزمون غوطه‌ورکردن دم در آب داغ و بین ساعت‌های ۱۲ تا ۱۷ انجام پذیرفت. برای انجام آن نیز از روش متداول دیسیون و دنیس استفاده شد [۱۹]، بدین ترتیب که حیوان در محفظه‌ای از جنس پلکسی گلاس (۴۰×۴۰×۴۰ سانتی‌متر) تحت شرایط آرام قرار گرفت و پس از گذشت 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:

- حیوان بدون توجه به پای تزریق شده می‌نشیند یا راه می‌رود.
- پای حیوان با محفظه تماس داشته، ولی حیوان وزن بدن خود را بیشتر روی پای سالم می‌اندازد.
- حیوان پنجه در دنک را کاملاً از سطح محفظه بلند می‌کند.
- حیوان پنجه تزریق شده را از شدت درد می‌لیسد، گاز می‌گیرد یا به شدت تکان می‌دهد.

ثبت پاسخ‌های رفتاری بالاصله 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 غوطه‌ورکردن 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 محدود کننده 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 تاخیر 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

میزان شدت درد در مرحله حاد در گروه دیابتی تحت تیمار با سیانیدین به طور غیرمعنی دار کمتر از گروه دیابتی بود. به علاوه، هیچ گونه تفاوت معنی دار بین دو گروه دیابتی دریافت کننده سدیم سالیسیلات و سیانیدین در فاز مزمن آزمون فرمالین مشاهده نشد.



**نمودار ۴** مدت زمان تاخیر در بیرون کشیدن دم از آب داغ در موش های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار با سیانیدین  $p < 0.05$  (در مقایسه با گروه کنترل در همان مرحله)

در مورد آزمون غوطه ور کردن دم در آب داغ که برای سنجش آستانه در حرارتی کاربرد دارد (نمودار ۴)، در گروه دیابتی کاهش معنی داری در مدت زمان تاخیر در بیرون کشیدن دم در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ( $p < 0.05$ ) که خود حاکی از بروز هیپرآلرژی حرارتی در موش های دیابتی، ۸ هفته پس از تزریق استریتوزوتوسین است. به علاوه، اگرچه درمان موش های دیابتی با سیانیدین به مدت ۸ هفته موجب افزایش مختصر این زمان تاخیر در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده شد، ولی تفاوت موجود بین این دو گروه از نظر آماری معنی دار نبود. همچنان، درمان موش های گروه کنترل با سیانیدین نیز تفاوت معنی داری را از این نظر در مقایسه با گروه کنترل ایجاد ننمود.

## بحث

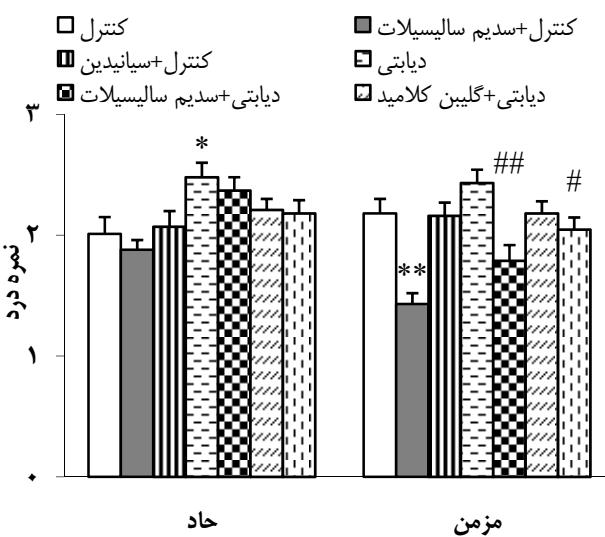
نتایج بررسی حاضر نشان داد که تجویز دراز مدت سیانیدین به مدت ۸ هفته اثر هیپو گلیسمیک داشته و نمره درد در موش های دیابتی در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین بیشتر از موش های گروه کنترل بود و درمان با سیانیدین موجب کاهش معنی دار نمره درد در مقایسه با گروه دیابتی فقط در مرحله مزمن شد. ضمناً با تجویز سدیم سالیسیلات به موش های دیابتی، کاهش معنی دار در نمره درد فقط در مرحله مزمن مشاهده شد. در مورد آزمون غوطه ور کردن دم در آب داغ نیز در گروه دیابتی، کاهش معنی دار در مدت زمان تاخیر در بیرون کشیدن دم در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد و درمان موش های دیابتی با سیانیدین موجب افزایش معنی دار این زمان تاخیر در مقایسه با گروه دیابتی نشد.

نتایج بررسی های قبلی نشان می دهد که موش های صحرایی

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



**نمودار ۲** اثر تجویز سیانیدین بر میزان گلوکز سرم موش های 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)



**نمودار ۳** شدت درد در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین در موش های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار با سیانیدین.

(در مقایسه با گروه کنترل در همان مرحله)، # ( $p < 0.05$ ), \*\* ( $p < 0.01$ ), ## ( $p < 0.01$ ) (در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده در همان مرحله)

در آزمون فرمالین (نمودار ۳)، تزریق کف پایی فرمالین، پاسخ بارز دوفازی را در تمام گروه ها ایجاد نمود. هیپرآلرژی ظاهر شده به دنبال تزریق کف پایی فرمالین در گروه دیابتی در هر دو مرحله بیشتر از گروه کنترل بود، هر چند فقط در فاز حاد به سطح معنی دار رسید ( $p < 0.05$ ). به علاوه تجویز سدیم سالیسیلات به موش های گروه دیابتی موجب کاهش معنی دار نمره درد، فقط در مرحله دوم آزمون فرمالین در مقایسه با گروه دیابتی شد ( $p < 0.01$ ). از طرف دیگر، درمان با سیانیدین به مدت ۸ هفته موجب کاهش معنی دار نمره درد در مقایسه با گروه دیابتی فقط در مرحله مزمن آزمون شد ( $p < 0.05$ ), هر چند

## نتیجه‌گیری

به طور خلاصه تجویز درازمدت سیانیدین به مدت ۲ ماه هر چند بر آستانه احساس درد تاثیری ندارد، ولی موجب کاهش معنی‌دار میزان احساس درد در مدل تجربی دیابت قندی القاشه توسعه استریپتوزوتوسین می‌شود که این می‌تواند به عنوان درمان کمکی در هیپرآلزی دیابتی مطرح شود.

**تشکر و قدردانی:** نویسنده‌گان مقاله مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم فربیبا/نصرالله، کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد به خاطر کمک به انجام آزمایش‌ها اعلام می‌دارند.

## 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- Sonnent 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, Kadokawa M, Ichi T. Cyanidin 3-glucoside ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity due to downregulation of retinol binding

دیابتی شده توسط استریپتوزوتوسین به طور غیرمنتظره، رفتار تشیدشده مربوط به درد را در آزمون فرمالین، به دنبال تجویز محرك‌های شیمیایی به داخل پنجه پا پس از گذشت حداقل ۳ تا ۴ هفته نشان می‌دهند که خود دلالت بر وجود مکانیزم‌های غیرنرم‌مال و متعدد در پردازش سیگنال‌های محیطی درد دارد [۱۹، ۲۰].

قبل و وجود هیپرآلزی مکانیکی به عنوان اولین نشانه نوروباتی دیابتی به اثبات رسیده است که علت آن تا حدودی به اثر سمی مقدار بالای گلوکز بر سیستم عصبی محیطی و فعل شدن مسیر بیوشیمیایی آلدوزردوکتاز و الكل‌های با چند گروه هیدروکسیل نسبت داده شده است [۲۱]. به علاوه وجود حالت دیابت، پردازش سیگنال‌های درد را در ناحیه نخاع، تحت تاثیر قرار می‌دهد [۲۰]. همچنین کاهش آستانه درد حرارتی در موش‌های دیابتی شده در آزمون غوطه‌ورکردن دم در آب داغ نیز به اثبات رسیده است [۲۲]. از طرف دیگر، نتایج تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استریپتوزوتوسین را می‌توان به عنوان مدل درد مزمن به حساب آورد که در مورد آن نشانه‌های هیپرآلزی و آلدینی به خوبی مشاهده می‌شود [۲۳، ۲۴].

با توجه به این که در فاز مزمن آزمون فرمالین در نمونه‌های نرمال و دیابتی شده، مکانیزم‌های محیطی و در فاز حاد آن، مکانیزم‌های مرکزی دخالت دارند [۲۵، ۲۶] و تزریق داخل صفاقی سدیم‌سالیسیلات به موش‌های 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 می‌کند که نتایج تحقیق حاضر موید این نظر است.

همچنین نتایج به دست‌آمده در این بررسی نشان داد که تجویز درازمدت سیانیدین در گروه دیابتی به مدت ۸ هفته موجب کاهش معنی‌دار پاسخ درد در مرحله مزمن آزمون فرمالین در موش‌های دیابتی می‌شود که خود دل بر اعمال اثر محیطی این گیاه و احتمالاً اعمال اثر ضدالتهابی 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 میوه‌ها در مدل تجربی آرتربیت القاشه توسعه آجوانات دارای اثر ضدالتهابی قوی بوده که این تا حدودی با خاصیت محافظت‌کنندگی و آنتی‌اکسیدانتی آن در ارتباط است [۱۴].

به علاوه تاک و همکاران نشان دادند که آنتوسبیانین‌ها به طور کلی قادر به مهار احساس درد به دنبال پدیده‌های التهابی هستند [۲۷] که این یافته به خوبی کاهش درد در فاز مزمن آزمون فرمالین را در موش‌های صحرایی دیابتی تحت درمان با سیانیدین در تحقیق حاضر توجیه می‌نماید. همچنین در این تحقیق، بخش دیگری از اثرات سودمند سیانیدین بر درد را می‌توان به اثر پایین‌آورندگی گلوکز آن نسبت داد [۱۵] که موجب کاهش تغییر در اعصاب محیطی و التهاب ناشی از آن می‌شود [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, Caleutt NA. Gabapentin prevents