

Effects of cromolyn sodium and honey on vincristine-induced neuropathic pain: An experimental study in mice

Moslem Najafi¹, Bohlool Habibi-Asl¹, Hamideh Najafluy Mayan², Mina Islambulchilar^{1*}

¹Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

²Student Research Committee, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 7 Apr 2025

Revised: 10 Jun 2025

Accepted: 14 Jun 2025

ePublished:

Keywords:

- Vincristine
- Peripheral neuropathy
- Cromolyn sodium
- Honey
- Oxidative stress

Abstract

Background. Chemotherapy-induced neuropathy is a significant side effect of anticancer drugs such as vincristine, leading to increased pain sensitivity and reduced quality of life. Investigations are required to reduce these adverse effects. This study investigated the protective effects of cromolyn sodium and honey against vincristine-induced neuropathy in animal models.

Methods. In this study, 81 male mice were randomly divided into 9 groups and vincristine was administered to induce neuropathy. Various doses of cromolyn sodium (6, 12, and 24 mg/kg, i.p.) and honey (50, 100, and 200 mg/kg, i.p.), as well as their combination (cromolyn 6 mg/kg + honey 50 mg/kg, i.p.), were administered. The Hot Plate test was conducted at different time points to assess nociception. Additionally, total antioxidant capacity (TAC) and malondialdehyde (MDA) levels were measured.

Results. Cromolyn sodium (12 mg/kg) and honey (100 and 200 mg/kg) significantly alleviated pain sensitivity ($P < 0.05$). Moreover, cromolyn at all studied doses decreased MDA levels ($P < 0.05$), and honey at 200 mg/kg improved TAC ($P < 0.05$). The co-administration of cromolyn sodium (6 mg/kg) and honey (50 mg/kg) did not show a significant synergistic effect on latency time; however, it reduced MDA and elevated TAC ($P < 0.05$).

Conclusion. The findings suggest that cromolyn sodium and honey, especially at optimal doses, may have protective effects against vincristine-induced neuropathy. Further studies are recommended to determine optimal dosages and explore underlying mechanisms.

Practical Implications. The results indicate that cromolyn sodium and honey could be used as supportive treatments to alleviate chemotherapy-induced neuropathy.

How to cite this article: Najafi M, Habibi-Asl B, Najafluy Mayan H, Islambulchilar M. Effects of cromolyn sodium and honey on vincristine-induced neuropathic pain: An experimental study in mice. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2025;47(4):375-389. doi: 10.34172/mj.025.34021. Persian.

Extended Abstract

Background

Chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN) is a significant and debilitating side effect of several anticancer drugs, including vincristine. This condition demonstrates as peripheral nerve damage, leading to symptoms such as pain hypersensitivity,

and diminished quality of life in patients. The mechanisms underlying vincristine-induced peripheral neuropathy (VIPN) involve neuronal damage, oxidative stress, neuroinflammation, and ion channel dysregulation. Despite its clinical importance, there are limited effective interventions

*Corresponding author; Email: islambulchilar.mina@gmail.com, islambulchilarm@tbzmed.ac.ir

© 2025 The Authors. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution CC BY 4.0 License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited

for managing VIPN due to the lack of well-defined molecular mechanisms. Therefore, exploring alternative or complementary therapeutic strategies is essential. Recent studies have suggested that natural compounds with antioxidant and anti-inflammatory properties might offer neuroprotective effects. Cromolyn sodium, an established mast cell stabilizer, and honey, a natural product rich in polyphenols and flavonoids with anti-inflammatory and antioxidant properties, have shown neuroprotective effects. This study aimed to investigate the protective roles of cromolyn and honey, individually and in combination, against VIPN in a murine model.

Methods

This experimental study was conducted on 81 healthy male Swiss albino mice, randomly divided into nine groups (n=9 per group). The groups were as follows: (1) Control (normal saline), (2) Vincristine-only, (groups 3-5) Cromolyn sodium at 6, 12, and 24 mg/kg, (groups 6-8) Honey at 50, 100, and 200 mg/kg, and (9) Combination of cromolyn sodium (6mg/kg) and honey (50 mg/kg), all administered intraperitoneally. Neuropathy was induced by intraperitoneal administration of vincristine (1 mg/kg) on day 4, following three days of normal saline injections. Treatments were given in three cycles of three consecutive days, followed by three rest days. The hot plate test was used to assess pain sensitivity at baseline and on specific days post-treatment (days 0, 4, 11, 18, and 25), with a cut-off time of 30 seconds at $55\pm 1^{\circ}\text{C}$. Blood samples were collected at the end of the study for biochemical analysis. Total antioxidant capacity (TAC) was measured using the ABTS method, and malondialdehyde (MDA) levels were determined by the thiobarbituric acid (TBA) assay to evaluate oxidative stress. Statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics software. Data were analyzed

using linear mixed models, one-way ANOVA, and Tukey's post-hoc tests, with statistical significance set at $P<0.05$.

Results

Vincristine administration led to a significant increase in pain sensitivity, as evidenced by a marked reduction in latency time in the hot plate test compared to the control group ($P<0.01$). This confirmed successful induction of peripheral neuropathy. However, pretreatment with both cromolyn sodium and honey showed dose-dependent protective effects against vincristine-induced hyperalgesia. Among the cromolyn sodium groups, the 12 mg/kg dose produced the most pronounced analgesic effect, significantly improving pain response latency in the hot plate test compared to the vincristine only group ($P<0.05$). Similarly, honey at doses of 100 and 200 mg/kg significantly alleviated pain sensitivity compared to the vincristine-only group ($P<0.05$). Biochemical analysis revealed that vincristine significantly elevated MDA levels, indicating increased oxidative stress, and reduced TAC, reflecting impaired antioxidant defense. Cromolyn sodium at 12 mg/kg effectively reduced MDA levels ($P<0.05$), demonstrating its antioxidant potential in a dose-dependent manner. While honey at 200 mg/kg significantly increased TAC levels ($P<0.01$), reflecting enhanced systemic antioxidant capacity. Interestingly, the combination of low-dose cromolyn sodium (6mg/kg) and honey (50 mg/kg) did not yield a synergistic effect in terms of pain latency. However, this combination did result in a significant reduction in MDA and an increase in TAC compared to the vincristine-only group ($P<0.05$), indicating a cumulative antioxidant benefit. Weight loss, a common side effect of vincristine, was mitigated by cromolyn sodium

at 6 and 12 mg/kg and honey at 50 mg/kg. However, higher doses of honey (100 and 200mg/kg) did not show a protective effect against weight loss. The combination treatment did not offer additional benefits over individual treatments in terms of pain sensitivity or weight stabilization. Importantly, no significant adverse effects were observed in any of the treatment groups, underscoring the safety and tolerability of both cromolyn sodium and honey in this experimental model. Statistical analysis confirmed significant differences across groups and time points for pain sensitivity, oxidative stress markers, and body weight ($P<0.05$).

Conclusion

This study provides compelling evidence that cromolyn sodium and honey, particularly at optimal doses, exhibit protective effects against vincristine-induced peripheral neuropathy in mice. The observed benefits are likely mediated

through modulation of oxidative stress and enhancement of antioxidant defenses, as indicated by reductions in MDA levels and increases in TAC. Cromolyn sodium at 12 mg/kg and honey at 100 and 200 mg/kg significantly improved pain sensitivity, while the combination of lower doses did not produce synergistic analgesic effects. Nonetheless, the combined treatment did enhance antioxidant status, suggesting potential complementary roles in mitigating oxidative damage. These findings support the potential use of cromolyn sodium and honey as adjunctive therapies for managing chemotherapy-induced neuropathy. Further research is warranted to optimize dosing strategies, explore long-term safety, and elucidate the molecular mechanisms underlying their neuroprotective effects. Ultimately, such interventions could contribute to improving the quality of life and treatment outcomes for patients undergoing chemotherapy.

اثر کرومولین سدیم و عسل بر دردهای نوروپاتی ناشی از وین کریستین: یک مطالعه تجربی روی موش سوری

مسلم نجفی^{۱*}، بهلول حبیبی اصل^{۱*}، حمیده نجفوی مایان^۲، مینا اسلامبولچیلار^{۳*}

^۱گروه فارماکولوژی و توکسیکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۲کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

چکیده

زمینه. نوروپاتی ناشی از شیمی درمانی یکی از عوارض جانبی مهم داروهای ضدسرطان مانند وین کریستین است که موجب افزایش حساسیت به درد و کاهش کیفیت زندگی بیماران می شود. با توجه به اهمیت دستیابی به راه حل هایی جهت کاهش این عوارض نامطلوب، مطالعه حاضر به بررسی اثرات محافظتی کرومولین سدیم و عسل در پیشگیری از نوروپاتی ناشی از وین کریستین در مدل های حیوانی پرداخته است.

روش کار. در این مطالعه تجربی، ۸۱ موش سوری نر به صورت تصادفی به ۹ گروه تقسیم شدند و وین کریستین "به عنوان القاکننده نوروپاتی تجویز شد." دوزهای مختلف کرومولین سدیم و عسل به تنهایی و به صورت ترکیبی بودند. تست HotPlate برای ارزیابی حساسیت به درد در روزهای مختلف مطالعه انجام شد. همچنین، ظرفیت توأم آنتی اکسیدانی (TAC) و سطح مالون دی آلدئید (MDA) اندازه گیری شدند.

یافته ها. تجویز کرومولین سدیم (۱۲ میلی گرم بر کیلوگرم) و عسل (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به طور معناداری حساسیت به درد را کاهش داد. به علاوه کرومولین در تمام دوزها باعث کاهش MDA شد و عسل ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم باعث بهبود سطح TAC شد. تجویز هم زمان کرومولین سدیم (۶ میلی گرم بر کیلوگرم) و عسل (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) اثر هم افزایی معناداری نشان نداد.

نتیجه گیری. یافته های این مطالعه نشان می دهد که کرومولین سدیم و عسل، به ویژه در دوزهای مناسب می توانند اثرات محافظتی در برابر نوروپاتی ناشی از وین کریستین داشته باشند. تحقیقات بیشتر برای تعیین دوزهای بهینه و بررسی مکانیسم های دقیق این اثرات توصیه می شود.

پیامدهای عملی. نتایج این مطالعه نشان می دهند کرومولین سدیم و عسل می توانند به عنوان درمان نگهدارنده برای کاهش نوروپاتی ناشی از شیمی درمانی استفاده شوند.

اطلاعات مقاله

سابقه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۴/۱/۱۸
اصلاح نهایی: ۱۴۰۴/۳/۲۰
پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۲۵
انتشار برخط:

کلید واژه ها:

- وین کریستین
- نوروپاتی محیطی
- کرومولین سدیم
- استرس اکسیداتیو
- عسل

مقدمه

به دردهای نوروپاتیک مبتلا هستند^۱ این نوع درد می تواند به دلایل مختلفی از جمله آسیب های مکانیکی به اعصاب، بیماری های متابولیکی، عفونت های ویروسی، ایسکمی و اختلال در عملکرد نوروترانسمیترها ایجاد شود. علاوه بر آن، برخی داروها از جمله داروهای ضد ویروس (زیدوودین، لامیوودین، استاودین و زالسیتابین)، داروهای ضدسرطان (ترکیبات پلاتین دار، آلکالوئیدهای وینکا)، تالیدوماید و آنتی بیوتیک هایی مانند مترونیدازول و ایزونیاژید می توانند منجر به بروز نوروپاتی گردند.^۲ مکانیسم های متعدد از جمله آسیب به DNA، اختلال در عملکرد

درد نوروپاتیک یکی از انواع دردهای مزمن و ناتوان کننده است که در اثر ضایعه یا بیماری های سیستم عصبی حسی رخ می دهد و به طور خاص فیبرهای عصبی محیطی از جمله الیاف A δ ، A β ، C و همچنین نورون های مرکزی را تحت تأثیر قرار می دهد. واژه "نوروپاتی" از ترکیب دو کلمه "نورو" به معنی عصب و "پاتی" به معنی آسیب است؛ مدیریت و درمان این نوع درد مزمن ناشی از آسیب مستقیم به اعصاب، نیاز به دقت و توجه خاص دارد. مطالعات نشان می دهند تقریباً ۷ الی ۱۰ درصد از جمعیت عمومی

*نویسنده مسؤول: ایمیل: islambulchilarmina@gmail.com و islambulchilarmina@tbzmed.ac.ir

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کپیروایت کامنز 4.0 (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

می‌شود. وین کریستین با مهار پلیمریزاسیون توبولین و تغییر در ساختار میکروتوبول‌های دوکی، می‌تواند باعث توقف سلول‌ها در مرحله متافاز شود که این فرآیند منجر به آسیب به آکسون‌ها می‌گردد. در نتیجه، نورون‌های آسیب‌دیده قادر به انتقال صحیح سیگنال‌های عصبی نیستند و این موضوع منجر به بروز دردهای شدید و مزمن (نوروپاتی) می‌شود که مدیریت آنها دشوار است.^۹ اختلال در عملکرد کانال‌های یونی، از دیگر مکانیسم‌های دخیل در بروز نوروپاتی است که منجر به تحریک‌پذیری بیش از حد نورون‌های حسی و سایر واکنش‌های نامطلوب در غشای پلاسمایی نورون‌های حسی شاخ پشتی نخاع (DRG) می‌شود، که این امر می‌تواند شدت دردهای نوروپاتیک را افزایش دهد. کانال‌های کلسیم، سدیم و پتاسیم وابسته به ولتاژ (Kv, Navs, Cavs) نقش کلیدی در تنظیم تحریک‌پذیری عصبی دارند. تغییرات در فعالیت این کانال‌ها، به‌ویژه در حضور داروهای شیمی‌درمانی مانند وین کریستین، می‌تواند به دردهای نوروپاتیک منجر شود. از دیگر مکانیسم‌های مهم درد نوروپاتیک می‌توان به التهاب و استرس اکسیداتیو اشاره کرد. التهاب ناشی از فعالیت بیش از حد سلول‌های ایمنی است و استرس اکسیداتیو، ناشی از عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در بدن است. التهاب و افزایش سطح رادیکال‌های آزاد می‌تواند منجر به تخریب بیشتر بافت‌های عصبی و تشدید دردهای مزمن شود.^{۱۰} همان‌گونه که پیش‌تر ذکر شد، CIPN یکی از مهم‌ترین عارضه‌های جانبی درمان سرطان است که می‌تواند کیفیت زندگی بیماران را به شدت تحت تأثیر قرار دهد. با توجه به اینکه درمان‌های موجود برای مدیریت دردهای نوروپاتیک ناشی از شیمی‌درمانی معمولاً ناکافی هستند و بسیاری از بیماران همچنان از دردهای شدید رنج می‌برند، نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه جهت یافتن روش‌های پیشگیری و درمان جدید ضروری است. یکی از حوزه‌های پژوهشی که اخیراً توجه زیادی را به خود جلب کرده است، استفاده از ترکیبات طبیعی یا برخی داروها با خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی به منظور پیشگیری و کاهش شدت دردهای نوروپاتیک است. عسل یک فراورده خوراکی طبیعی است که توسط زنبور عسل از شهد گل‌ها تهیه می‌شود. مطالعات نشان داده است خوردن عسل تأثیرات متعددی روی بهبود سلامتی انسان دارد. عسل به‌دلیل دارابودن ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، خواص ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و نوروپروتکتیو قوی دارد و ممکن است در کاهش آسیب‌ها و عوارض ناشی از شیمی‌درمانی مؤثر باشد.^{۱۱} از سوی دیگر دارویی مانند کرومولین سدیم که به‌عنوان یک تثبیت‌کننده غشاء ماست‌سل‌ها شناخته شده است، می‌تواند با مهار آزادسازی مدیاتورهای التهابی از ماست‌سل‌ها، در

میتوکندری و تغییر در فعالیت کانال‌های یونی، بروز و یا افزایش استرس اکسیداتیو در سلول‌های عصبی و افزایش عملکرد سیستم گلوتاماترژیک، در بروز دردهای نوروپاتیک ناشی از داروها دخیل هستند.^۳ در نتیجه، علائم بالینی ناشی از این نوع آسیب‌ها بسیار متنوع و بسته به نوع فیبرهای عصبی درگیر و بخش‌های مختلف درگیر در سیستم عصبی در بیماران مختلف متفاوت باشد. این علائم شامل احساس کرختی، گزگز، سوزش، ضعف عضلانی و در موارد شدیدتر، اختلالات اتونومیک مانند افت فشارخون وضعیتی و یبوست می‌باشد.^۴ با توجه به پیچیدگی‌های بروز و مکانیسم دردهای نوروپاتیک، یافتن روش‌های مؤثر برای پیشگیری و درمان این نوع دردها بسیار ضروری است. شیمی‌درمانی یکی از راه‌های عمده درمان سرطان است که هدف از آن نابود کردن سلول‌های سرطانی در حال تقسیم سریع است. با این حال، داروهای شیمی‌درمانی نه تنها سلول‌های سرطانی را هدف قرار می‌دهند، بلکه می‌توانند سلول‌ها و ساختارهای طبیعی بدن را نیز تغییر داده و با بروز عوارض جانبی متعدد کیفیت زندگی بیماران را به شدت تحت تأثیر قرار دهند. از مهم‌ترین این عوارض، نوروپاتی ناشی از شیمی‌درمانی (CIPN) است که معمولاً ناشی از آسیب به فیبرهای عصبی محیطی است و می‌تواند به صورت علائم حسی (مانند احساس کرختی، گزگز و سوزش)، علائم حرکتی (مانند ضعف عضلات و اختلال در راه رفتن)، و در موارد شدیدتر علائم اتونومیک (مانند افت فشار خون وضعیتی و تغییرات در عملکرد جنسی و ادراری) بروز یابد.^۵ وین کریستین، یکی از داروهای شیمی‌درمانی است که به‌طور گسترده در درمان انواع مختلفی از سرطان‌ها از جمله لوسمی‌ها (لنفوسیتیک و میلوئید)، لنفوما (هوچکین و غیر هوچکین) و سایر سرطان‌ها (نوروبلاستوما، رابدومیوسارکوما، سرطان پستان، ملانوما، تومور ویلمز و ...) استفاده می‌شود.^۶ این دارو از راه مهار تشکیل میکروتوبول‌های دوکی در سلول‌های در حال تقسیم، تقسیم سلولی را در مرحله متافاز متوقف می‌کند.^۷ اگرچه این مکانیسم باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌گردد، اما می‌تواند تأثیرات جانبی نامطلوب روی بافت‌های غیرسرطانی داشته باشد. مثلاً تأثیرات جانبی وین کریستین بر نورون‌ها، به‌ویژه نورون‌های محیطی، می‌تواند نوروپاتی محیطی ایجاد کند. نوروپاتی ناشی از وین کریستین (VIPN) معمولاً به‌صورت آسیب‌های متقارن و اتونومیک در اعصاب بروز می‌کند و می‌تواند منجر به علائمی نظیر پarestزی، کرختی انگشتان، آتاکسی و ضعف حرکتی شود.^۸ مکانیسم‌های مختلفی در بروز دردهای نوروپاتیک دخیل هستند. یکی از این مکانیسم‌ها، آسیب مستقیم به سلول‌های عصبی و به‌ویژه آکسون‌ها است که باعث اختلال در انتقال سیگنال‌های عصبی

کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو نقش مؤثری ایفا کند و اثرات نوروپروتکتیوی از خود نشان دهد.^{۱۲، ۱۳} با توجه به این ویژگی‌ها، ترکیب کرومولین سدیم و عسل می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد نوین در پیشگیری از بروز دردهای نوروپاتیک ناشی از شیمی‌درمانی مورد بررسی قرار گیرد. این مطالعه برای نخستین بار به بررسی اثرات پیشگیرانه ترکیبی کرومولین سدیم و عسل در پیشگیری از نوروپاتی ناشی از وین‌کریستین در مدل‌های حیوانی می‌پردازد. با توجه به خواص ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی این دو ترکیب، هدف اصلی این تحقیق بررسی امکان پیشگیری از نوروپاتی ناشی از وین‌کریستین از طریق استفاده تکی و همزمان از این دو ماده با دوز کم است. انتظار می‌رود که تجویز دوزهای پایین آنها بتواند به‌طور مؤثری از بروز و یا شدت دردهای نوروپاتیک بکاهد. با توجه به اینکه CIPN می‌تواند همکاری بیمار در رژیم‌های شیمی‌درمانی را کاهش داده و حتی منجر به توقف درمان شود، نتایج این مطالعه و مطالعات مشابه می‌تواند راهکار جدیدی برای کاهش دردهای نوروپاتیک و بهبود کیفیت زندگی بیماران مبتلا به سرطان باشد.

روش کار

سرم نرمال سالین ۰/۹ درصد از شرکت داروسازی شهید قاضی (تهران، ایران) در ایران خریده شد. ویال وین‌کریستین از شرکت Cipla (بمبئی، هندوستان) تهیه شد. عسل مورد استفاده مربوط به منطقه سیه‌رود در استان آذربایجان شرقی بود. برگ آنالیز این عسل نشان داد که حاوی قندهای احیایی، فروکتوز، ساکاروز، آنزیم دیستاز، رطوبت، هیدروکسی متیل فورفورال (H.M.F)، خاکستر، اسیدیته و pH مطلوب بوده و فاقد آلودگی‌های میکروبی از قبیل کپک و مخمر است. پودر کرومولین سدیم از شرکت سینا دارو (تهران، ایران) خریداری شد. کتامین و زایلازین از شرکت آلفاسان (اوتریخت، هلند) تهیه شدند. در این مطالعه از موش‌های سوری نر سالم (از نژاد سویس آلبنو، وزن 30 ± 5 گرم، سن ۸-۱۰ هفته) استفاده شد. موش‌ها از مرکز تحقیقات و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه تهیه شدند. هر گروه از موش‌ها در داخل یک قفس استاندارد از جنس پلی‌پروپیلن نگهداری شدند. شرایط نگهداری شامل دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 50 ± 10 درصد، تغذیه آزاد و چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی/۱۲ ساعت تاریکی بود. پروتکل‌ها و روش‌های مطالعه مطابق راهنمای NIH برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی طراحی شد^{۱۴} و توسط کمیته اخلاق دانشگاه تصویب گردید. تعداد کل موش‌ها ۸۱ عدد بود که به‌طور

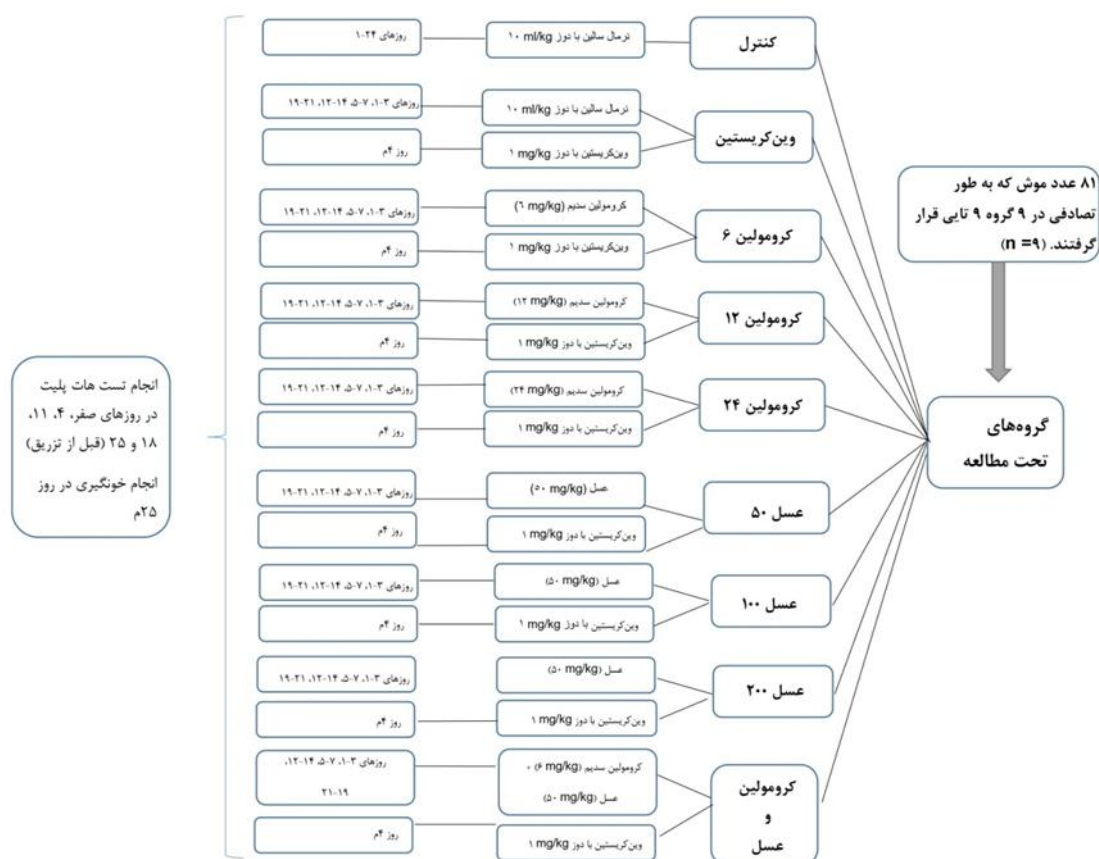
تصادفی در ۹ گروه ۹ تایی قرار گرفتند. همه تزریق‌ها به‌صورت داخل صفاقی (ساعت ۱۰ الی ۱۲ صبح) انجام شد. گروه‌بندی به‌صورت دیاگرام در شکل ۱ مشهود است. گروه‌های مورد مطالعه به شرح زیر بودند: گروه کنترل (سالین+ سالین): موش‌های این گروه به مدت ۲۴ روز نرمال سالین با دوز ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند. این گروه به‌عنوان گروه شاهد مورد استفاده قرار گرفت. گروه وین‌کریستین (وین‌کریستین+ سالین): موش‌های این گروه در ۳ روز اول نرمال سالین با دوز ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند و در روز چهارم، وین‌کریستین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. در ادامه ۳ چرخه ۷ روزه به‌صورت ۳ روز تزریق نرمال سالین، ۳ روز استراحت و ۱ روز تست هات‌پلیت طی شد.^{۱۵} گروه کرومولین ۶: موش‌های این گروه در ۳ روز اول کرومولین سدیم (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند و در روز چهارم وین‌کریستین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی به آنها تزریق شد. در ادامه ۳ چرخه ۷ روزه به‌صورت ۳ روز تزریق کرومولین سدیم، ۳ روز استراحت و ۱ روز تست هات‌پلیت طی شد. گروه ۲۴: موش‌های این گروه در ۳ روز اول کرومولین سدیم (۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند و در روز چهارم وین‌کریستین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی به آنها تزریق شد. در ادامه ۳ چرخه ۷ روزه به‌صورت ۳ روز تزریق کرومولین سدیم، ۳ روز استراحت و ۱ روز تست هات‌پلیت طی شد. گروه ۱۰۰: موش‌های این گروه در ۳ روز اول عسل (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند و در روز چهارم وین‌کریستین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی به آنها تزریق شد. در ادامه ۳ چرخه ۷ روزه به‌صورت ۳ روز تزریق عسل، ۳ روز استراحت و ۱ روز تست هات‌پلیت طی شد. گروه عسل ۱۰۰: موش‌های این گروه در ۳ روز اول عسل (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند و در روز چهارم وین‌کریستین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی به آنها تزریق شد. در ادامه ۳ چرخه ۷

شد. برای اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی از تست MDA استفاده شد. این تست بر اساس متد تیوباربیتوریک اسید (TBA) انجام گرفت،^{۱۷} استانداردهای مالون دی‌آلدئید با استفاده از ۱۰ و ۳ و ۳۰ تترامتوکسی پروپان (C7H16O4) در شش غلظت مختلف ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۲ نانو مول در میلی‌لیتر با استفاده از حل کردن در آب دیونیزه تهیه و برای رسم منحنی استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. معادله منحنی استاندارد MDA به دست آمد:

$$y = 0.1965x + 0.0075 (R^2 = 0.9935)$$

y نشانگر جذب در ۵۳۲ نانومتر و X نشانگر غلظت MDA (نانومول در میلی‌لیتر) است. در این بخش از مطالعه، از کیت Lipid peroxidation (MDA) assay kit, Navand Salamat, (Iran) استفاده شد. طبق پروتکل سازنده، سرم حیوانات مورد مطالعه با معرف‌های مربوطه مخلوط شد تا در نهایت ترکیب رنگی حاصل شود، جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از آنالایزر (Abbott, model Alcyon 300, USA) در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد. سطح مالون دی‌آلدئید از روی منحنی استاندارد تعیین شد. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار IBM SPSS Statistics نسخه ۲۰ (شرکت IBM، آرمانک، نیویورک، ایالات متحده آمریکا) انجام شد. کلیه داده‌های متن، جداول و شکل‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین (Mean $\pm$ SEM) بیان شد. برای ارزیابی اثربخشی رژیم‌های درمانی مختلف بین دو گروه، از آزمون آماری paired T-test و برای بیش از دو گروه از one way ANOVA و پس‌آزمون Tukey استفاده شد. به منظور بررسی تغییرات حس درد در طول زمان و تغییرات وزن در طول زمان روش REML و مدل کواریانس غیر ساختار یافته به کار رفت. مقدار $P < 0.05$ به عنوان نشانگر اختلاف آماری معنادار تلقی شد.

روژه به صورت ۳ روز تزریق عسل، ۳ روز استراحت و ۱ روز تست هات پلیت طی شد. گروه عسل ۲۰۰: موش‌های این گروه در ۳ روز اول عسل (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند و در روز چهارم وین کریستین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به آنها تزریق شد. در ادامه ۳ چرخه ۷ روزه به صورت ۳ روز تزریق عسل، ۳ روز استراحت و ۱ روز تست هات پلیت طی شد. گروه کرومولین ۶ و عسل ۵۰ توأم: موش‌های این گروه در ۳ روز اول همزمان عسل (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کرومولین سدیم (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند و در روز چهارم وین کریستین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به آنها تزریق شد. در ادامه ۳ چرخه ۷ روزه به صورت ۳ روز تزریق عسل و کرومولین، ۳ روز استراحت و ۱ روز تست هات پلیت طی شد. برای ارزیابی تأثیر رژیم‌های پیش‌درمانی مختلف این مطالعه روی آستانه درد از تست هات پلیت استفاده شد. "آستانه درد حیوانات مورد مطالعه در تمام گروه‌ها در روز صفر و روزهای ۴، ۱۱، ۱۸ (در ساعت ۸ الی ۱۰ صبح و با فاصله دو ساعت قبل از تزریق‌ها) با هات پلیت بررسی شد." در این مطالعه، دستگاه در دمای 55 ± 1 درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و حداکثر محدوده زمانی تحریک (Cut off Time) برابر با ۳۰ ثانیه در نظر گرفته شد. حیوانات با تزریق مخلوط کتامین و زایلازین با نسبت ۱۰ واحد کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، داخل صفاقی) به ۱ واحد زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، داخل صفاقی) بیهوش شدند و پس از بیهوشی، خون‌گیری از آئورت شکمی انجام شد. سپس نمونه‌های خون به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ (۳۵۰۰ دور) شدند. برای ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها از تست TAC استفاده شد. در این مطالعه از متد میلر و همکاران برای سنجش TAC بهره گرفته شد که اساس آن کاهش رادیکال ABTS توسط ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه است.^{۱۶} در این تست از کیت TAC (Total Antioxidant Capacity Assay Kit, Navand Salamat, Iran) استفاده شد. طبق پروتکل سازنده، سرم حیوانات مورد مطالعه با معرف‌های مربوطه مخلوط شد. جذب نوری نمونه‌ها توسط آنالایزر (Abbott, model Alcyon 300, USA) در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید و سطح TAC از روی منحنی استاندارد تعیین



شکل ۱. دیاگرام عملی گروه‌های تحت مطالعه

یافته‌ها

شکل ۲ مشاهده می‌گردد، تزریق وین کریستین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی موجب کاهش معنادار زمان واکنش به درد در روزهای ۱۱، ۱۸ و ۲۵ در موش‌های گروه وین کریستین نسبت به موش‌های گروه کنترل (سالین) شد ($P < ۰/۰۱$). این امر نشانگر القای موفقیت آمیز نوروپاتی (افزایش حساسیت به درد) با تجویز وین کریستین است.

تجویز کرومولین سدیم: در بخش ب شکل ۲ تأثیر تجویز دوزهای مختلف کرومولین سدیم (۶، ۱۲ و ۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر نوروپاتی ناشی از وین کریستین مشاهده می‌گردد. تزریق کرومولین سدیم با دوز ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روزهای ۱۸ و ۲۵ به‌طور معناداری زمان واکنش به درد را نسبت به گروه وین کریستین افزایش داد ($P < ۰/۰۵$). این یافته نشان‌دهنده بهبود مؤثر حساسیت به درد ناشی از نوروپاتی ایجاد شده توسط وین کریستین توسط دوز ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم کرومولین سدیم است. دوزهای ۶ و ۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم کرومولین سدیم فاقد

بررسی تغییرات آستانه درد در طول زمان با تحلیل مدل آمیخته خطی (Linear Mixed Model, REML, unstructured covariance) با در نظر گرفتن اثرات ثابت گروه، زمان و تعامل گروه $\times$ زمان نشان داد که آستانه درد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع درمان، زمان و تعامل آنها قرار گرفته است. مطابق با این نتایج، پاسخ به درد گروه‌ها در طول درمان متغیر است ($P < ۰/۰۰۱$) $(F(۶۹, ۸/۳۲۲) = ۵/۴۷۶, P < ۰/۰۰۱)$. همچنین، واکنش گروه‌ها به درد در طول زمان (روزهای مختلف) متفاوت بود ($P < ۰/۰۰۱$) $(F(۴, ۶۹/۵۰۵) = ۱۰/۲۷۶, P < ۰/۰۰۱)$. تأثیر تعاملی گروه در زمان نشان داد که تأثیر مداخلات در زمان‌های مختلف متفاوت است ($P < ۰/۰۰۱$) $(F(۳۲, ۶۹/۵۳۲) = ۲/۴۶۸, P < ۰/۰۰۱)$.

تأثیر مداخلات مختلف بر حساسیت به درد ناشی از وین کریستین بررسی شد و نتایج حاصل در شکل ۲ نشان داده شده است. نوروپاتی ناشی از وین کریستین: همان‌گونه که در بخش الف

تأثیر معنی‌دار بر بهبود نوروپاتی ناشی از وین کریستین بودند. تجویز عسل: در بخش ج از شکل ۲ تأثیر تجویز دوزهای مختلف عسل (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر نوروپاتی ناشی از وین کریستین مشاهده می‌گردد. تجویز عسل در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث بهبود مؤثر حساسیت به درد ناشی از وین کریستین می‌گردد. دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روزهای ۱۱ و ۱۸ و ۲۵ ($P < 0.05$) و دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روزهای ۱۱ و ۱۸ و ۲۵ به‌طور معناداری زمان واکنش به درد را نسبت به گروه وین کریستین تنها افزایش داد ($P < 0.05$). این پاسخ نشانگر بهبود مؤثر افزایش حساسیت به درد حاصل از نوروپاتی ایجاد شده توسط وین کریستین با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عسل است. دریافت دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فاقد تأثیر مؤثر بود. درمان توأم (کرومولین سدیم و عسل): در بخش د شکل ۲ تأثیر تجویز هم‌زمان دوز پایین عسل (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کرومولین سدیم (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر نوروپاتی ناشی از وین کریستین مشاهده می‌گردد. تزریق توأم هر یک به‌تنهایی تفاوت معناداری در زمان واکنش به درد نشان نداد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که ترکیب دوزهای پایین کرومولین سدیم (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و عسل (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با تزریق تکی هر کدام، اثر افزوده معناداری نشان نداد. تغییرات وزن موش‌ها در طی مطالعه: بررسی تغییرات وزن در طول زمان با تحلیل مدل آمیخته خطی (Linear Mixed Model, REML, unstructured covariance) و با در نظر گرفتن اثرات ثابت گروه، زمان و تعامل گروه $\times$ زمان نشانگر معنی‌دار بودن هر سه مورد بود (هر سه $P < 0.001$). اثر گروه نشان می‌دهد که میانگین وزن در گروه‌های مختلف متفاوت است ($F(8, 69/74) = 11/109, P < 0.001$). اثر زمان نشانگر تغییر وزن در طی زمان است ($P < 0.001$).

$F(4, 61/51) = 247/476$. همچنین، اثر تعاملی گروه $\times$ زمان نشان-دهنده تأثیر متفاوت درمان‌ها در طی زمان بود ($P < 0.001$). $F(32, 71/34) = 33/395$. کاهش وزن ناشی از وین کریستین: تجویز وین کریستین در گروه وین کریستین باعث کاهش وزن معنادار موش‌ها در مقایسه با گروه کنترل (سالین) شد (4 ± 0.7 در مقایسه با 3 ± 0.7 ; $P < 0.01$). در جدول ۱ تغییرات وزن حیوانات در طول مطالعه مشاهده می‌گردد. تجویز کرومولین سدیم: تجویز کرومولین سدیم با دوزهای مختلف (۶، ۱۲ و ۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در حیوانات دریافت‌کننده وین کریستین باعث کاهش مقدار تغییرات وزن (ΔW) در مقایسه با گروه وین-کریستین و بروز تفاوت‌های معنی‌دار در میزان تغییرات وزن شده است (به‌ترتیب 0.23 ± 0.04 در مقایسه با 0.3 ± 0.01 ; $P < 0.01$ و 0.189 ± 0.05 در مقایسه با 0.3 ± 0.01 ; $P < 0.001$ و 0.22 ± 0.08 در مقایسه با 0.3 ± 0.01 ; $P < 0.01$). این یافته نشانگر تأثیر مثبت این دارو بر بهبود اثرات کاهنده وزن وین کریستین است.

تجویز عسل: تجویز عسل با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در حیوانات دریافت‌کننده وین کریستین باعث کاهش مقدار تغییرات وزن (ΔW) در مقایسه با گروه وین کریستین و بروز تفاوت معنی‌دار در میزان تغییرات وزن شده است (0.3 ± 0.1 در مقایسه با 0.3 ± 0.01 ; $P < 0.001$). این یافته نشانگر تأثیر مثبت دریافت این دوز عسل بر کاهش اثرات کاهنده وزن وین کریستین است. در حالی‌که تجویز عسل با دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در حیوانات دریافت‌کننده وین کریستین باعث کاهش وزن معنی‌دار موش‌ها در مقایسه با گروه کنترل شده است ($P < 0.01$). تغییرات وزن این گروه‌ها فاقد تفاوت معنی‌دار با گروه وین کریستین می‌باشد ($P > 0.05$).

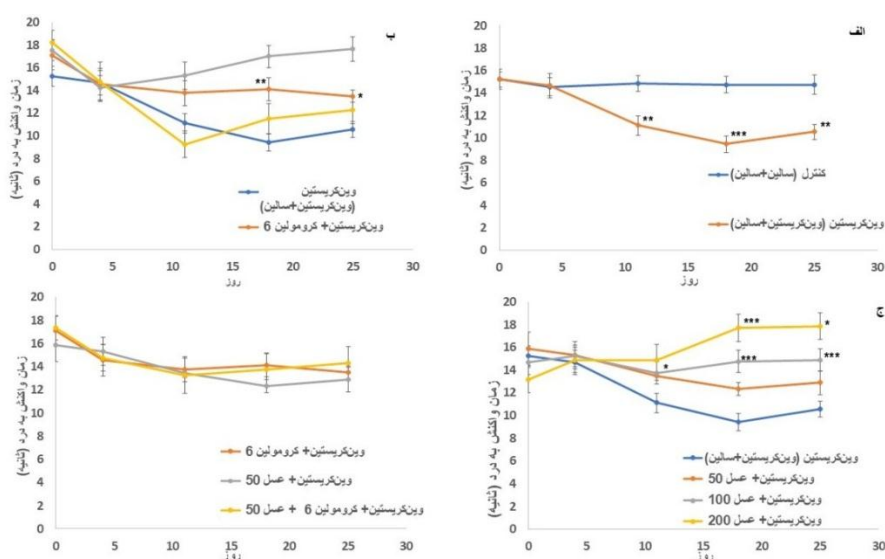
جدول ۱. تغییرات وزن موش‌ها در گروه‌های مختلف مطالعه

گروه‌های مورد مطالعه	روز صفر	روز ۴	روز ۱۱	روز ۱۸	روز ۲۵	تغییر وزن
کنترل	۲۴/۳	۲۴/۵	۲۴/۲	۲۶/۱	۲۸/۳	4 ± 0.7
وین کریستین	۲۸/۶	۲۹/۴	۲۷/۱	۲۶/۵	۲۵/۳	3 ± 0.7 ###
کرومولین ۶	۲۳/۸	۲۴/۱	۲۱/۶	۲۳/۴	۲۴	0.23 ± 0.04 ***
کرومولین ۱۲	۲۹/۴	۳۰/۴	۲۸/۴	۳۱	۳۱/۳	0.189 ± 0.05 ***
کرومولین ۲۴	۳۱/۲	۳۰/۸	۲۶/۹	۲۹/۵	۳۱	0.22 ± 0.08 ***
عسل ۵۰	۲۷/۳	۲۸/۶	۲۷/۸	۲۹/۳	۲۶/۱	0.3 ± 0.01 ***
عسل ۱۰۰	۲۶/۱	۲۵/۷	۲۲/۶	۲۲/۹	۲۳/۷	0.3 ± 0.01 ##
عسل ۲۰۰	۲۸/۸	۲۸/۵	۱۲/۲	۲۴/۹	۲۴/۴	0.3 ± 0.01 ###
کرومولین ۶ + عسل ۵۰	۲۸/۵	۲۸/۵	۲۶/۱	۲۸/۳	۲۹/۸	0.22 ± 0.08 ***

$P < 0.01$ ## و $P < 0.001$ ### در مقایسه با گروه کنترل

$P < 0.01$ ** و $P < 0.001$ *** در مقایسه با گروه وین کریستین

تغییر وزن: تغییرات وزن روز صفر تا روز ۲۵



شکل ۲. تأثیر مداخلات مختلف بر حساسیت به درد ناشی از وین کریستین به صورت مقایسه‌ای:

(الف) مقایسه بین گروه کنترل و گروه وین کریستین

(ب) مقایسه بین گروه‌های دریافت‌کننده کرومولین سدیم با دوزهای مختلف (۶، ۱۲ و ۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه وین کریستین

(ج) مقایسه بین گروه‌های دریافت‌کننده عسل با دوزهای مختلف (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه وین کریستین

(د) مقایسه بین گروه دریافت‌کننده کرومولین سدیم (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و عسل (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) توأم با گروه کرومولین سدیم (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به تنهایی و گروه عسل (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به تنهایی

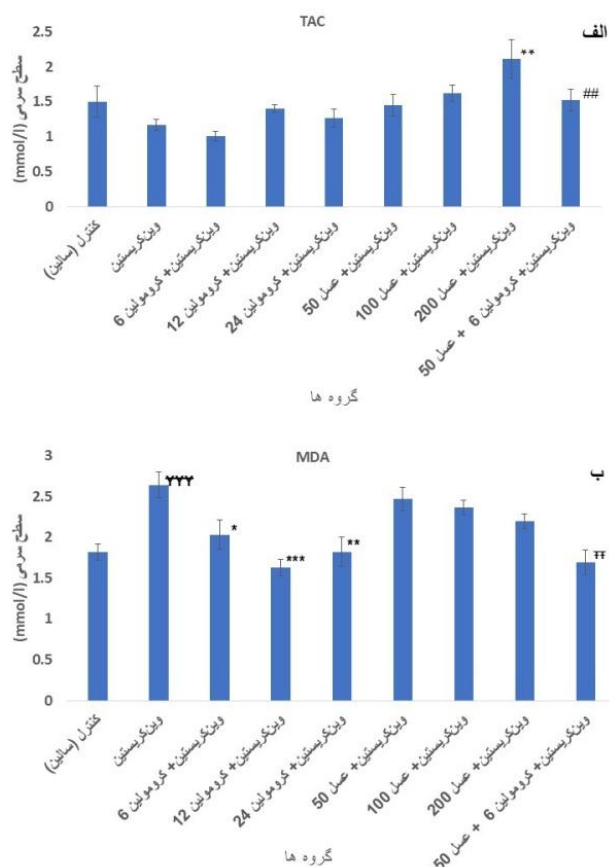
$P < 0.05$: *، $P < 0.01$: ** و $P < 0.001$: *** در مقایسه با گروه وین کریستین

است ولی این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). تجویز کرومولین سدیم با دوزهای مختلف (۶، ۱۲ و ۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در حیوانات دریافت‌کننده وین کریستین باعث تغییر محسوس در سطح TAC در مقایسه با گروه وین کریستین نشد و نتایج فاقد تفاوت معنی‌دار از لحاظ آماری بود ($P > 0.05$). تجویز عسل با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش سطح TAC در مقایسه با گروه وین کریستین و ایجاد تفاوت آماری معنی‌دار شد ($P < 0.01$) که نشان‌دهنده تأثیر مثبت عسل در این دوز خاص بر کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دریافت وین کریستین بود. تجویز توأم عسل با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کرومولین سدیم با دوز ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش سطح TAC در مقایسه با گروه کرومولین سدیم (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) شد و این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.01$). با این حال، تغییر سطح TAC این گروه فاقد تفاوت آماری معنی‌دار با گروه عسل ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود ($P > 0.05$). تجویز وین کریستین در گروه وین کریستین باعث افزایش سطح MDA در مقایسه با گروه کنترل (سالمین) شده است و این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار است ($P < 0.05$). افزایش MDA نشان‌دهنده افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از وین کریستین است. تغییرات MDA در گروه‌های مختلف از لحاظ گروه مداخله، دوز و تأثیر تعاملی گروه

این یافته نشان می‌دهد که دریافت این دو دوز عسل بر اثرات کاهنده وزن وین کریستین بی‌تأثیر است. تجویز توأم عسل با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کرومولین سدیم با دوز ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم در حیوانات دریافت‌کننده وین کریستین موجب کاهش وزن معنی‌دار موش‌ها در مقایسه با گروه کنترل شد ($P < 0.001$). با این حال، تغییرات وزن این گروه فاقد تفاوت آماری معنی‌دار با گروه وین کریستین یا گروه‌های دریافت‌کننده هر یک به تنهایی بود ($P > 0.05$). این یافته بیانگر عدم تأثیر مثبت دریافت توأم این دو ماده بر اثرات کاهنده وزن وین کریستین است. بیومارکرهای TAC و MDA: در شکل ۳ تغییرات سطح بیومارکرهای TAC و MDA در گروه‌های مختلف مشاهده می‌گردد. تغییرات TAC در گروه‌های مورد مطالعه از لحاظ گروه مداخله، دوز و تأثیر تعاملی گروه مداخله و دوز مورد بررسی قرار گرفت. تأثیر نوع مداخله نشانگر تغییر معنی‌دار سطح TAC در مداخلات مختلف است ($P < 0.001$). تأثیر دوز نیز تغییر معنی‌دار سطح TAC در دوزهای مختلف را نشان داد ($F = 4.415$, $P < 0.05$). تأثیر تعاملی نوع مداخله × دوز بر سطح TAC نیز از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($F = 2.48$, $P > 0.05$) که این امر عدم تأثیر توأم مداخله و دوز را بر سطح TAC نشان می‌دهد. تجویز وین کریستین در گروه وین کریستین باعث کاهش سطح TAC در مقایسه با گروه کنترل شده

حیوانات دریافت‌کننده وین‌کریستین باعث تغییر در سطوح MDA در مقایسه با گروه وین‌کریستین نشد و نتایج فاقد تفاوت معنی‌دار آماری بود ($P > 0.05$). تجویز توأم عسل با دوز ۵۰ میلی-گرم بر کیلوگرم و کرومولین سدیم با دوز ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش سطح MDA در مقایسه با گروه وین‌کریستین شده است و این کاهش از نظر آماری معنی‌دار بود ($0.05 < P$) در مقایسه با 0.45 ± 0.169 ؛ $P < 0.05$. تجویز توأم دوز پایین کرومولین و عسل منجر به کاهش معنی‌دار سطح MDA در مقایسه با گروه عسل با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم شده است (هر دو $P < 0.05$). با این حال، تغییر سطح MDA در این گروه فاقد تفاوت معنی‌دار با گروه کرومولین ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود ($P > 0.05$).

مداخله و دوز مورد بررسی قرار گرفت. تأثیر نوع مداخله نشان‌دهنده تغییر معنی‌دار سطح MDA در مداخلات مختلف بود ($F = 15.614, P < 0.001$). تأثیر دوز بر سطح MDA از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($F = 2.015, P > 0.05$). این یافته بدان معنی است که دوز به‌تنهایی قادر نیست بر سطح MDA تأثیر بگذارد. تأثیر تعاملی نوع مداخله $\times$ دوز بر سطح MDA نیز از لحاظ آماری معنی‌دار نشان داده نشد ($F = 0.868, P > 0.05$) که بیانگر عدم تأثیر توأم مداخله و دوز بر سطح MDA است. تجویز کرومولین سدیم با دوز ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم در حیوانات دریافت‌کننده وین‌کریستین باعث کاهش سطح MDA در مقایسه با گروه وین‌کریستین و بروز تفاوت معنی‌دار آماری شده است ($P < 0.01$). این یافته تأثیر مثبت این دوز بر کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دریافت وین‌کریستین را نشان می‌دهد. تجویز عسل با دوزهای مختلف (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در هیچ گروهی از



شکل ۳. تغییرات سطح بیومارکهای TAC و MDA در گروه‌های مختلف. $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$ و $P < 0.0001$ در مقایسه با گروه کنترل $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$ و $P < 0.0001$ در مقایسه با گروه وین‌کریستین $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$ و $P < 0.0001$ در مقایسه با گروه کرومولین ۶ $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$ و $P < 0.0001$ در مقایسه با گروه عسل ۵۰

بحث

وین کریستین، یک داروی شیمی درمانی است که باعث ایجاد نوروپاتی محیطی از طریق مکانیسم‌های متعدد از جمله التهاب و استرس اکسیداتیو می‌شود. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که ویژگی‌های نوروپروتکتیوی در کرومولین سدیم (تثبیت‌کننده غشای ماست سل‌ها) و عسل (ماده طبیعی با خواص ضد التهابی و آنتی اکسیدانی) است.^{۱۲، ۱۸} مطالعه حاضر به بررسی اثرات تجویز دوزهای پایین کرومولین سدیم و عسل بر نوروپاتی (حساسیت به درد) ناشی از وین کریستین و احتمال وجود اثرات سینرژیستیک در دوزهای کمتر از دوز مؤثر در موش‌ها پرداخت. در مطالعه حاضر، تزریق وین کریستین منجر به کاهش معنادار زمان واکنش به درد شد که نشانگر القای موفقیت‌آمیز نوروپاتی است. این یافته مطابق با مطالعات پیشین است که نشان داده‌اند وین کریستین از طریق آسیب عصبی و التهاب، باعث ایجاد نوروپاتی محیطی می‌شود.^{۱۵} تجویز کرومولین سدیم با دوز ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم، زمان واکنش به درد را به‌طور معنی داری بهبود بخشید. این یافته با مطالعات قبلی که نشان داده‌اند کرومولین سدیم از طریق تثبیت ماست سل‌ها، کاهش التهاب و کاهش استرس اکسیداتیو می‌تواند اثرات محافظتی روی بافت عصبی داشته باشد، مطابقت دارد.^{۱۲، ۱۳} کرومولین باعث مهار دگرانولاسیون ماست سل‌ها و در نتیجه کاهش رهاسازی هیستامین و پروتئاز می‌شود که این امر می‌تواند منجر به کاهش التهاب نوروپاتی گردد. از سوی دیگر کرومولین می‌تواند موجب سرکوب مسیریهای NF- κ B و سیکلواکسیژناز ۲ و نهایتاً کاهش تخریب نورونها گردد.^{۱۹} نتایج حاصل از مطالعه ما نشان داد که عسل، به‌ویژه در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، موجب بهبود معنادار واکنش به درد می‌شود. این یافته با مطالعات قبلی که نشان داده‌اند عسل از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و مهار مسیریهای التهابی، باعث ایجاد اثرات محافظتی بر سیستم عصبی و مهار مستقیم یا غیرمستقیم درد می‌گردد، مطابقت دارد.^{۱۸} ترکیبات پلی‌فنلی عسل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را زوده و لیپیدپراکسیداسیون را در بافت‌های عصبی مهار می‌کنند.^{۲۰} مطالعات نشان داده‌اند که عسل باعث افزایش سطح گلوتاتیون و سوپراکسیددیسموتاز و کاهش سطح مالون-دی‌آلدئید (MDA) می‌شود. با توجه به این نکته که مطالعات نشان می‌دهند سطح MDA رابطه مستقیم با رفتارهای ناشی از درد دارد،^{۲۱} کاهش سطح آن در مطالعه حاضر می‌تواند توجیه‌کننده کاهش حساسیت به درد مشاهده شده باشد. تجویز همزمان پایین‌ترین دوزهای (دوزهای فاقد تأثیر کاهنده درد معنی‌دار) کرومولین سدیم (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و عسل (۵۰

میلی‌گرم بر کیلوگرم) تأثیر معناداری بر کاهش حساسیت به درد نداشت. این یافته نشان می‌دهد که کرومولین سدیم و عسل در دوزهای فوق‌الذکر، فاقد اثر هم‌افزایی هستند. تجویز وین کریستین منجر به کاهش معنادار وزن بدن شد. این نتیجه با یافته‌های مطالعات قبلی که نشان داده‌اند وین کریستین به دلیل اثرات سمیت سلولی (سیتوتوکسیک) و عوارض نامطلوب بر سیستم گوارشی، موجب کاهش وزن می‌شود، همسو است.^{۲۲} کرومولین سدیم در دوزهای ۶ و ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کاهش وزن ناشی از وین کریستین را تا حدی تعدیل کرد که احتمالاً به دلیل خواص ضدالتهابی آن در کاهش استرس سیستمیک و اختلالات متابولیکی است. این یافته‌ها با نتایج برخی از مطالعات قبلی که نشان می‌دهند تجویز کرومولین در برخی بیماری‌ها باعث تأخیر کاهش وزن می‌گردد، مطابقت دارند.^{۲۳} با این حال، دوز ۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم این اثر را نداشت، چراکه تأثیر این دارو ممکن است به‌صورت وابسته به دوز باشد. از سوی دیگر، این یافته با نتایج دسته‌ای دیگر از مطالعات در تناقض است. این مطالعات نشان داده‌اند که کرومولین اثرات کاهنده وزن و کنترل‌کننده وزن دارد.^{۲۴} ممکن است علت این تناقض، تفاوت در دوزهای مورد مطالعه یا ماهیت متفاوت بیماری‌های مورد مطالعه و داروهای همزمان باشد. همچنین، در مطالعه حاضر، دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عسل به‌طور مؤثری از کاهش وزن جلوگیری کرد؛ در حالی که دوزهای بالاتر (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) اثر پیشگیری‌کننده واضحی نداشتند. مطالعات قبلی نیز نشان داده‌اند که مصرف متعادل عسل می‌تواند وضعیت متابولیکی را بهبود بخشد، اما در دوزهای بالاتر ممکن است اثرات مطلوب آن کاهش یابد.^{۲۵} تجویز همزمان پایین‌ترین دوزهای کرومولین سدیم (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و عسل (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تأثیر معناداری بر جلوگیری از کاهش وزن نداشت. وین کریستین باعث افزایش معنادار سطح MDA شد که نشان‌دهنده افزایش استرس اکسیداتیو است. این یافته با مطالعات پیشین که نشان داده‌اند وین کریستین از طریق ایجاد آسیب اکسیداتیو به سلول‌های عصبی، نوروپاتی ایجاد می‌کند، مطابقت دارد.^{۲۶} کرومولین سدیم در دوز ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب کاهش معنادار سطح MDA شد که بیانگر خواص آنتی‌اکسیدانی آن است. این یافته با مطالعات پیشین که نشانگر اثرات آنتی‌اکسیدانی و کاهنده سطح MDA کرومولین هستند مطابقت دارد.^{۲۷} عسل نیز در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC) شد که نشان‌دهنده نقش محافظتی آن در برابر استرس اکسیداتیو است. این یافته نیز با یافته‌های مطالعات پیشین که

بخش عملی پژوهش و نگارش گزارش اولیه؛ مینا اسلامبولچیلار: مشارکت در طراحی روش‌شناسی، نظارت بر مراحل پژوهش، تحلیل آماری داده‌ها، بررسی نتایج، نگارش اولیه و ویرایش مقاله. تمام نویسندگان نسخه نهایی مقاله را مطالعه و تأیید نموده و همچنین مسئولیت محتوای آن را بر عهده دارند.

منابع مالی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی تبریز محل مطالعه تحت گرنت شماره ۶۷۸۴۱ انجام شده است. حامی مالی نقشی در طراحی مطالعه، جمع‌آوری داده‌ها، تحلیل نتایج یا تهیه مقاله نداشته است.

دسترس‌پذیری داده‌ها

داده‌های به‌دست‌آمده از این پژوهش در صورت درخواست، در دسترس پژوهشگران علاقه‌مند قرار خواهد گرفت. برای دریافت اطلاعات بیشتر، می‌توان با نویسنده مسئول مکاتبه کرد.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه مطابق با اصول اخلاقی مندرج در معاهده هلسینکی انجام شده است. همچنین، این پژوهش دارای کد تأییدیه اخلاق از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز با کد اخلاق (IR.TBZMED.VCR.REC.1400.230) می‌باشد. تمامی پروتکل‌ها و روش‌های کار با حیوانات مطابق راهنمای NIH برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی طراحی شد است.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ‌گونه تعارض منافی در ارتباط با این مطالعه وجود ندارد.

بیانگر اثرات آنتی اکسیدانی عسل بود، همسو است.^{۲۸} جالب توجه است که تجویز همزمان کرومولین سدیم (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و عسل (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) موجب افزایش سطح TAC و کاهش سطح MDA نسبت به مصرف جداگانه شد که نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی جزئی در کاهش استرس اکسیداتیو است. این یافته با مطالعات پیشین که نشان داده‌اند ترکیب ترکیبات طبیعی غنی از پلی فنول و تثبیت‌کننده‌های ماست سل می‌تواند موجب افزایش دفاع آنتی اکسیدانی شود، همخوانی دارد.^{۳۰،۳۹}

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه شواهد ارزشمندی درباره نقش محافظتی کرومولین سدیم و عسل در کاهش نوروپاتی ناشی از وین کریستین ارائه می‌دهد. تجویز کرومولین سدیم در دوز ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و عسل در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث بهبود حساسیت به درد، کاهش استرس اکسیداتیو و کاهش اثرات کاهنده وزن وین کریستین شد. با این حال، تجویز همزمان کرومولین سدیم (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و عسل (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تأثیر افزوده‌ای نشان نداد که نشان می‌دهد ممکن است اثرات درمانی این ترکیبات وابسته به دوز باشند. پیشنهاد می‌گردد مطالعات آینده مکانیسم‌های مولکولی این اثرات را بررسی نموده و دوزهای بهینه برای بروز آن را تعیین کنند.

قدردانی

نویسندگان از دانشگاه علوم پزشکی تبریز به دلیل حمایت‌های علمی و فنی در انجام این پژوهش قدردانی می‌کنند. همچنین از تمامی افرادی که در مراحل اجرای مطالعه و تحلیل داده‌ها همکاری داشته‌اند، سپاسگزاری می‌شود.

مشارکت پدیدآوران

مسلم نجفی: طراحی مطالعه، مشارکت در طراحی روش‌شناسی؛ بهلول حبیبی اصل: طراحی مطالعه، مشارکت در طراحی روش‌شناسی، نظارت بر بخش عملی، بررسی نتایج؛ حمیده نجف‌لوی مایان: انجام

References

- Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, Baron R, Dickenson AH, Yarnitsky D, Freeman R, Truini A, Attal N, Finnerup NB, Eccleston C. Neuropathic pain. Nature reviews Disease primers. 2017;3(1):1-9. doi: 10.1038/nrdp.2017.2.
- Nickel FT, Seifert F, Lanz S, Maihöfner C. Mechanisms of neuropathic pain. European Neuropsychopharmacology. 2012;22(2):81-91. doi: 10.1016/j.euroneuro.2011.05.005.
- Baron R, Maier C, Attal N, Binder A, Bouhassira D, Cruccu G, Finnerup NB, Haanpää M, Hansson P, Hüllemann P, Jensen TS. Peripheral neuropathic pain: a mechanism-related organizing principle based on sensory profiles. Pain. 2017;158(2):261-72. doi: 10.1097/j.pain.0000000000000753.

4. Farquhar-Smith P. Chemotherapy-induced neuropathic pain. Current opinion in supportive and palliative care. 2011;5(1):1-7.
5. Colvin LA. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: where are we now?. Pain. 2019;160:S1-0. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001540.
6. Pușcașu C, Negreș S, Zbârcea CE, Chiriță C. Unlocking New Therapeutic Options for Vincristine-Induced Neuropathic Pain: The Impact of Preclinical Research. Life. 2024;14(11):1500. doi: 10.3390/life14111500.
7. Jordan MA, Wilson L. Microtubules as a target for anticancer drugs. Nature reviews cancer. 2004;4(4):253-65. doi: 10.1038/nrc1317.
8. Kava M, Walsh P, SrinivasJois R, Cole C, Lewis B, Nagarajan L. Clinical and electrophysiological characteristics of Vincristine induced peripheral neuropathy in children. Journal of the International Child Neurology Association. 2017. doi: 10.17724/jicna.2017.75.
9. Li GZ, Hu YH, Li DY, Zhang Y, Guo HL, Li YM, Chen F, Xu J. Vincristine-induced peripheral neuropathy: a mini-review. Neurotoxicology. 2020;81:161-71. doi: 10.1016/j.neuro.2020.10.004.
10. Chen X, Gan Y, Au NPB, Ma CHE. Current understanding of the molecular mechanisms of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. Frontiers in Molecular Neuroscience. 2024;17:1345811.
11. Pasupuleti VR, Arigela CS. Polyphenols and Flavonoids from Honey: A Special Focus on Diabetes. In: Kumar D, Shahid M, editors. Natural Materials and Products from Insects: Chemistry and Applications. Cham: Springer International Publishing. 2020;P:1-20.
12. Erol AY, Kocanci FG, Demir-Dora D, Uysal H. Additive cell protective and oxidative stress reducing effects of combined treatment with cromolyn sodium and masitinib on MPTP-induced toxicity in SH-SY5Y neuroblastoma cells. Chemico-Biological Interactions. 2022;354:109808. doi: 10.1016/j.cbi.2022.109808.
13. Hemmati AA, Ghafourian M, Khodayar MJ, Zarin H, Rounkian MS, Jalali A. Sodium Cromolyn Modulates Carrageenan-Induced Acute Inflammation Through the Interleukin-6 Levels. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products. 2024;19(2):e140822. doi: 10.5812/jjnpp-140822.
14. Care IoLARCo, Animals UoL. Guide for the care and use of laboratory animals. 8th ed: US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National ...; 2011.
15. Habibi B, Oskouei TE, Vaez H, Amani P. Effect of Hydroethanolic Extract of Citrus Aurantium Leaves and Magnesium Sulfate in Mice Model of Vincristine-Induced Neuropathy: Citrus aurantium and Magnesium in Vincristine-Induced neuropathy. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2022;18(1):9-17. doi: 10.22037/ijps.v18.41358.
16. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clinical science (London, England: 1979). 1993;84(4):407-12. doi: 10.1042/cs0840407.
17. Senthilkumar M, Amaesan N, Sankaranarayanan A. Estimation of Malondialdehyde (MDA) by Thiobarbituric Acid (TBA) Assay. In: Senthilkumar M, Amaesan N, Sankaranarayanan A, editors. Laboratory Techniques. New York, NY: Springer US; 2021. p. 103-5.
18. Fadzil MAM, Mustar S, Rashed AA. The potential use of honey as a neuroprotective agent for the management of Neurodegenerative Diseases. Nutrients. 2023;15(7):1558. doi: 10.3390/nu15071558.
19. Wang YJ, Downey MA, Choi S, Shoup TM, Elmaleh DR. Cromolyn platform suppresses fibrosis and inflammation, promotes microglial phagocytosis and neurite outgrowth. Scientific Reports. 2021;11(1):22161. doi: 10.1038/s41598-021-00465-6.
20. Iftikhar A, Nausheen R, Muzaffar H, Naeem MA, Farooq M, Khurshid M, et al. Potential Therapeutic Benefits of Honey in Neurological Disorders :The Role of Polyphenols. Molecules. 2022;27(10):3297. doi: 10.3390/molecules27103297.
21. Makkasau Plasay, Lukman Muslimin. The Effect of Administration of Honey on Physical Activity in Malondialdehyde, Glutathione, and Superoxide Dismutase Blood Levels in Male Rat. J Med Chem Sci. 2024;7(4):590-7. doi: 10.26655/JMCHEMSCI .2024.4.3.
22. Sztukowski KE, Yaufman Z, Cook MR, Aarnes TK, Husbands BD. Vincristine-induced adverse events related to body weight in dogs treated for lymphoma. Journal of Veterinary Internal Medicine. 2024;38(3):1686-92. doi: 10.1111/jvim.17063.
23. Granucci EJ, Griciuc A, Mueller KA, Mills AN, Le H, Dios AM, et al. Cromolyn sodium delays disease onset and is neuroprotective in the SOD1 G9^{3A} Mouse Model of amyotrophic lateral sclerosis. Scientific Reports. 2019;9(1):17728. doi: 10.1038/s41598-019-53982-w.
24. Motawi TM, Bustanji Y, EL-Maraghy SA, Taha MO, Al Ghusseini MA. Naproxen and cromolyn as new glycogen synthase kinase 3 β inhibitors for amelioration of diabetes and obesity: an investigation by docking simulation and subsequent

- in vitro/in vivo biochemical evaluation. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2013;27(9):425-36.
25. Co JL, Mejia MBA, Que JC, Dizon JMR. Effectiveness of honey on radiation-induced oral mucositis, time to mucositis, weight loss, and treatment interruptions among patients with head and neck malignancies: A meta-analysis and systematic review of literature. *Head & neck*. 2016;38(7):1119-28. doi: 10.1002/hed.24431.
 26. Gomez-Deza J, Slavutsky AL, Nebiyu M, Le Pichon CE. Local production of reactive oxygen species drives vincristine-induced axon degeneration. *Cell Death & Disease*. 2023;14(12):807. doi: 10.1038/s41419-023-06227-8.
 27. Motawi TK, El-Maraghy SA, ElMeshad AN, Nady OM, Hammam OA. Cromolyn chitosan nanoparticles as a novel protective approach for colorectal cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 2017;275:1-2. doi: 10.1016/j.cbi.2017.07.013.
 28. Ali AM, Kunugi H. Bee honey protects astrocytes against oxidative stress: A preliminary in vitro investigation. *Neuropsychopharmacol Rep*. 2019;39(4):312-4. doi: 10.1002/npr2.12079.
 29. Vujčić Bok V, Šola I, Rusak G, Budisavljević A, Nguyen R, Ludwig-Müller J, Maleš Ž. Phenolic content and antioxidant activity of Croatian and German honey. *Acta Pharmaceutica*. 2024;74(4 (Special issue)):673-92.
 30. Aliabadi A, Haghshenas MR, Kiani R, Panjehshahin MR, Erfani N. Promising anticancer activity of cromolyn in colon cancer: in vitro and in vivo analysis. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2024;150(4):207. doi: 10.1007/s00432-024-05741-2