

نقش گیرنده‌های آلفا آدرنرژیک مرکزی در بی دردی ناشی از تجویز ایمی پرامین با استفاده از آزمون فرمالین در موش صحرائی

موسی صاحبقرانی، محمدرضا زرین دست، مرتضی ثمینی
دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، بخش فارماکولوژی

چکیده

در این تحقیق اثر داروهای مؤثر بر گیرنده‌های آلفا آدرنرژیک بر روی بی دردی ناشی از تجویز محیطی ایمی پرامین، با آزمایش فرمالین در موش صحرائی مورد بررسی قرار گرفته است. تجویز داخل صفاقی (IP) دوزهای مختلف ایمی پرامین ($10\text{-}80 \text{ mg/kg}$) اثر ضد درد وابسته به دوز را نشان می‌دهد اما تزریق داخل یطن مغزی (ICV) ایمی پرامین ($1\text{-}10 \mu\text{g/rat}$) فاقد اثر است. از طرف دیگر تزریق ICV آگونیست گیرنده آلفا-۲ آدرنرژیک، کلونیدین، با دوزهای ($0.05\text{-}0.1 \mu\text{g/rat}$) نیز موجب بروز بی دردی در هر دو فاز آزمایش فرمالین گردید. به علاوه تجویز ICV کلونیدین منجر به تشدید پاسخ بی دردی ناشی از دوزهای مختلف ایمی پرامین ($10\text{-}40 \text{ mg/kg}$) می‌گردد. تجویز ICV آنتاگونیست گیرنده آلفا-۲ آدرنرژیک، یوهمبین، ($2 \mu\text{g/rat}$) پاسخ ضد درد دوز کم ایمی پرامین (10 mg/kg IP) به علاوه کلونیدین ($0.05\text{-}0.1 \mu\text{g/rat}$) را کاهش می‌دهد اما بر بی دردی ناشی از تجویز دوزهای بالاتر ایمی پرامین ($40\text{-}20 \text{ mg/kg}$, IP) به تنهایی و یا به علاوه کلونیدین ($0.05 \mu\text{g/rat}$, ICV) بی تأثیر است. لازم به ذکر است که یوهمبین خود به تنهایی فاقد هر گونه اثری در آزمایش فرمالین می‌باشد. از طرف دیگر تجویز ICV آگونیست گیرنده آلفا-۱ آدرنرژیک، فنیل افرین ($0.07\text{-}0.15 \mu\text{g/rat}$) باعث بروز بی دردی در هر دو فاز آزمایش فرمالین می‌شود اما اثری بر بی دردی ناشی از دوزهای مختلف ایمی پرامین ندارد. تزریق آنتاگونیست رسپتور آلفا-۱ آدرنرژیک، پرازووسین ($1\text{-}2 \mu\text{g/rat}$, ICV) نیز به صورت ICV نه تنها تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل در آزمایش فرمالین ندارد بلکه فاقد هر گونه اثری بر دوزهای مختلف ایمی پرامین می‌باشد اما تجویز یوهمبین ($2 \mu\text{g/rat}$, ICV) همراه با پرازووسین ($0.05 \mu\text{g/rat}$, ICV) موجب مهار بیشتر اثر دوزهای بالاتر ایمی پرامین ($40\text{-}20 \text{ mg/kg}$, IP) به تنهایی و یا به علاوه کلونیدین ($0.05\text{-}0.1 \mu\text{g/rat}$, ICV) می‌گردد. با توجه به یافته‌های فوق به نظر می‌رسد که رسپتورهای آلفا آدرنرژیک در بی دردی ناشی از ایمی پرامین دخیل می‌باشند.

واژه‌های کلیدی : آلفا-۱ آدرنرژیک، ایمی پرامین، آزمایش فرمالین.

مقدمه

دردنگ، درد معده، پلی نورپاتی و درد سرطان کاربرد بالینی دارند [۲۱، ۲۶، ۱۹]. مکانیسم‌های دخیل در بروز برخی از دردهای مزمن (مانند دردهای نورپاتیک) به

داروهای ضد افسردگی سه حلقه‌ای جهت تخفیف درد در انسان، در انواع سر درد، درد صورت، رحم، کمر درد، آرتربیت، نورآرثیت پست هرپتیک، نورپاتی دیابتیک

آزمایش فرمالین و در موش بزرگ صحرائی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

حیوانات - موش صحرائی (رات) نر از نژاد Wistar و با وزن تقریبی ۲۰۰-۲۵۰ گرم در این آزمایشات مورد استفاده قرار می‌گرفتند که در قفس‌های به ابعاد (۱۵×۳۰×۴۵ سانتی‌متر) و در درجه حرارت 22 ± 2 و سیکل ۱۲ ساعه تاریکی و روشنایی نگهداری می‌شدند. حیوانات به جز در زمان آزمایش، دسترسی آزادانه به غذا و آب کافی داشتند. هر حیوان فقط یک بار مورد استفاده قرار گرفته و بلا فاصله بعد از آزمایش از بین می‌رفت.

کار گذاشتن کانول - تمام حیوانات با تزریق IP کتامین هیدروکلرايد (۵۰ mg/kg) و زایلازین هیدروکلرايد (رامپون، ۴ mg/kg) بی‌هوش شده و پس از ثابت کردن جمجمه موش صحرائی توسط دستگاه استرئوتاکسی (David Kopf, USA)، کانول از جنس استیل ضد زنگ (شماره ۲۱) در داخل جمجمه حیوان کار گذاشته می‌شد. کانول با استفاده از اطلس راهنمای Paxinos & Watson به نقطه‌ای با مختصات زیر هدایت گردید: AP=-۰/۸mm, V=۴mm, L=۱/۶mm (هر دو نسبت به برگما) و از دورا، همچنین Nose bar در فاصله ۳/۵ mm خطر ایترالورال قرار داشت. کانول در جمجمه حیوان و با استفاده از سیمان دندانپزشکی (آکریل) در نقطه مورد نظر ثابت می‌گردید. سپس با فرستادن سیم فلزی کوچکی به داخل کانول مانع انسداد آن توسط گرد و خاک محیط شده و همچنین فضای داخل کانول قبل از تزریق نیز تمیز می‌ماند. حیوانات به مدت یک هفته بعد از عمل در قفس نگهداری می‌شدند تا اثرات ناشی از عمل جراحی در آنها به حداقل برسد.

طور کلی از انواع فیزیولوژیک و معمول درد متفاوت می‌باشدند و اغلب به داروهای ضد درد معمول مانند ایبوئیدها و داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAIDs) مقاوم می‌باشد [۲۷، ۱۸]. به نظر می‌رسد آزمایش فرمالین مدل مناسب‌تری جهت بررسی درد بالینی نسبت به آزمایشی Tail-flick و Hot-plate می‌باشد [۱۲]. داروهای ضد افسردگی در انواع دردهای مزمن (از جمله دردهای نوروپاتیک) مورد استفاده قرار می‌گیرند اما علی‌رغم مصرف طولانی مدت، مکانیسم اثر ضد درد آنها به طور کامل شناخته نشده است. از طرف دیگر با توجه به مهار اثر ضد درد ناشی از این داروها توسط تخلیه کننده‌های مونوآمینی مانند پارا-کلروفنیل آلانین و آلفا-متیل پاراتیروزین، دخالت سیستم مونوآمینرژیک (از جمله سیستم نورآدرنرژیک) در اثر ضد درد آنها متحمل به نظر می‌رسد [۲۹، ۲۵]. مسیرهای مونوآمینرژیک مرکزی احتمالاً در اثرات ضد افسردگی و ضد درد داروهای ضد افسردگی دخیل می‌باشدند [۳، ۱۷، ۲۲، ۲۹]. به نظر می‌رسد که تغییر در حساسیت گیرنده‌های آلفا و بتا آدرنرژیک و کاهش تعداد گیرنده‌های سروتونرژیک در سیستم اعصاب مرکزی می‌تواند اثرات ضد افسردگی این داروها در تجویز طولانی مدت را توجیه نماید [۱۵، ۶، ۳]. داروهای ضد افسردگی که باز جذب نوراپی نفرین یا سروتونین را مسدود می‌کنند. معمولاً درمان مؤثری در تخفیف درد مزمن نیز می‌باشدند. اگر چه به نظر می‌رسد که مهار باز جذب نورآدرنالین در اثر درمانی آن تعیین کننده‌تر باشد [۱۳، ۱۶، ۱۷]. بنابراین با توجه به اینکه ضد افسردگی داروهای ضد افسردگی سه حلقه‌ای از طریق مرکزی (نخاعی یا فوق نخاعی) اعمال می‌شود [۲۵، ۱۱، ۱۰]. در مطالعه حاضر دخالت احتمالی گیرنده‌های آلفا آدرنرژیک مرکزی بر بی‌دردی ناشی از ایمی‌پرامین در

داده شده است. آزمایشات تحت شرایط مساوی صورت گرفته و توجه لازم به اصول اخلاقی مربوط به تحقیقات درد در مدل حیوان هشیار به عمل آمد.

داروها - داروهای زیر در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند: ایمی‌پرامین (پارس دارو، ایران) فنیل افرین هیدروکلرايد، کلونیدین هیدروکلرايد، پرازوسین هیدروکلرايد و یوهمبین (سیگما). داروها همگی در سالین محلول بوده و به صورت ICV و با حجم $1\text{ }\mu\text{l}/\text{rat}$ $3\text{ }\mu\text{l}$ و با حجم 5 ml/kg IP صورت گرفت.

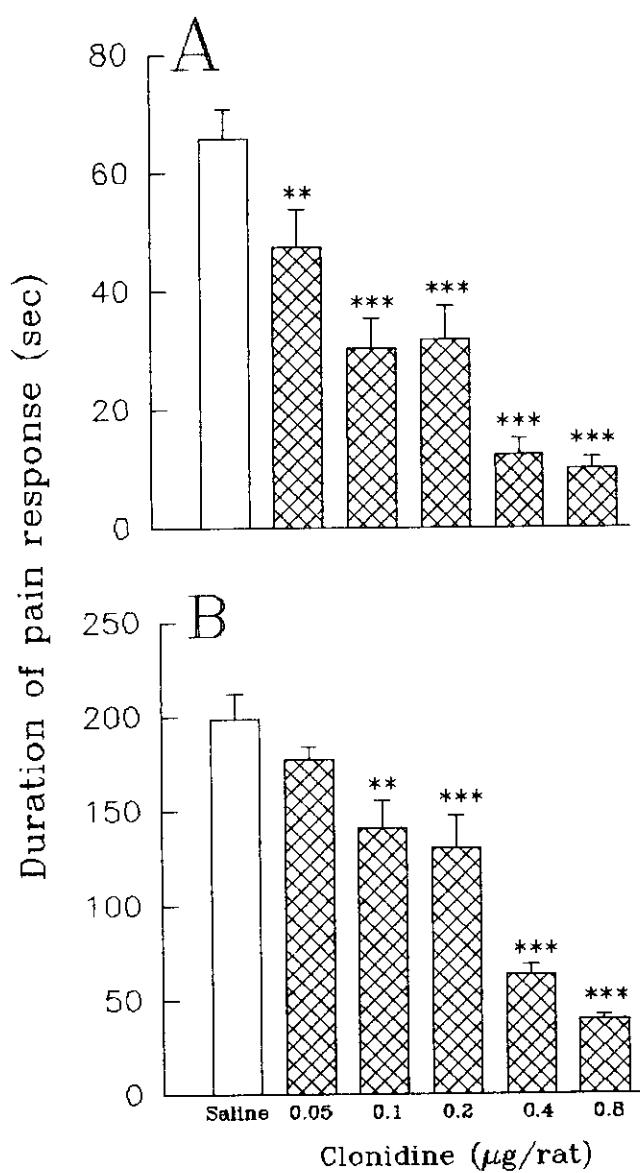
تجزیه و تحلیل آماری - آزمون‌های آماری ANOVA
 یک طرفه و دو طرفه به همراه روش Newman Keul's جهت تجزیه آماری داده‌های موجود مورد استفاده قرار گرفتند. اختلاف میانگین‌ها با $P < 0.05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شده و هر نقطه میانگین \pm SEM داده‌های مربوط به آزمایش می‌باشد.

نتایج

اثر بی دردی ایمی‌پرامین در آزمایش فرمالین - شکل ۱، اثر دوزهای مختلف ایمی‌پرامین (mg/kg) 20 ، 40 ، 80 ، 10 در آزمایش فرمالین را نشان می‌دهد. تزریق IP ایمی‌پرامین به صورت وابسته به دوز منجر به بروز اثر بی دردی در فاز حاد [$P < 0.0001$]، $F(7, 26) = 30, 4P < 0.0001$]، $F(5, 135) = 5, 10$ آزمایش فرمالین می‌گردد (آزمون ANOVA یک طرفه). حداقل پاسخ با ICV دوز 80 mg/kg به دست آمد. اما تزریق فرمالین ایمی‌پرامین ($\mu\text{g/rat}$) 10 ، 5 ، 1 در فاز اول و دوم آزمایش فرمالین تفاوت معنی داری با تزریق سالین نداد. اثر بی دردی ناشی از ایمی‌پرامین همراه یا بدون آگونیست و آنتاگونیست‌های آلفا-۲-آدرنرژیک - شکل ۲

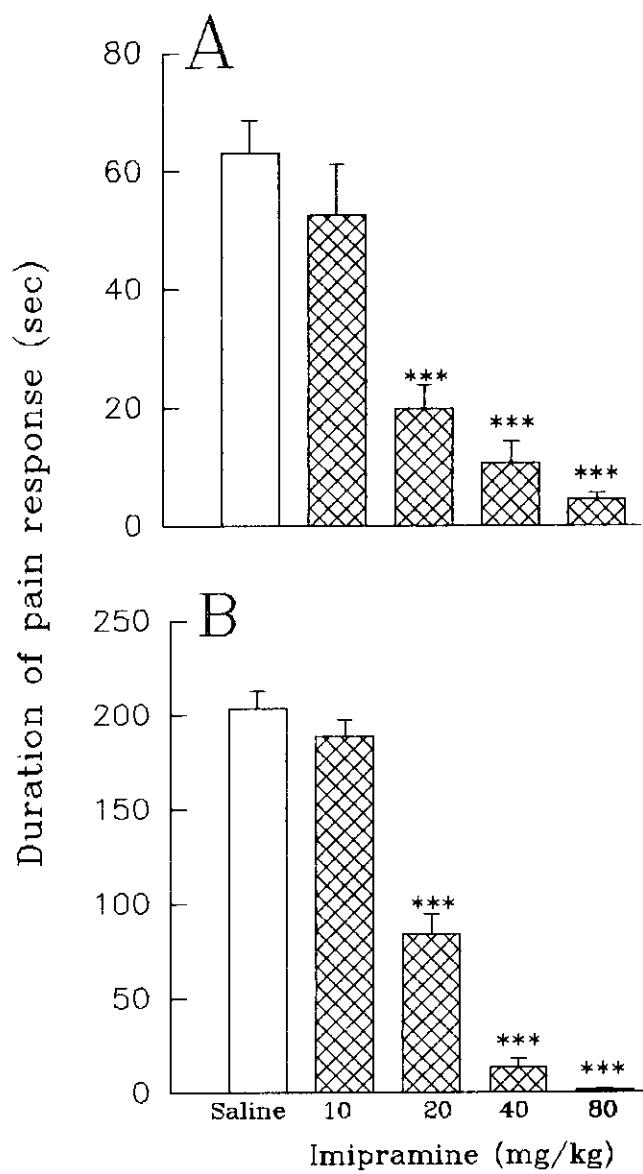
نحوه تزریق داخل بطن مغزی - در ابتدا حیوان به آرامی توسط دست نگهداشته می‌شد. سپس سیم داخل کانول بیرون آورده شده و سر سوزن تزریقی با شماره ۲۷ (که طول آن 1 mm بیش از نوک کانول کار گذاشته شده بود) به داخل کانول هدایت می‌گردید. سر سوزن تزریقی از طریق یک تیوب پلی اتیلن به یک سرنگ هامیلتون 1 ml متصل بود. محلول‌های تزریقی با حجم 1 ml 3 و در مدت زمان ۱ دقیقه به آرامی تزریق می‌شدند و سر سوزن تزریقی به مدت یک دقیقه پس از تزریق نیز در کانول راهنمای نگهداشته می‌شد تا انتشار دارو به سهولت صورت گیرد.

ثبت پاسخ بی دردی - حدود ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش، حیوانات به محل آزمایش آورده می‌شدند تا با محیط مطابقت حاصل نمایند. بعد از تزریق دارو که توضیح آن در بالا آمده است، 1 ml از فرمالین 5% به صورت زیر جلدی در کف یکی از پاهای حیوان و با استفاده از سرنگ با سر سوزن شماره ۲۶ تزریق می‌گردید.
قبل از شروع تست، حیوانات به طور جداگانه در سیلندرهایی از جنس Plexiglass به ابعاد $(20 \times 20 \times 25)$ سانتی‌متر) قرار داده می‌شدند. به طوری که مشاهده دقیق کف پای حیوان از طریق یک سطح شیشه‌ای و یک آیهه که با زاویه 45° در زیر سیلندر قرار داشت، به راحتی امکان‌پذیر بود. پاسخ به محرک شیمیایی دردزا (فرمالین) بلافضلله پس از تزریق آن و برای مدت ۶۰ دقیقه ثبت می‌گردید. لیسیدن یا گاز گرفتن پای تزریق شده به عنوان پاسخ به محرک دردزا در نظر گرفته شده و مجموع مدت زمانی که حیوان مبادرت به لیسیدن یا گاز گرفتن پای آسیب دیده می‌نمود، به عنوان پاسخ گزارش می‌گردید. میانگین \pm SEM پاسخ بین ۵-۰ و $15-60$ دقیقه پس از تزریق (فاز مزمن) در نمودارها نشان



شکل ۲- پاسخ بی‌دردی وابسته به دوز کلونیدین در آزمایش فرمالین- تزریق ICV سالین (۳ μ l/rat) و یا کلونیدین (0.05 ، 0.1 ، 0.2 ، 0.4 ، 0.8 μ g/rat) ۵ دقیقه، قبل از تزریق فرمالین در موش صحرائی صورت گرفت و اثر بی‌دردی ۰ تا ۵ دقیقه (شکل A فاز حاد) و ۱۵ تا ۶۰ دقیقه (شکل B فاز مزمن) پس از تزریق فرمالین ثبت گردید. هر نقطه میانگین \pm SEM ± ۷ آزمایش می‌باشد.

$P < 0.01$ ** و $P < 0.001$ *** اختلاف از گروه سالین می‌باشد.



شکل ۱- اثر بی‌دردی وابسته به دوز ایمی‌پرامین در آزمایش فرمالین- تجویز نرمال سالین (۱۰ ml/kg) و ایمی‌پرامین (۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ mg/kg) در موش صحرائی به صورت IP و ۱۵ دقیقه قبل از آزمایش فرمالین صورت گرفت و اثر بی‌دردی آنها در فواصل ۰ تا ۵ دقیقه (شکل A، فاز حاد) و ۱۵ تا ۶۰ دقیقه (شکل B، فاز مزمن) پس از تزریق فرمالین ثبت گردیده است. هر نقطه میانگین \pm SEM ± ۷ آزمایش می‌باشد.

$P < 0.001$ *** اختلاف گروه سالین مربوطه را نشان می‌دهد.

کاهش می‌دهد [۱۰/۰۰۰۱، P<۰/۰۰۰۱] (بر فاز اول بی‌اثر است) اما آزمون‌های آماری مکمل نشان داد که یوهمبین فقط بر پاسخ کلونیدین به علاوه دوز کم ایمی‌پرامین (۱۰ mg/kg, IP) مؤثر بوده است (مانند شکل ۳). همچنین دوزهای مختلف یوهمبین (ICV, ۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$, ICV, ۲۰ $\mu\text{g}/\text{rat}$, ICV, ۴، ۲) قادر به تغییر بی‌دردی ناشی از ایمی‌پرامین (۲۰ mg/kg, IP) در فاز حاد و مزمن آزمایش فرمالین نمی‌باشند.

اثر بی‌دردی ایمی‌پرامین همراه با بدون آگونیست و آنتاگونیست گیرنده آلفا-۱ آدرنرژیک - اثر بی‌دردی ICV فنیل افرین در شکل ۵ نشان داده شده است. تزریق دوزهای مختلف فنیل افرین (۱/۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$, ۰/۶، ۰/۳، ۰/۰۵، P<۰/۰۵، ۰/۰۷) دارای اثر بی‌دردی در فاز حاد [۱۰/۰۰۰۱، F(۵, ۳۶)=۳/۲] و فاز مزمن [۱۵، P<۰/۰۰۰۱، F(۵, ۳۶)=۳/۲] آزمایش فرمالین می‌باشد (آزمون آماری ANOVA ۵ F آزمایش فرمالین می‌باشد (آزمون آماری ANOVA یک طرفه)).

همچنین تزریق ICV دوزهای مختلف پرازوسین (۱، ۲ $\mu\text{g}/\text{rat}$) تغییر معنی‌داری در بی‌دردی ناشی از ایمی‌پرامین (۲۰ mg/kg, IP) در فاز اول و دوم آزمایش فرمالین بوجود نمی‌آوردند.

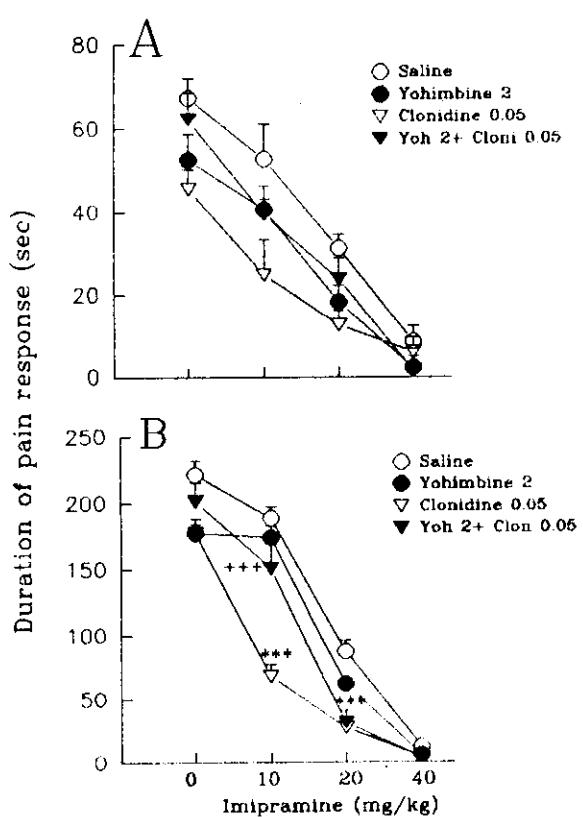
شکل شماره ۶، نشان‌دهنده اثر بی‌دردی ناشی از دوزهای مختلف فنیل افرین و نیز ایمی‌پرامین به علاوه فنیل افرین می‌باشد. تجزیه آماری با استفاده از آزمون ANOVA دو طرفه هیچ تداخلی بین پاسخ ناشی از دوزهای مختلف فنیل افرین (۱/۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$, ICV, ۰/۶، ۰/۳، ۰/۰۵، P<۰/۰۷، ۰/۰۱۵) و دوز کم ایمی‌پرامین (۱۰ mg/kg, IP) در فاز اول یا دوم آزمون فرمالین را نشان نمی‌دهد.

اثر بی‌دردی ناشی از دوزهای مختلف ایمی‌پرامین (۱۰، ۲۰، ۴۰ mg/kg, IP) به تنها یا همراه با فنیل افرین (۰/۰۷ $\mu\text{g}/\text{rat}$, ICV) در

نشان‌دهنده اثر بی‌دردی ناشی از کلونیدین می‌باشد. تزریق ICV دوزهای مختلف کلونیدین (۰/۲، ۰/۴، ۰/۸ $\mu\text{g}/\text{rat}$, ۰/۱، ۰/۰۵) منجر به بروز اثر بی‌دردی در فاز حاد [۱۰/۰۰۰۱، P<۰/۰۰۰۱] و فاز مزمن [۱۰/۰۰۰۱، F(۵, ۳۶)=۲۰/۱] آزمایش فرمالین می‌گردد (آزمون آماری ANOVA ۵ F(۵, ۳۶)=۳۰/۱ یک طرفه).

اثر بی‌دردی دوزهای مختلف کلونیدین به تنها ی و کلونیدین به علاوه ایمی‌پرامین (با یا بدون یوهمبین) در شکل شماره ۳، آورده شده است. آزمون آماری ANOVA دو طرفه نشان‌دهنده تداخل بین پاسخ ناشی از دوزهای مختلف کلونیدین و کلونیدین به علاوه ایمی‌پرامین (۱۰ mg/kg IP) در فاز دوم آزمایش فرمالین (۱۰/۰۰۰۱، F(۳، ۴۸)=۷/۴، P<۰/۰۰۰۱) می‌باشد. اگر چه در فاز اول (حاد) تداخل اثری مشاهده نشد. همچنین با آزمون ANOVA دو طرفه می‌توان نتیجه گرفت که پاسخ تشديد شونده کلونیدین به علاوه ایمی‌پرامین با تجویز قبلی یوهمبین (۲ $\mu\text{g}/\text{rat}$, ICV) در فاز مزمن آزمایش فرمالین مهار می‌شود. اگر چه بر پاسخ دو دارو در فاز اول بی‌تأثیر است.

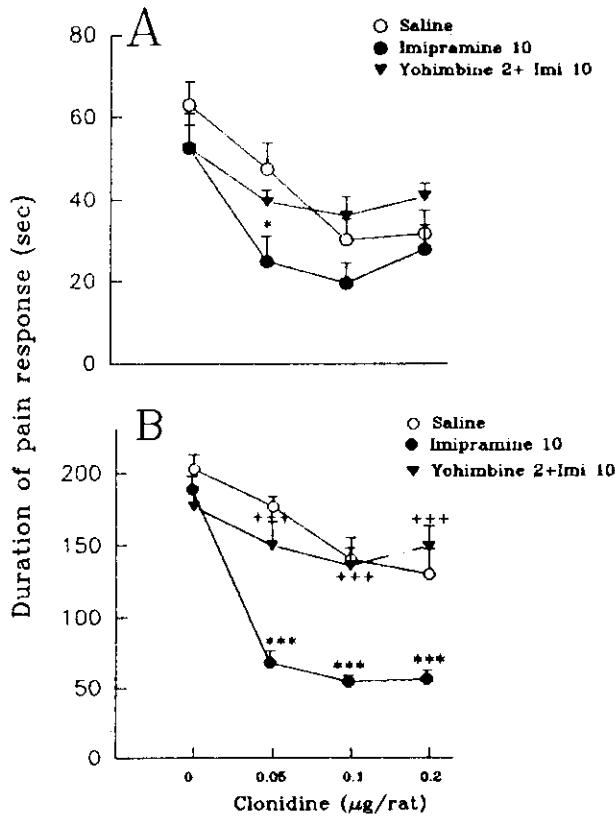
پاسخ بی‌دردی ناشی از دوزهای مختلف ایمی‌پرامین (۱۰ mg/kg, IP, ۴۰، ۲۰، ۱۰) به تنها ی و نیز همراه با کلونیدین (۰/۰۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$, ICV) یا یوهمبین (۲ $\mu\text{g}/\text{rat}$, ICV) و ایمی‌پرامین به علاوه ترکیبی از کلونیدین و یوهمبین در شکل ۴ نشان داده شده است. با توجه به نتایج آزمون آماری ANOVA دو طرفه می‌توان گفت که کلونیدین منجر به تشديد اثر بی‌دردی ناشی از ایمی‌پرامین در فاز اول [۱۰/۰۰۰۱، F(۳، ۴۸)=۱۰/۴، P<۰/۰۰۰۱] و فاز دوم [۱۰/۰۰۰۱، F(۳، ۴۸)=۹] آزمایش فرمالین می‌گردد. از طرف دیگر اگر چه یوهمبین پاسخ ناشی از ایمی‌پرامین به علاوه کلونیدین را در فاز دوم (مزمن)



شکل ۴- اثر بی دردی ناشی از تجویز دوزهای مختلف ایمی پرامین به تنها یی و همراه با یوهمبین، کلونیدین و یا یوهمبین به علاوه کلونیدین - ایمی پرامین (۰، ۴۰، ۲۰، ۱۰) به صورت ۱۵ IP دقیقه، کلونیدین (۰/۰۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$, ICV) ۵ دقیقه و یوهمبین (۰/۰۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$, ICV) ۳۰ دقیقه قبل از تجویز فرمالین تزریق شدند و پاسخ بی دردی طی ۰ تا ۵ دقیقه (شکل A فاز حاد) و ۱۵-۶۰ دقیقه (شکل B فاز مزمن) پس از تزریق فرمالین ثبت گردید. هر نقطه میانگین \pm SEM ۷ آزمایش می باشد.

*** $P < 0.001$ اختلاف از گروه ایمی پرامین به علاوه سالین می باشد.

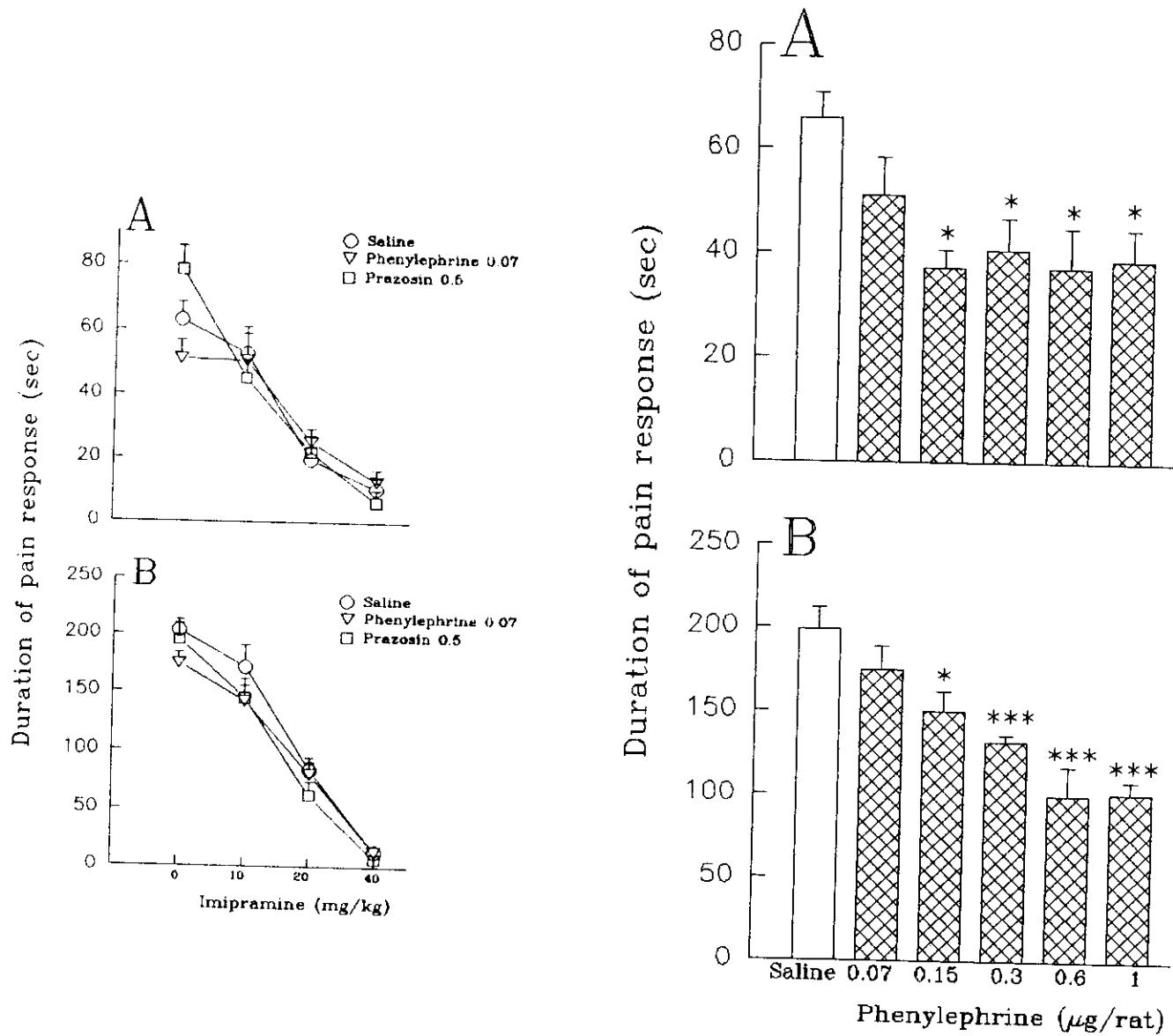
+++ $P < 0.001$ اختلاف از گروه کلونیدین به علاوه ایمی پرامین می باشد.



شکل ۳- اثر بی دردی ناشی از تجویز دوزهای مختلف کلونیدین به تنها یی، کلونیدین به علاوه ایمی پرامین و ترکیب کلونیدین و ایمی پرامین در حضور یوهمبین - ایمی پرامین (۱۰) به صورت ۱۵ IP دقیقه قبل از آزمایش فرمالین، کلونیدین (۰/۰۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$, ICV) ۵ دقیقه و یوهمبین (۰/۰۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$, ICV) ۳۰ دقیقه قبل از تزریق فرمالین، تجویز گردیدند و اثر بی دردی در فاصله ۰ تا ۵ دقیقه (شکل A فاز حاد) و ۱۵ تا ۶۰ دقیقه (شکل B فاز مزمن) پس از تزریق فرمالین ثبت گردید. هر نقطه میانگین \pm SEM ۷ آزمایش می باشد.

*** $P < 0.001$ اختلاف از گروه دریافت کننده کلونیدین به تنها یی می باشد.

+++ $P < 0.001$ اختلاف از گروه ایمی پرامین، به علاوه کلونیدین می باشد.



شکل ۶- اثرات بی دردی ناشی از تجویز دوزهای مختلف فنیل افرین به تنها یا همراه با ایمی‌پرامین - ایمی‌برامین $\mu\text{g}/\text{rat}$, ICV (۱۰ mg/kg) به صورت IP ۱۵ دقیقه و فنیل افرین (۰/۰۷، ۰/۱۵، ۰/۳، ۰/۱۵، ۰/۰۷) به صورت ICV ۵ دقیقه قبل از تزریق فرمالین تجویز گردیدند و پاسخ ضد درد ۰ تا ۵ دقیقه (شکل A فاز حاد) و ۱۵-۶۰ دقیقه (شکل B فاز مزمن) پس از تزریق فرمالین ثبت گردید. هر نقطه میانگین \pm SEM، ۷ آزمایش می‌باشد.

شکل ۵- اثر بی دردی وابسته به دوز فنیل افرین در آزمایش فرمالین - سالین (۳ $\mu\text{g}/\text{rat}$, ICV) و یا فنیل آفرین (۰/۰۷، ۰/۱۵، ۰/۳، ۰/۰۷) ۵ دقیقه قبل از آزمایش فرمالین به صورت ICV تزریق گردید. اثر بی دردی طی ۰ تا ۵ دقیقه (شکل A فاز حاد) و ۱۵-۶۰ دقیقه (شکل B فاز مزمن) پس از تزریق فرمالین ثبت گردید. هر نقطه SEM \pm میانگین، ۷ آزمایش می‌باشد. $* P < 0.05$ و $** P < 0.001$ اختلاف از گروه سالین مربوطه را نشان می‌دهد.

جدول ۱. اثر بی دردی ناشی از تجویز دوزهای مختلف ایمپرامین، کلونیدین و فنیل افرين طی ۱۵-۰ دقیقه (فاز حاد) و ۶۰-۱۵ دقیقه (فاز مزمن) پس از تزریق فرمالین.

سالین	۱۰ mg/kg	۲۰ mg/kg	۴۰ mg/kg	۸۰ mg/kg
فاز حاد	۵۲/۷±۸/۴	۱۹/۸±۴/۰***	۱۰/۷±۳/۷***	۴/۴±۱/۲***
فاز مزمن	۶۳/۱±۵/۵	۱۸۸/۴±۹/۲	۸۳/۹±۱۰/۶***	۱۳/۳±۴/۹***

سالین	۰/۰۵ µg/rat	۰/۱ µg/rat	۰/۰ کلونیدین µg/rat	۰/۰ کلونیدین µg/rat	۰/۰ کلونیدین µg/rat
فاز حاد	۶۵/۸±۴/۹	۴۷/۶±۶/۳**	۳۰/۸±۵/۰***	۲۱/۷±۵/۰***	۱۲۸/۲±۲/۸***
فاز مزمن	۱۹۸/۹±۱۳/۰	۱۷۷/۵±۷/۴	۱۴۰/۴±۱۵/۳**	۱۳۰/۲±۱۷/۳***	۶۳/۴±۵/۴***

سالین	۰/۰۷ µg/rat	۰/۰۳ µg/rat	۰/۰۰ فنیل افرين µg/rat	۰/۰۰۷ فنیل افرين µg/rat	۰/۰۰۵ فنیل افرين µg/rat
فاز حاد	۶۵/۸±۴/۹	۵۱/۱±۷/۳*	۳۷/۲±۳/۴*	۴۰/۷±۷/۱*	۳۷/۴±۷/۶*
فاز مزمن	۱۹۸/۹±۱۳/۰	۱۷۴/۴±۱۴/۴*	۱۴۹/۷±۱۲/۰***	۱۳۲/۱±۴/۱***	۱۰۰/۳±۱۷/۲***

تجویز ICV سالین () ، کلونیدین و فنیل افرين ۵ دقیقه قبل از تزریق فرمالین صورت گرفت. همچنین دوزهای مختلف ایمپرامین به صورت IP ، ۱۵ دقیقه قبل از تزریق فرمالین تجویز گردیدند، و پاسخ بی دردی ۱۵-۰ دقیقه و ۶۰-۱۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین اندازه گیری شد. هر نقطه میانگین \pm SEM ۷ حیوان می باشد.

* P<۰.۰۵, ** P<۰.۰۱, *** P<۰.۰۰۱ اخلاف از گروه سالین مربوطه است.

علاوه کلونیدین (۰/۰۵ µg/rat, ICV [P<۰.۰۰۱]) و ایمپرامین (۴۰ mg/kg, IP [F(۳, ۲۷)=۸/۷] به علاوه کلونیدین (۰/۰۵ µg/rat, ICV [P<۰.۰۰۱]) در فاز دوم آزمایش فرمالین می گردد.

بحث

آزمون فرمالین که در واقع یک مدل درد در جوندگان بوده و منجر به افزایش حساسیت عصبی مرکزی نسبت به محركهای دردزا و کاهش آستانه Dennis، اولین بار توسط Dubuisson و Dubuisson ابداع گردید [۵]. تزریق زیر جلدی فرمالین رقيق شده در زیر پوست کف یکی از پاهای حیوان منجر به بروز یک پاسخ دو فازی می گردد که شامل یک پاسخ فاز یک کوتاه

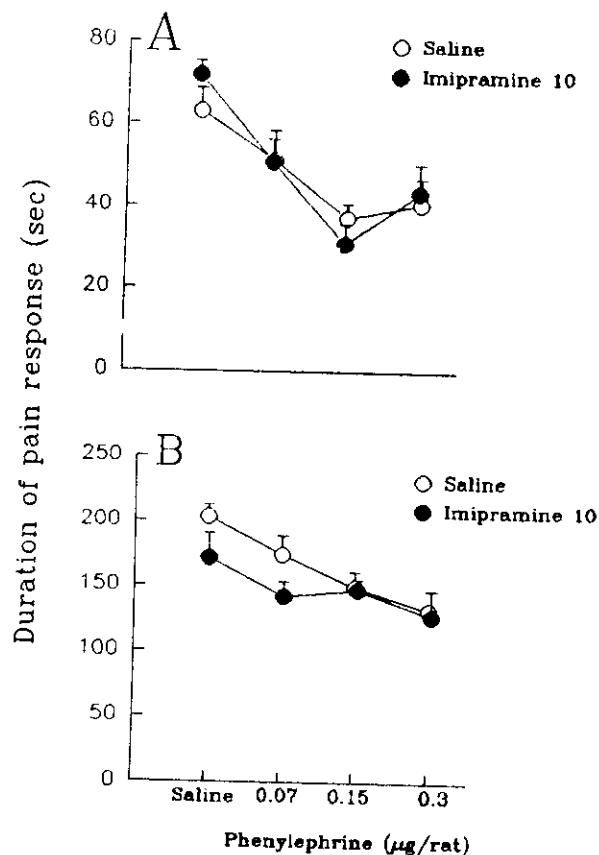
شکل ۷ ملاحظه می شود. با نتیجه گیری از آزمون آماری ANOVA دو طرفه می توان گفت که فنیل افرين و پرازوسین بر پاسخ بی دردی ناشی از تجویز ایمپرامین (در هر دو فاز آزمایش فرمالین) بی تاثیر می باشند.

اثر ترکیب پرازوسین و یوهمبین بر بی دردی ناشی از تجویز ایمپرامین - ترکیب دوزهای کم یوهمبین (۰/۰۵ µg/rat, ICV) و پرازوسین (۰/۰۵ µg/rat, ICV) که خود به تنهایی فاقد هر گونه اثری هستند، منجر به کاهش اثر بی دردی ناشی از تجویز IP ایمپرامین [F(۳, ۲۷)=۲۱/۸, P<۰.۰۰۱] ۲۰ mg/kg و ۴۰ mg/kg [F(۳, ۲۷)=۱۰, P<۰.۰۰۱] در فاز دوم آزمایش فرمالین می گردد. همچنین ترکیب یوهمبین و پرازوسین منجر به کاهش بی دردی ناشی از ایمپرامین (۲۰ mg/kg, IP [F(۳, ۲۷)=۱۰, P<۰.۰۰۱]) به

مدت (فاز حاد) و پاسخ تونیک طولانی مدت (فاز مزمن) می‌باشد [۱۲]. این آزمایش مدل حیوانی مناسب‌تری جهت مطالعه دردهای بالینی نسبت به مدل‌های حیوانی دیگر می‌باشد [۴].

اثر تسکین و تخفیف درد توسط داروهای ضدافسردگی در انسان و حیوان نشان داده شده است [۲۳، ۱۴، ۲]. به طور کلی داروهای ضد افسردگی سه حلقه‌ای منجر به افزایش سطح مونوآمین‌ها می‌گردند. داروهای ضدافسردگی که موجب مهار با جذب نوراپسی نفرین به تنهایی و یا همراه با سروتونین می‌شوند، از جمله داروهای مؤثر در تخفیف دردهای نوروپاتیک می‌باشند و به نظر می‌رسد که اثرات درمانی ضد افسردگی و بی‌دردی داروهای ضد افسردگی سه حلقه‌ای از طریق سیستم مونوآمینرژیک اعمال گردد [۶، ۷، ۳]. این فرضیه با شواهدی که نشان‌دهنده کاهش اثر بی‌دردی داروهای ضدافسردگی سه حلقه‌ای با تجویز قبلی آلفا-متیل‌تیروزین و پاراکلروفنیل آلانین می‌باشد، تأیید می‌گردد [۲۵، ۲۹].

اگر چه شروع اثرات درمانی این داروها بر افسردگی ۲ تا ۳ هفته به طول می‌انجامد اما اثر بی‌دردی ناشی از این داروها در موش صحرائی را می‌توان ۵ تا ۱۰ دقیقه پس از تجویز مشاهده نمود [۳۰]. در مطالعه حاضر اثر ایمی‌پرامین در آزمون فرمالین مورد بررسی قرار گرفته است. بر اساس داده‌های موجود، تزریق ICV ایمی‌پرامین تفاوت معنی‌داری با تجویز سالین در فاز اول یا دوم آزمایش فرمالین ندارد. اما تزریق IP آن به صورت وابسته به دوز اثر بی‌دردی از خود نشان می‌دهد. چنین اثری قبلاً نیز برای ایمی‌پرامین گزارش شده بود [۲۳، ۲۴]. به علاوه برخی از مطالعات، این نظریه را مطرح می‌کنند که داروهای ضدافسردگی از طریق یک اثر مستقیم



شکل ۷- اثرات بی‌دردی ناشی از تجویز دوزهای مختلف ایمی‌پرامین همراه یا بدون فنیل افرين یا پرازوسین - ایمی‌پرامین $\mu\text{g}/\text{rat}$, ۱۰, ۴۰, ۲۰, ۰.۰۷ $\mu\text{g}/\text{rat}$, ICV ۱۵ دقیقه، فنیل افرين ($\mu\text{g}/\text{rat}$, ۰.۰۵, ۰.۰۷, ۰.۰۱, ۰.۰۰۷ ICV ۵ دقیقه و پرازوسین (۰.۰۵ $\mu\text{g}/\text{rat}$, ICV) ۵ دقیقه از تزریق فرمالین تجویز گردیدند و پاسخ ضد درد ۰ تا ۵ دقیقه از تزریق فرمالین تجویز گردیدند (شکل A فاز حاد) و ۱۵-۶۰ دقیقه (شکل B فاز مزمن) پس از تزریق فرمالین ثبت گردید. هر نقطه میانگین \pm SEM ۷ آزمایش می‌باشد.

است. برای توجیه این پدیده می‌توان فرض نمود که اثر ضد درد ایمی‌پرامین از طریق نخاعی اعمال می‌گردد و داروهای آلفا آدرنرژیک از طریق اثر بر مراکز فوق نخاعی اثر ضد درد ایمی‌پرامین را تعدیل می‌نمایند به نحوی که تزریق داروی آگونیست آلفا-۲ آدرنرژیک موجب تشدید اثر ایمی‌پرامین شده و در مقابل تجویز داروهای آنتاگونیست آلفا آدرنرژیک منجر به مهار اثر ضد درد ایمی‌پرامین می‌گردد. البته احتمال انتشار داروهای آدرنرژیک منجر به نخاع از طریق جریان مایع مغزی نخاعی نیز وجود دارد.

لازم به ذکر است که یوهمبین ($2 \mu\text{g/rat}$, ICV) قادر به مهار پاسخ دوزهای بالاتر ایمی‌پرامین (IP, mg/kg, ۴۰، ۲۰) به تنها یابه علاوه کلونیدین نمی‌باشد. فرض بر آن است که پاسخ دوزهای بالاتر ایمی‌پرامین فقط از طریق گیرنده‌های آلفا-۲ حساس به یوهمبین میانجیگری نمی‌شود. بر اساس آزمایشات صورت گرفته تجویز ICV دوزهای مختلف آگونیست آلفا-۱ آدرنرژیک، فنیل افرين، نیز به صورت واپسیت به دوز، واجد اثر ضد درد است اما تجویز همزمان آن با ایمی‌پرامین تأثیری بر پاسخ ایمی‌پرامین ندارد. گزارشات دیگر نیز نشان داده‌اند که آگونیست‌های گیرنده آلفا-۱ آدرنرژیک قدرت و کارایی کمتری در تست‌های درد از خود نشان می‌دهند [۳۱، ۲۸]. تزریق پرازووسین (آنتاگونیست گیرنده آلفا-۱ آدرنرژیک) به صورت ICV در آزمایش فرمالین فاقد اثر است و همچنین پاسخ بی‌دردی ایمی‌پرامین به تنها یابه علاوه کلونیدین ($0.05 \mu\text{g/rat}$, ICV) به کار رفت که منجر به فنیل افرين را نیز تحت تأثیر قرار نمی‌دهند. بنابراین دخالت مکانیسم گیرنده آلفا-۱ آدرنرژیک در پاسخ ناشی از ایمی‌پرامین غیر محتمل به نظر می‌رسد. اگر چه دوزهای کم یوهمبین ($2 \mu\text{g/rat}$, ICV) به علاوه

بروی سیستم عصبی مرکزی منجر به بروز بی‌دردی می‌شوند [۱]. بطوریکه اثر بی‌دردی ناشی از داروهای ضدافسردگی سه حلقه‌ای با تجویز داخل نخاعی (IT) آنها گزارش شده است [۱۰، ۱۱]. بنابراین احتمال نیز وجود دارد که پاسخ بی‌دردی ناشی از تجویز IP ایمی‌پرامین نیز از طریق مسیر نخاعی میانجیگری گردد. تزریق ICV کلونیدین (آگونیست آلفا-۲ آدرنرژیک) خود به تنها یابه علاوه برخی از مطالعات نشان داده‌اند که اثر ضد درد ناشی از گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک از طریق مراکز نخاعی و فوق نخاعی هر دو اعمال می‌شود [۲۸، ۲۰]. در این آزمایش نیز جهت بررسی نقش گیرنده‌های آلفا آدرنرژیک، اثر تجویز ICV آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های آلفا آدرنرژیک بر بی‌دردی ناشی از تزریق IP ایمی‌پرامین مورد مطالعه قرار گرفت. بر اساس داده‌های موجود تجویز دوز کم ایمی‌پرامین (mg/kg, IP, ۱۰) و تزریق ICV دوزهای مختلف کلونیدین، موجب تشدید اثر ضد درد ایمی‌پرامین در فاز دوم آزمایش فرمالین می‌گردد. اگر چه بر فاز اول بی‌تأثیر است. از طرف دیگر، تجویز ICV قبلی یوهمبین (آنتاگونیست گیرنده آلفا-۲ آدرنرژیک) قادر به حذف چنین پاسخی می‌باشد. در بخش دیگری از آزمایشات، ترکیبی از دوزهای مختلف ایمی‌پرامین (تزریق IP) و دوز کم کلونیدین ($0.05 \mu\text{g/rat}$, ICV) به کار رفت که منجر به تشدید پاسخ ضد درد ایمی‌پرامین در فاز دوم آزمایش فرمالین گردید. به طور کلی مجموع این شواهد نشان‌دهنده دخالت گیرنده آلفا-۲ در بی‌دردی ناشی از ایمی‌پرامین می‌باشد که با نتایج بدست آمده توسط برخی از دیگر تحقیقات نیز همخوانی دارد [۸]. البته در این مطالعه تزریق ICV ایمی‌پرامین اثر ضد دردی نداشته

اعمال می‌گردد و این بدان معنی است که هر دو گیرنده به صورت «سری» عمل می‌کنند (یعنی بخشی از مکانیسم عمل گیرنده آلفا-۲ وابسته به گیرنده آلفا-۱ می‌باشد). بدین ترتیب اثر ضد درد ناشی از کلوبنیدین از طریق گیرنده‌های آلفا-۱ و آلفا-۲ هر دو اعمال می‌شود و یا اینکه دست کم بخشی از اثرات کلوبنیدین از طریق یک گیرنده آلفا-۲ حساس به پرازوسین میانجیگری می‌شود. گزارشات مبنی بر وجود چنین گیرنده‌هایی توسط مطالعات ژنتیک (با کلون کردن ژن‌های مربوطه) تأیید شده و این گیرنده‌ها تحت عنوان β_2 نام‌گذاری شده‌اند. اما تا به امروز عملکرد آنها دقیقاً مشخص نشده است [۲۸، ۲۹]. به طور خلاصه می‌توان نتیجه گرفت که گیرنده‌های مختلف آلفا-۲ آدرنرژیک به نحوی در بی‌دردی ناشی از ایمپرامین دخالت دارند.

پرازوسین ($0.05 \mu\text{g}/\text{rat}$, ICV) خود به تنهایی قادر به کاهش پاسخ ضد درد ناشی از دوزهای بالاتر ایمپرامین ($40, 40 \text{ mg/kg}$, IP) نیستند اما ترکیب این دو آنتاگونیست منجر به کاهش پاسخ دوزهای بالای ایمپرامین به تنهایی و یا ایمپرامین به علاوه کلوبنیدین ($0.05 \mu\text{g}/\text{rat}$, ICV) می‌گردد، این که این پاسخ مربوط به تغییر در مکانیسم‌های وابسته به گیرنده آلفا-۲ آدرنرژیک است یا از طریق دیگر اعمال می‌شود، هنوز کاملاً روش نشده و بررسی‌های بیشتری لازم است. برای توجیه این پدیده دو فرضیه را می‌توان مطرح نمود. اول اینکه برخی گزارشات موجود حاکی از آن است که بی‌دردی ناشی از کلوبنیدین در آزمون‌های درد از طریق گیرنده‌های آلفا-۱ و آلفا-۲ آدرنرژیک که در مناطق مختلف مسیرهای پردازش درد واقع شده‌اند،

منابع

- [1] Ansuategui, M., Naharro, L. and Feria, M., Noradrenergic and opioidergic influences on the antinociceptive effect of clomipramine in the formalin test in rats, *Psychopharmacology*, 98 (1989) 93-96.
- [2] Acton, J., McKenna, J. E. and Melzack, R., Amitriptyline produces analgesia in formalin pain test, *Exp. Neurol.*, 117 (1992) 94-96.
- [3] Baldessarini, R. J., Drugs and the treatment of psychiatric disorders. In: J. G. Hardman, L. E. Limbird, (Eds.), *Goodman & Gilman's, the pharmacological basis of therapeutics*, 9th edition, McGraw-Hill, New York, (1996) 431-459.
- [4] Clavelou, P., Dallel, R., Orliaguet, T., Woda, A. and Raboisson, P., The orofacial formalin test: effect of different formalin concentrations, *Pain*, 62 (1995) 295-301.
- [5] Dubuisson, D. and Dennis, S. G., The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats, *Pain*, 4 (1977) 161-174.
- [6] Enna, S. J. and Kendall, D. A., Interaction of antidepressants with brain neurotransmitter receptors, *J. Clin. Psychopharmacol.*, 1 (1981) 21-16.
- [7] Feinmann, C., Pain relief by antidepressants: possible modes of action, *Pain*, 23 (1985) 1-8.
- [8] Ghelardini, C., Galeotti, N. and Bartolini, A., Antinociception induced by amitriptyline and imipramine is mediated by alpha(2a)-adrenoceptors, *Jpn. J. Pharmacol.*, 82 (2000) 130-137.
- [9] Haprisson, J. K., Pearson, W. R. and Lynch, K. R., Molecular characterization of α_1 - and α_2 -adrenoceptors, *Trends Pharmacol. Sci.*, 12 (1991) 62-67.

- [10] Hwang, A. S. and Wilcox, G. L., Analgesic properties of intrathecally administered heterocyclic antidepressants, *Pain*, 28 (1987) 343-355.
- [11] Iwashita, T. and Shimizu, T., Imipramine inhibits intrathecal substance P-induced behavior and blocks spinal cord substance P receptors in mice, *Brain Res.*, 581 (1992) 59-66.
- [12] Jett, M. F. and Michelson, S., The formalin test in rat: validation of an automated system, *Pain*, 64 (1996) 19-25.
- [13] Jett, M. F., McGurick, J., Waligora, D. and Hunter, J. C., The effect of mexiletine, desipramine and fluoxetine in rat models involving central sensitization, *Pain*, 69 (1997) 161-169.
- [14] Lang, E., Hord, A. H. and Denson, D., Venlafaxine hydrochloride (EffexorTM) relieves thermal hyperalgesia in rats with an experimental mononeuropathy, *Pain*, 68 (1996) 151-155.
- [15] Maggi, A., U'Prichard, D. C. and Enna, S. J., Differential effects of antidepressant treatment on brain monoaminergic receptors, *Eur. J. Pharmacol.*, 61 (1980) 91-98.
- [16] Magni, G., The use of antidepressants in the treatment of chronic pain. A review of current evidence, *Drugs*, 42 (1991) 730-748.
- [17] Max, M. B., Antidepressant drugs as treatment for chronic pain: Efficacy and mechanisms, *Adv. Pain Res. Ther.*, 22 (1995) 501-515.
- [18] Max, M. B., Schafer, S. C., Culnance, M., Dubner, R. and Gracely, R. H. Association of pain relief with drug side effects in postherpetic neuralgia: A single-dose study of clonidine, codeine, ibuprofen and placebo, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 43 (1988) 363-371.
- [19] McQuay, H. J., Tramer, M., Nye, B. A., Carroll, D., Wiffen, P. J. and Moore, R. A., A systemic review of antidepressants in neuropathic pain, *Pain*, 68 (1996) 217-227.
- [20] Minor, B. G., Danysz, W., Jonsson, G., Mohammed, A. K., Post, C. and Archer, T., Adaptive changes in α_2 adrenoceptor mediated response: analgesia, hypothermia and hypoactivity, *Pharmacol. Toxicol.*, 65 (1989) 143-151.
- [21] Richeimer, S. H., Bajwa, Z. h., Kahraman, S. S., Ransil, B. J. and Warfield C. A., Utilization patterns of tricyclic antidepressants in a multidisciplinary pain clinic: A survey, *Clin. J. Pain*, 13 (1997) 324-329.
- [22] Rosenblatt, M. R., Reich, J. and dehring, D., Tricyclic antidepressants in treatment of depression and chronic pain, *Anesth. Analg.*, 63 (1984) 1025-1032.
- [23] Sabetkasai, M., Khansefid, N., Yahyavi, S. H. and Zarrindast, M. R., Baclofen and antidepressant-induced antinociception in formalin test: possible mechanism involvement, *Psychopharmacology*, 142 (1999) 426-431.
- [24] Shibata, M., Ohkubo, T., Takahashi, H. and Inoki, R., Modified formalin test: characteristic biphasic pain response, *Pain*, 38 (1989) 347-352.
- [25] Sierralta, F., Pinardi, G. and Miranda, H. F., Effect of p-chlorophenylalanine and alpha-methyltyrosine on the antinociceptive effect of antidepressant drugs, *Pharmacol. Toxicol.*, 77 (1995) 276-280.
- [26] Sindrup, S. H. and Jensen, T. S., Efficacy of pharmacological treatments of neuropathic pain: an update and effect related to mechanism of drug action, *Pain*, 83 (1999) 389-400.
- [27] Tanelian, D. L. and Brose, W. G., Neuropathic pain can be relieved by drugs that are use-dependant sodium channel blockers: lidocaine, carbamazepine and mexiletine, *Anesthesiology*, 74 (1991) 949-951.
- [28] Tasker, R. A. R., Conell, B. J. and Yole, M. J., Systemic involvement of alpha-1 adrenergic agonists produce antinociception in the formalin test, *Pain*, 49 (1992) 383-391.
- [29] Valverde, o., Mico, J. A., Maldonado, R., Mellado, M. and Gibertrahola, J., Participation of opioid and monoaminergic mechanisms on the antinoceutive effect induced by tricyclic antidepressants in two behavioral pain tests in mice, *Prog. Neuro Psychopharmacol. Biol. Psychiat.*, 18 (1994) 1073-1092.

- [30] Ventafridda, V., Bianchi, M., Ripamonti, C., Sacerdote, P., De Conno, F., Zecca, E. and Panerai, A. E., Studies on the effects of antidepressant drugs on the antinociceptive action of morphine and on plasma morphine in rat and man, *Pain*, 43 (1990) 155-162.
- [31] Watkins, L. R., Thurston, C. L. and Fleshner, M., Phenylephrine-induced antinociception: investigations of potential neural and endocrine bases, *Brain Res.*, 528 (1990) 273-284.