

نقش گیرنده‌های آلفا آدرنرژیک مرکزی در بی‌دردی ناشی از تجویز ایمی‌پرامین با استفاده از آزمون فرمالین در موش صحرائی

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

چکیده

در این تحقیق اثر داروهای مؤثر بر گیرنده‌های آلفا آدرنرژیک بر روی بی‌دردی ناشی از تجویز محیطی ایمی‌پرامین، با آزمایش فرمالین در موش صحرائی مورد بررسی قرار گرفته است. تجویز داخل صفاقی (IP) دوزهای مختلف ایمی‌پرامین (۸۰-۱۰ mg/kg) اثر ضد درد وابسته به دوز را نشان می‌دهد اما تزریق داخل یطن مغزی (ICV) ایمی‌پرامین (۱۰، ۵، ۱۰ μg/rat) فاقد اثر است. از طرف دیگر تزریق ICV آگونیست گیرنده آلفا-۲ آدرنرژیک، کلونیدین، با دوزهای (۰/۰۵-۰/۸ μg/rat) نیز موجب بروز بی‌دردی در هر دو فاز آزمایش فرمالین گردید. به علاوه تجویز ICV کلونیدین منجر به تشدید پاسخ بی‌دردی ناشی از دوزهای مختلف ایمی‌پرامین (۴۰، ۲۰، ۱۰ mg/kg) می‌گردد. تجویز ICV آنتاگونیست گیرنده آلفا-۲ آدرنرژیک، یوهمبین، (۲ μg/rat) پاسخ ضد درد دوز کم ایمی‌پرامین (۱۰ mg/kg IP) به علاوه کلونیدین (۰/۰۵ μg/rat, ICV) را کاهش می‌دهد اما بر بی‌دردی ناشی از تجویز دوزهای بالاتر ایمی‌پرامین (۴۰، ۲۰ mg/kg, IP) به تنهایی و یا به علاوه کلونیدین (۰/۰۵ μg/rat, ICV) بی‌تأثیر 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، فنیل‌افرین (۰/۰۷-۱/۵ μg/rat) باعث بروز بی‌دردی در هر دو فاز آزمایش فرمالین می‌شود اما اثری بر بی‌دردی ناشی از دوزهای مختلف ایمی‌پرامین ندارد. تزریق آنتاگونیست رسپتور آلفا-۱ آدرنرژیک، پرازوسین (۲، ۱، ۰/۵ μg/rat) نیز به صورت ICV نه تنها تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل در آزمایش فرمالین ندارد بلکه فاقد هر گونه اثری بر دوزهای مختلف ایمی‌پرامین می‌باشد اما تجویز یوهمبین (۲ μg/rat, ICV) همراه با پرازوسین (۰/۵ μg/rat, ICV) موجب مهار بیشتر اثر دوزهای بالاتر ایمی‌پرامین (۴۰، ۲۰ mg/kg, IP) به تنهایی و یا به علاوه کلونیدین (۰/۰۵ μg/rat, ICV) می‌گردد. با توجه به یافته‌های فوق به نظر می‌رسد که رسپتورهای آلفا آدرنرژیک در بی‌دردی ناشی از ایمی‌پرامین دخیل می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: آلفا-۲ آدرنرژیک، ایمی‌پرامین، آزمایش فرمالین.

مقدمه

داروهای ضد افسردگی سه حلقه‌ای جهت تخفیف درد در انسان، در انواع سر درد، درد صورت، رحم، کمر درد، آرتریت، نورالژیای پست هرپتیک، نوروپاتی دیابتیک دردناک، درد معده، پلی‌نورپاتی و درد سرطان کاربرد بالینی دارند [۲۶، ۲۱، ۱۹]. مکانیسم‌های دخیل در بروز برخی از دردهای مزمن (مانند دردهای نوروپاتیک) به

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

مواد و روش‌ها

حیوانات - موش صحرانی (رات) نر از نژاد Wistar و با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ 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 ساعته 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 بلافاصله بعد از آزمایش از بین می‌رفت.

کار گذاشتن کانول - تمام حیوانات با تزریق IP کتامین هیدروکلراید (۵۰ mg/kg) و زایلازین هیدروکلراید (رامپون، ۴ mg/kg) بی‌هوش شده و پس از ثابت کردن جمجمه موش صحرانی توسط دستگاه استرنوتاکسی (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: $AP = 1/6mm$ (هر دو نسبت به برگما) و $V = 4mm$ از دورا، همچنین Nose bar در فاصله $3/5mm$ - از خطر اینتراورال قرار داشت. کانول در جمجمه حیوان و با استفاده از سیمان دندانپزشکی (آکریل) در نقطه مورد نظر تثبیت 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 دردمتفاوت می‌باشند و اغلب به داروهای ضد درد معمول مانند اپیوئیدها و داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAIDs) مقاوم می‌باشند [۲۷، ۱۸]. به نظر می‌رسد آزمایش فرمالین مدل مناسب‌تری جهت بررسی درد بالینی نسبت به آزمایشی Tail-flick و Hot-plate می‌باشد [۴، 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 تخلیه‌کننده‌های مونوآمینی مانند پارا-کلروفیل آلانین و آلفا - متیل پاراتیروزین، دخالت سیستم مونوآمینرژیک (از جمله سیستم نورآدرنژیک) 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 می‌باشند [۲۹، ۲۲، ۱۷، ۳]. به نظر می‌رسد که تغییر در حساسیت گیرنده‌های آلفا و بتا آدرنژیک 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 می‌باشند. اگر چه به نظر می‌رسد که مهار باز جذب نورآدرنالین در اثر درمانی آن تعیین کننده‌تر باشد [۱۷، ۱۶، ۱۳]. 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 آدرنژیک 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: ایمی پرامین (پارس دارو، ایران) فینیل افرین هیدروکلراید، کلونیدین هیدروکلراید، پرازوسین هیدروکلراید و یوهمبین (سیگما). داروها همگی در سالیان محلول بوده و به صورت ICV و با حجم $3 \mu\text{l}/\text{rat}$ تزریق می‌گردیدند و تنها تجویز ایمی پرامین به صورت IP و با حجم $5 \text{ ml}/\text{kg}$ صورت گرفت.

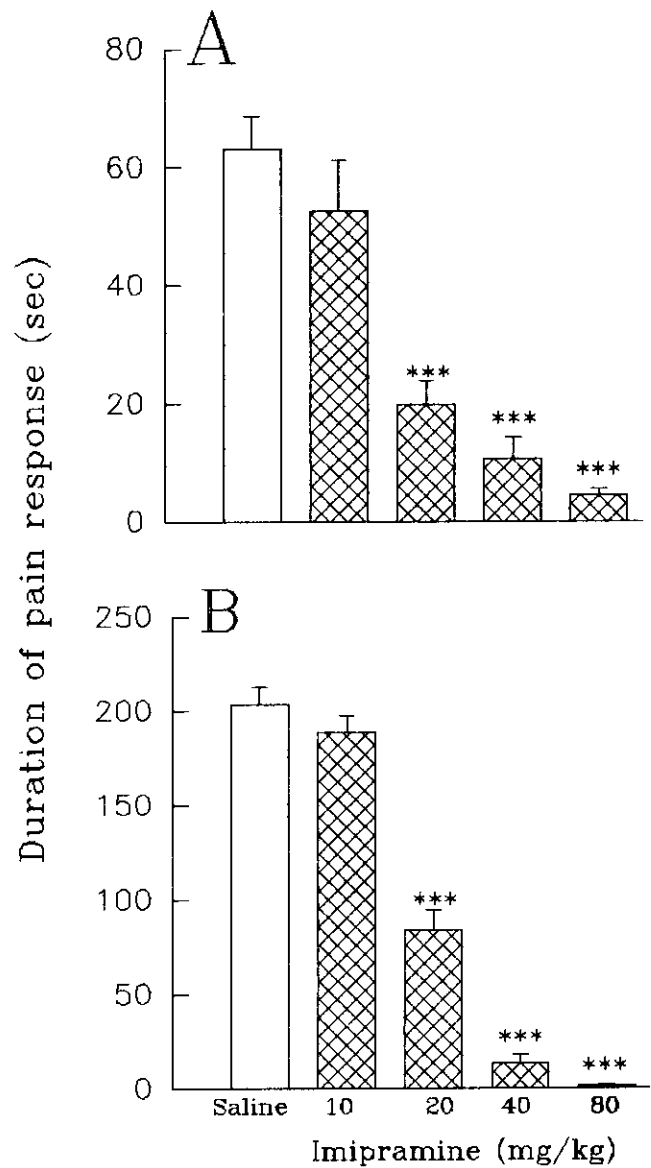
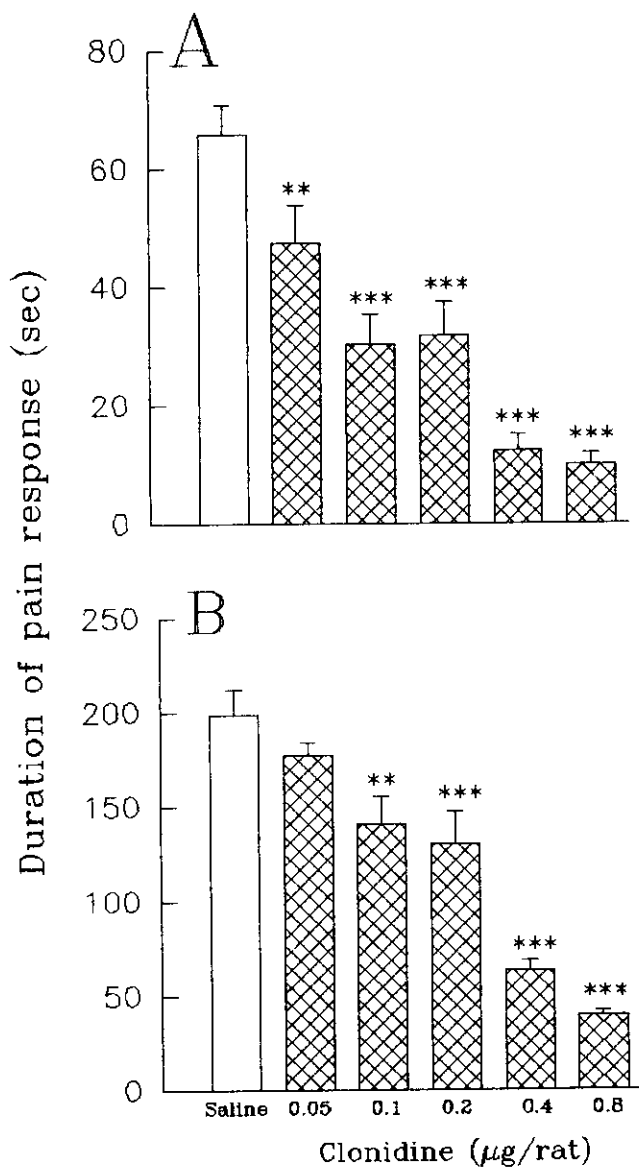
تجزیه و تحلیل آماری - آزمون‌های آماری ANOVA یک طرفه و دو طرفه به همراه روش Newman Keul's جهت تجزیه آماری داده‌های موجود مورد استفاده قرار گرفتند. اختلاف میانگین‌ها با $P < 0.05$ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شده و هر نقطه میانگین $\pm \text{SEM}$ داده‌های مربوط به ۷ آزمایش می‌باشد.

نتایج

اثر بی‌دردی ایمی پرامین در آزمایش فرمالین - شکل ۱، اثر دوزهای مختلف ایمی پرامین ($80, 40, 20 \text{ mg}/\text{kg}$)، ۱۰) در آزمایش فرمالین را نشان می‌دهد. تزریق IP ایمی پرامین به صورت وابسته به دوز منجر به بروز اثر بی‌دردی در فاز حاد [$F(4, 30) = 2677, P < 0.0001$] و فاز مزمن [$F(4, 30) = 13505, P < 0.0001$] آزمایش فرمالین می‌گردد (آزمون ANOVA یک طرفه). حداکثر پاسخ با دوز $80 \text{ mg}/\text{kg}$ به دست آمد. اما تزریق ICV ایمی پرامین ($10, 5, 1 \mu\text{g}/\text{rat}$) در فاز اول و دوم آزمایش فرمالین تفاوت معنی‌داری با تزریق سالیان نشان نداد. اثر بی‌دردی ناشی از ایمی پرامین 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 تیوپ پلی اتیلنی به یک سرنگ هاملتون $5 \mu\text{l}$ متصل بود. محلول‌های تزریقی با حجم $3 \mu\text{l}$ و در مدت زمان ۱ دقیقه به آرامی تزریق می‌شدند و سر سوزن تزریقی به مدت یک دقیقه پس از تزریق نیز در کانول راهنما نگهداشته می‌شد تا انتشار دارو به سهولت صورت گیرد.

ثبت پاسخ بی‌دردی - 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، $50 \mu\text{l}$ از فرمالین ۵٪ 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 (20×25) سانتی‌متر) قرار داده می‌شدند. به طوری که مشاهده دقیق کف پای حیوان از طریق یک سطح شیشه‌ای و یک آینه که با زاویه 45° در زیر سیلندر قرار داشت، به راحتی امکان‌پذیر بود. پاسخ به محرک شیمیایی دردزا (فرمالین) بلافاصله 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 $\pm \text{SEM}$ پاسخ بین ۵-۰ دقیقه اول (فاز حاد) و ۶۰-۱۵ دقیقه پس از تزریق (فاز مزمن) در نمودارها نشان



شکل ۲- پاسخ بی‌دردی وابسته به دوز کلونیدین در آزمایش فرمالین - تزریق ICV سالین (۳ µl/rat) و یا کلونیدین (۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸ µg/rat) ۵ دقیقه، قبل از تزریق فرمالین در موش صحرانی 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.

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

شکل ۱- اثر بی‌دردی وابسته به دوز ایمپی پرامین در آزمایش فرمالین - تجویز نرمال سالین (۱۰ ml/kg) و ایمپی پرامین (۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ mg/kg) در موش صحرانی 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.

نشان‌دهنده اثر بی‌دردی ناشی از کلونیدین می‌باشد. تزریق ICV دوزهای مختلف کلونیدین ($0/8, 0/4, 0/2 \mu\text{g}/\text{rat}$) منجر به بروز اثر بی‌دردی در فاز حاد ($0/05, 0/1$) [F(5, 36)=20/1, P<0/0001] و فاز مزمن ($0/05, 0/1$) [F(5, 36)=30/1, P<0/0001] آزمایش فرمالین می‌گردد (آزمون آماری ANOVA یک طرفه).

اثر بی‌دردی دوزهای مختلف کلونیدین به تنهایی و کلونیدین به علاوه ایمی‌پرامین (با یا بدون یوهمبین) در شکل شماره ۳، آورده شده است. آزمون آماری ANOVA دو طرفه نشان دهنده تداخل بین پاسخ ناشی از دوزهای مختلف کلونیدین و کلونیدین به علاوه ایمی‌پرامین ($10 \text{ mg}/\text{kg IP}$) در فاز دوم آزمایش فرمالین [F(3, 48)=7/4, P<0/0001] می‌باشد. اگر چه در فاز اول (حاد) تداخل اثری مشاهده نشد. همچنین با آزمون ANOVA دو طرفه می‌توان نتیجه گرفت که پاسخ تشدید شونده کلونیدین به علاوه ایمی‌پرامین با تجویز قبلی یوهمبین ($2 \mu\text{g}/\text{rat, ICV}$) 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 ($10, 20, 40 \text{ mg}/\text{kg, IP}$) به تنهایی و نیز همراه با کلونیدین ($0/05 \mu\text{g}/\text{rat, ICV}$) یا یوهمبین ($2 \mu\text{g}/\text{rat, ICV}$) 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 تشدید اثر بی‌دردی ناشی از ایمی‌پرامین در فاز اول [F(3, 48)=10/4, P<0/0001] و فاز دوم [F(3, 48)=9, P<0/0001] آزمایش فرمالین می‌گردد. از طرف دیگر اگر چه یوهمبین پاسخ ناشی از ایمی‌پرامین به علاوه کلونیدین را در فاز دوم (مزمن)

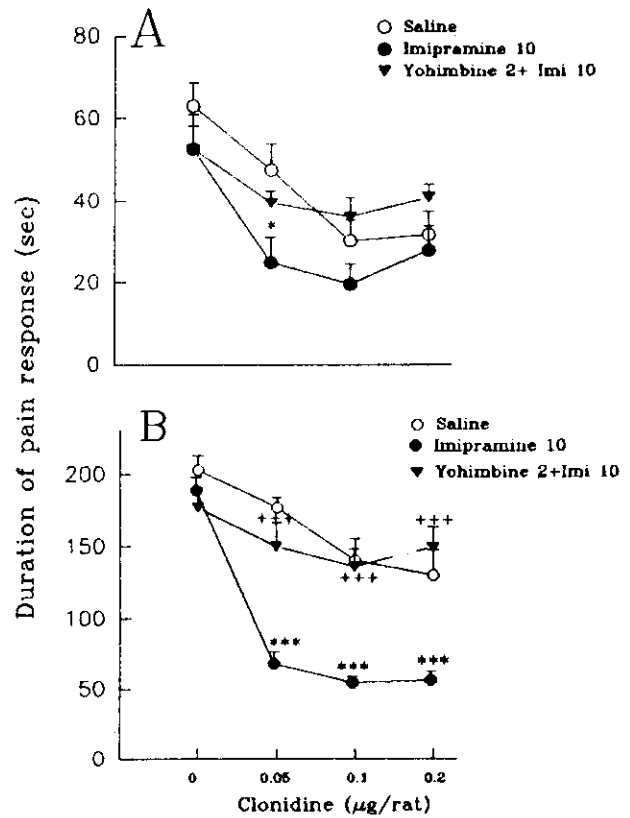
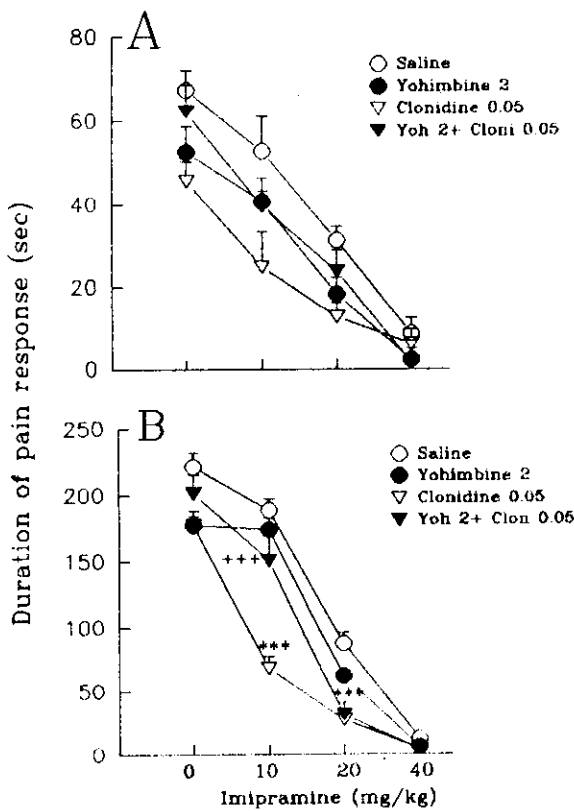
کاهش می‌دهد [F(3, 48)=10/4, P<0/0001] (بر فاز اول بی‌اثر است) اما آزمون‌های آماری مکمل نشان داد که یوهمبین فقط بر پاسخ کلونیدین به علاوه دوز کم ایمی‌پرامین ($10 \text{ mg}/\text{kg, IP}$) مؤثر بوده است (مانند شکل ۳). همچنین دوزهای مختلف یوهمبین ($8 \mu\text{g}/\text{rat, ICV}$)، $2, 4$ قادر به تغییر بی‌دردی ناشی از ایمی‌پرامین ($20 \text{ mg}/\text{kg, IP}$) در فاز حاد و مزمن آزمایش فرمالین نمی‌باشند.

اثر بی‌دردی ایمی‌پرامین همراه یا بدون آگونیست و آنتاگونیست گیرنده آلفا-۱ آدرنرژیک - اثر بی‌دردی فنیل‌افرین در شکل ۵ نشان داده شده است. تزریق ICV دوزهای مختلف فنیل‌افرین ($1/5, 0/6, 0/3 \mu\text{g}/\text{rat}$)، $0/15, 0/07$ دارای اثر بی‌دردی در فاز حاد [P<0/005]، $3/2$ [F(5, 36)=3/2, P<0/0001] و فاز مزمن [F(5, 36)=15, P<0/0001] ANOVA آزمایش فرمالین می‌باشد (آزمون آماری ANOVA یک طرفه).

همچنین تزریق ICV دوزهای مختلف پرازوسین ($2, 1, 0/5 \mu\text{g}/\text{rat}$)، $0/5$ تغییر معنی‌داری در بی‌دردی ناشی از ایمی‌پرامین ($20 \text{ mg}/\text{kg, IP}$) در فاز اول و دوم آزمایش فرمالین بوجود نمی‌آوردند.

شکل شماره ۶، نشان‌دهنده اثر بی‌دردی ناشی از دوزهای مختلف فنیل‌افرین و نیز ایمی‌پرامین به علاوه فنیل‌افرین می‌باشد. تجزیه آماری با استفاده از آزمون ANOVA دو طرفه هیچ تداخلی بین پاسخ ناشی از دوزهای مختلف فنیل‌افرین ($1/5, 0/6, 0/3 \mu\text{g}/\text{rat, ICV}$)، $0/15, 0/07$ و دوز کم ایمی‌پرامین ($10 \text{ mg}/\text{kg, IP}$) در فاز اول یا دوم آزمون فرمالین را نشان نمی‌دهد.

اثر بی‌دردی ناشی از دوزهای مختلف ایمی‌پرامین ($10, 20, 40 \text{ mg}/\text{kg, IP}$) به تنهایی و یا همراه با فنیل‌افرین ($0/07 \mu\text{g}/\text{rat, ICV}$) یا پرازوسین ($0/5 \mu\text{g}/\text{rat, ICV}$)



شکل ۴- اثر بی‌دردی ناشی از تجویز دوزهای مختلف ایمی پرامین به تنهایی و همراه با یوهیمبین، کلونیدین و یا یوهیمبین به علاوه کلونیدین - ایمی پرامین (۱۰، ۲۰، ۴۰ mg/kg) به صورت IP ۱۵ دقیقه، کلونیدین (۰/۰۵ µg/rat, ICV) ۵ دقیقه و یوهیمبین (۲ µg/rat, ICV) ۳۰ دقیقه قبل از تجویز فرمالین تزریق شدند و پاسخ بی‌دردی طی ۰ تا ۵ دقیقه (شکل A فاز حاد) و ۶۰-۱۵ دقیقه (شکل B فاز مزمن) پس از تزریق فرمالین ثبت گردید. هر نقطه میانگین \pm SEM آزمایش می‌باشد.

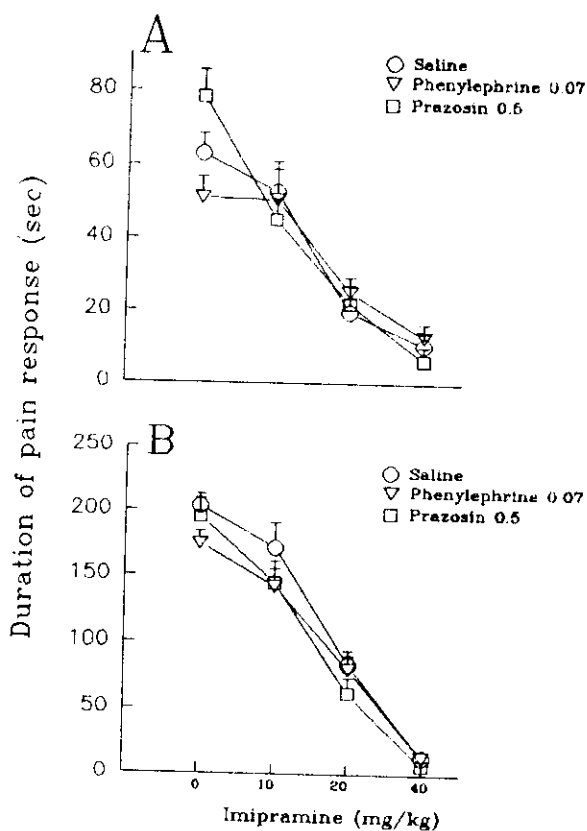
*** $P < 0/001$ اختلاف از گروه ایمی پرامین به علاوه سالین می‌باشد.

+++ $P < 0/001$ اختلاف از گروه کلونیدین به علاوه ایمی پرامین می‌باشد.

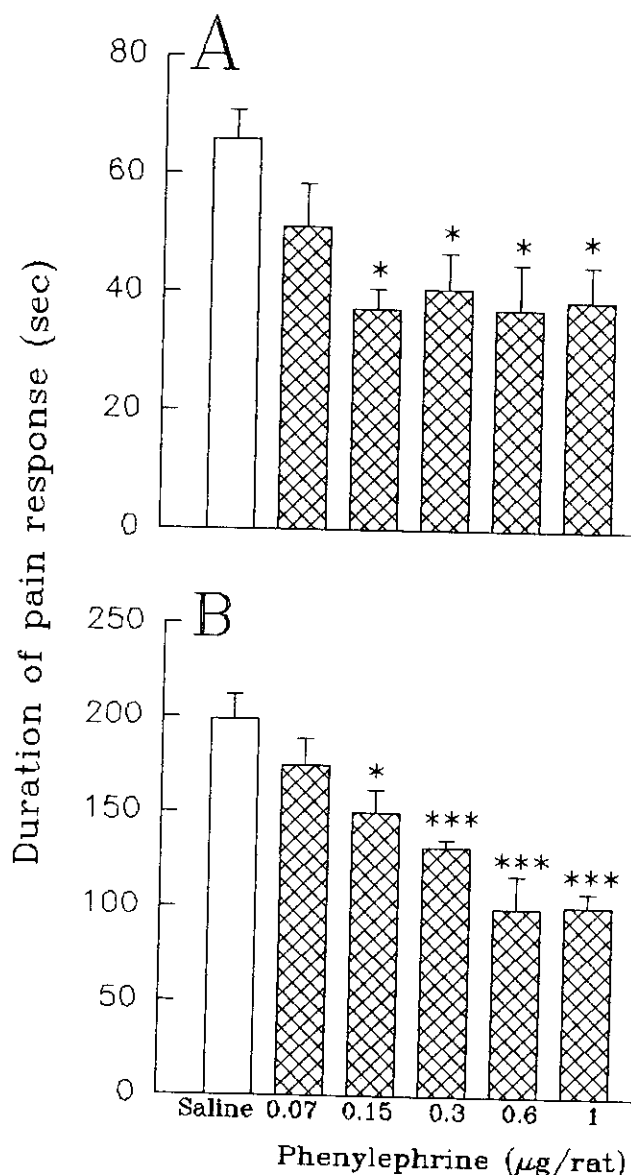
شکل ۳- اثر بی‌دردی ناشی از تجویز دوزهای مختلف کلونیدین به تنهایی، کلونیدین به علاوه ایمی پرامین و ترکیب کلونیدین و ایمی پرامین در حضور یوهیمبین - ایمی پرامین (۱۰ mg/kg) به صورت IP ۱۵ دقیقه قبل از آزمایش فرمالین، کلونیدین (۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸ µg/rat, ICV) ۵ دقیقه و یوهیمبین (۲ µg/rat, ICV) ۳۰ دقیقه قبل از تزریق فرمالین، تجویز گردیدند و اثر بی‌دردی 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، آزمایش می‌باشد.

*** $P < 0/001$ اختلاف از گروه دریافت کننده کلونیدین به تنهایی می‌باشد.

+++ $P < 0/001$ اختلاف از گروه ایمی پرامین، به علاوه کلونیدین می‌باشد.



شکل ۶- اثرات بی‌دردی ناشی از تجویز دوزهای مختلف فنیل آفرین به تنهایی و یا همراه با ایمپرامین - ایمپرامین (۱۰ mg/kg) به صورت IP ۱۵ دقیقه و فنیل آفرین (۰/۰۷، ۰/۱۵، ۰/۳، ۰/۱۵، ۰/۰۷ μg/rat, ICV) به صورت ICV ۵ دقیقه قبل از تزریق فرمالین تجویز گردیدند و پاسخ ضد درد ۰ تا ۵ دقیقه (شکل A فاز حاد) و ۶۰-۱۵ دقیقه (شکل B فاز مزمن) پس از تزریق فرمالین ثبت گردید. هر نقطه میانگین ± SEM، ۷ آزمایش می‌باشد.



شکل ۵- اثر بی‌دردی وابسته به دوز فنیل آفرین در آزمایش فرمالین - سالیین (۳ μg/rat, ICV) و یا فنیل آفرین (۰/۰۷، ۰/۱۵، ۰/۳، ۰/۶، ۱/۵ μg/rat, ICV) ۵ دقیقه قبل از آزمایش فرمالین به صورت ICV تزریق گردید. اثر بی‌دردی طی ۰ تا ۵ دقیقه (شکل A فاز حاد) و ۶۰-۱۵ دقیقه (شکل B فاز مزمن) پس از تزریق فرمالین ثبت گردید. هر نقطه میانگین ± SEM، ۷ آزمایش می‌باشد. *P<۰/۰۵ و ***P<۰/۰۰۱ اختلاف از گروه سالیین مربوطه را نشان می‌دهد.

جدول ۱. اثر بی‌دردی ناشی از تجویز دوزهای مختلف ایمپیرامین، کلونیدین و فنیل‌افرین طی ۰-۱۵ دقیقه (فاز حاد) و ۱۵-۶۰ دقیقه (فاز مزمن) پس از تزریق فرمالین.

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

کلونیدین ۰/۴ μg/rat	کلونیدین ۰/۲ μg/rat	کلونیدین ۰/۱ μg/rat	کلونیدین ۰/۰۵ μg/rat	سالین
۱۲/۳±۲/۸***	۳۱/۷±۵/۹***	۳۰/۳±۵/۰***	۴۷/۶±۶/۳**	فاز حاد
۶۳/۴±۵/۴***	۱۳۰/۲±۱۷/۳***	۱۴۰/۴±۱۵/۳**	۱۷۷/۵±۶/۴	فاز مزمن

فنیل‌افرین ۰/۶ μg/rat	فنیل‌افرین ۰/۳ μg/rat	فنیل‌افرین ۰/۱۵ μg/rat	فنیل‌افرین ۰/۰۷ μg/rat	سالین
۳۷/۴±۷/۶*	۴۰/۷±۶/۱*	۳۷/۲±۳/۴*	۵۱/۱±۷/۳*	فاز حاد
۱۰۰/۳±۱۷/۲***	۱۳۲/۱±۴/۱***	۱۴۹/۷±۱۲/۰***	۱۷۴/۴±۱۴/۴*	فاز مزمن

تجویز ICV سالین ()، کلونیدین و فنیل‌افرین ۵ دقیقه قبل از تزریق فرمالین صورت گرفت. همچنین دوزهای مختلف ایمپیرامین به صورت IP، ۱۵ دقیقه قبل از تزریق فرمالین تجویز گردیدند، و پاسخ بی‌دردی ۰-۱۵ دقیقه و ۱۵-۶۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین اندازه‌گیری شد. هر نقطه میانگین \pm SEM ۷ حیوان می‌باشد.
 $P < 0.05$ *، $P < 0.01$ **، $P < 0.001$ *** اختلاف از گروه سالین مربوطه است.

علاوه کلونیدین (ICV, ۰/۰۵ μg/rat, $P < 0.001$)،
 $F(3, 27) = 8.7$ و ایمی‌پرامین (IP, ۴۰ mg/kg) به
 علاوه کلونیدین (ICV, ۰/۰۵ μg/rat, $P < 0.001$)،
 $F(3, 27) = 5.9$ در فاز دوم آزمایش فرمالین می‌گردد.

بحث

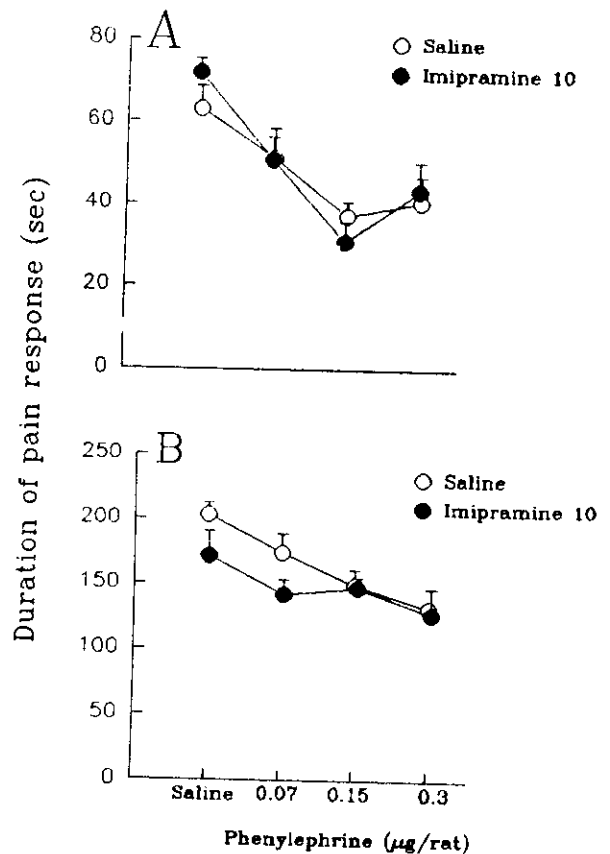
آزمون فرمالین که در واقع یک مدل درد در
 جواندگان بوده و منجر به افزایش حساسیت سیستم عصبی
 مرکزی نسبت به محرک‌های دردزا و کاهش آستانه
 دردی‌شود، اولین بار توسط Dennis و Dubuisson
 ابداع گردید [۵]. تزریق زیر جلدی فرمالین رقیق شده در
 زیر پوست کف یکی از پاهای حیوان منجر به بروز یک
 پاسخ دو فازی می‌گردد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

شکل ۷ ملاحظه می‌شود. با نتیجه‌گیری از آزمون آماری
 ANOVA دو طرفه می‌توان گفت که فنیل‌افرین و
 پرازوسین بر پاسخ بی‌دردی ناشی از تجویز ایمی‌پرامین
 (در هر دو فاز آزمایش فرمالین) بی‌تأثیر می‌باشند.
 اثر ترکیب پرازوسین و یوهمبین بر بی‌دردی ناشی از
 تجویز ایمی‌پرامین - ترکیب دوزهای کم یوهمبین
 (ICV, ۲ μg/rat) و پرازوسین (ICV, ۰/۵ μg/rat) که
 خود به تنهایی فاقد هر گونه اثری هستند، منجر به کاهش
 اثر بی‌دردی ناشی از تجویز IP ایمی‌پرامین mg/kg
 ۲۰ [$F(3, 27) = 21.8$, $P < 0.001$] و ۴۰ mg/kg
 [$F(3, 27) = 10$, $P < 0.001$] در فاز دوم آزمایش فرمالین
 می‌گردد. همچنین ترکیب یوهمبین و پرازوسین منجر به
 کاهش بی‌دردی ناشی از ایمی‌پرامین (IP, ۲۰ mg/kg) 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 نوراپی 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 [۱۶، ۷، ۳]. این فرضیه با شواهدی که نشان‌دهنده کاهش اثر بی‌دردی داروهای ضدافسردگی سه حلقه‌ای با تجویز قبلی آلفا- متیل تیروزین و پاراکلروفنیل آلانین می‌باشد، تأیید می‌گردد [۲۹، ۲۵].

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 ایمپرامین در آزمون فرمالین مورد بررسی قرار گرفته است. بر اساس داده‌های موجود، تزریق ICV ایمپرامین تفاوت معنی‌داری با تجویز سالیین 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 ایمپرامین گزارش شده بود [۲۴، ۲۳]. 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 ایمپرامین همراه یا بدون فنیل افرین یا پرازوسین - ایمپرامین (۱۰، ۲۰، ۴۰ mg/kg) به صورت IP ۱۵ دقیقه، فنیل افرین (۰/۵، ۱/۵، ۳/۰ µg/rat) از تزریق فرمالین تجویز گردیدند و پاسخ ضد درد ۰ تا ۵ دقیقه (شکل A فاز حاد) و ۶۰-۱۵ 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 آلفا آدرنرژیک منجر به نخاع از طریق جریان مایع مغزی نخاعی نیز وجود دارد.

لازم به ذکر است که یوهمبین ($2 \mu\text{g}/\text{rat}$, ICV) قادر به مهار پاسخ دوزهای بالاتر ایمی‌پرامین (mg/kg , IP) (۲۰، ۴۰) به تنهایی و یا به 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، فنیل‌افرین، نیز به صورت وابسته 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 [۲۸، ۳۱]. تزریق پرازوسین (آنتاگونیست گیرنده آلفا-۱ آدرنرژیک) به صورت ICV در آزمایش فرمالین فاقد اثر است و همچنین پاسخ بی‌دردی ایمی‌پرامین به تنهایی و یا ایمی‌پرامین به علاوه فنیل‌افرین 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 ($2 \mu\text{g}/\text{rat}$, 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 [۱۱، ۱۰]. 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 تنهایی دارای اثر ضد درد وابسته به دوز می‌باشد. به 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 ($0/05 \mu\text{g}/\text{rat}$, 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 درد 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 کلونیدین از طریق گیرنده‌های آلفا-۱ و آلفا-۲ هر دو اعمال می‌شود و یا اینکه دست کم بخشی از اثرات کلونیدین 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 $\alpha_2\beta$ نام‌گذاری شده‌اند. اما تا به امروز عملکرد آنها دقیقاً مشخص نشده است [۲۸، ۹]. به طور خلاصه می‌توان نتیجه گرفت که گیرنده‌های مختلف آلفا-۲ آدرنرژیک به نحوی در بی‌دردی ناشی از ایمپی‌پرامین دخالت دارند.

پرازوسین ($0/05 \mu\text{g}/\text{rat}$, ICV) خود به تنهایی قادر به کاهش پاسخ ضد درد ناشی از دوزهای بالاتر ایمپی‌پرامین ($40, 20 \text{ mg}/\text{kg}$, IP) نیستند اما ترکیب این دو آنتاگونیست منجر به کاهش پاسخ دوزهای بالای ایمپی‌پرامین به تنهایی و یا ایمپی‌پرامین به علاوه کلونیدین ($0/05 \mu\text{g}/\text{rat}$, 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 روشن 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 کلونیدین 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 $\alpha_2(2a)$ -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., Cullnane, 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, *Anaesthesiology*, 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 antinociceptive 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.