اثر مسدود کننده های کانالهای کلسیمی دی هیدروپیریدینی بر پاسخ درد ناشی از فرمالین در موش سوری

۱* محمد رضا نصیرزاده ، علیرضا نورآذر میرهادی خیاط نوری ، محمد رضا نصیرزاده ، علیرضا نورآذر

خلاصه

سابقه و هدف: کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ نقش مهمی در کارکرد سلول های قلبی و بافت های عصبی و عروقی دارند. نیمودیپین، نیفدیپین و آمیلودیپین، مهار کنندههای کانالهای کلسیمی دی هیدروپیریدینی با کاربرد وسیع برای درمان بیماریهای قلبی- عروقی می باشند. برخی مطالعات نشان دادهاند که مهار کنندههای کانالهای کلسیمی اثرات ضد دردی و ضد التهابی در مدل های مختلف حیـوانی دارنــد؛ هــر چند در همه مدل ها این اثرات نشان داده نشده است. هدف از این مطالعه تعیین اثر نیمودیپین، نیفدیپین و آمیلودیپین بر رفتار درد و التهاب ناشی از فرمالین در موش سوری میباشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، از تعداد ٦٠ سر موش سوری نر نژاد NMRI، با وزن بسین ٣٠-٢٥ گـرم استفاده شـد. نيمـوديپين، نیفدیپین و آمیلودیپین با دوز ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی و تک دوز، ۳۰ دقیقه قبل از تزریق کف پایی ۲۰ میکرولیتر فرمالین ٥ درصد، تزریق شد. مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده به عنوان پاسخ درد در فواصل زمانی ٥ دقیقه ای به مدت یک ساعت ثبت شد.

نتایج: نتایج نشان داد که تزریق کف پایی فرمالین یک رفتار درد دو مرحلهای (۱۰۵۰ p<۱۰۰۰) (مرحله اول: ۵-۰ و مرحله دوم: ۲۰-۲۰ دقیقه پـس از تزریق) ایجاد می کند. تزریق داخل صفاقی نیمودیپین، نیفدیپین و آمیلودیپین قبل از فرمالین، پاسخ درد مرحله دوم (درد التهابی) را به طــور معنی دار (p<٠/٠٥) کاهش می دهد. فقط نیمو دیپین رفتار در د مرحله اول (درد نوروژنیک) را به طور معنی دار کاهش می دهد (p<٠/٠٥). **نتیجه گیری:** بر اساس نتایج چنین می توان پیشنهاد کرد که نیمودیپین، نیفدیپین و آمیلودیپین اثر کاهش دهنده درد و التهاب ایجاد می کننـــد و فقط نیمودیبین درد نوروژنیک را کاهش میدهد. این اثرات احتمالاً به دلیل مسدود کردن کانالهای کلسیمی و کـاهش جریـان کلـسیم و در نتیجه کاهش آزاد سازی نوروترانسمیترها و دیگر واسطه های درد و التهاب است.

واژ گان کلیدی: مسدود کنندههای کانالهای کلسیمی دی هیدروپیریدینی، درد، فرمالین

۱- استادیار گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

۲- استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده دامیزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

* نویسنده مسوول: میر هادی خیاط نوری

آدرس: تبریز، خیابان شریعتی جنوبی، جنب دانشکده پرستاری، کوچه هرمز، کدپستی ۱۳۸۹٤۷۱۸۷ ه

يست الكترونيك: khayat_nouri@yahoo.com

تلفن: ٥٨٥٥ ٣٠٠ ١٩١٤

تاریخ پذیرش نهایی: ۸۷/۱۲/۱۲

تاریخ دریافت: ۸۷/۸/۲۵

دورنویس: ۹۳۵ ۹۳۷۳ ۱۱۱۰

مقدمه

آنتاگونیستهای کانالهای کلسیمی از دهه ۸۰ میلادی تا به حال برای درمان فشار خون استفاده می شوند. از زمان معرفی، این داروها مصارف گستردهای پیدا کرده و برای سایر بیماریها مانند آنژین صدری، تاکی آریتمیهای فوق بطنی، کاردیومیوپاتی هیپرتروفیک و پنومونی مصرف میشوند. در سالهای اخیر مصرف این داروها به دلیل اثرات جانبی قابل تحمل، به طور گسترده

افزایش یافته است [۱]. مهار کننده های کانال های کلسیمی دی هيدروپيريديني همچون نيموديپين، نيفديپين و آميلوديپين جريان یون کلسیم را از طریق کانالهای کلسیمی حساس به ولتاژ مهار مى كنند [۲]. كانال هاى كلسيمى از زير واحدهاى پلى پېتيدى مختلف با وزن مولكولي متفاوت تشكيل شده است. نشان دادهاند که کانالهای کلسیمی در قسمتهای مختلف CNS مثل قشر مغز، هيپوكمپ، مخچه و نخاع يافت مي شوند. آنتاگونيست اين كانالها

به زیر واحدهای پلی پپتیدی کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ متصل شده و از جریان Ca^{2+} جلوگیری می کنند [۳]. مهار کننـده-های کانالهای کلسیمی دی هیدروپیریدینی عمدتا بر کانالهای کلسیمی نوع L اثر می گذارند. تعدادی از آنتاگونیستهای کانال-های کلسیمی ممکن است از افزایش بیش از حد کلسیم نورونها پیشگیری کنند و احتمالا این کار را از طریق مهار غیراختصاصی کانالهای کلسیمی انجام میدهند [٤]. نشان داده شده است که در بسیاری از مدلهای حیوانی، مهار کنندههای کانالهای کلسیمی اثر محافظتی روی بافت عصبی دارند [٤]. همچنین گزارش کردهاند که این داروها اثرات ضد دردی در بعضی از مدلها داشته، ولی در همه مدلها این اثرات ثابت نشده است [۱۰-۵]. کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ نقش مهمی در کنترل عملکرد سلولی در بافت های مختلف مثل قلب، عروق و اعصاب ایفا می کنند. اگر چه اهمیت کانالهای کلسیمی به طور واضح در مورد درد به اثبات نرسیده است، ولی شواهد نشان میدهند که انسداد فارماکولوژیکی کانالهای کلسیمی ممکن است اثرات ضد دردی داشته باشد؛ به طوری که این امر و در درمان دردهای احشایی و سوماتیک مفید است. پیشنهاد می کنند که عمل ضد دردی مهار کنندههای کانال-های کلسیمی به دلیل کاهش عبور کلسیم است. کلسیم با آزاد شدن نوروترانسمیترها و مواد دیگری که درد و التهاب را تـسریع مى كنند، تداخل دارد. فعال شدن كانالهاى كلسيمى، وابسته به دپولاریزاسیون غشاء بوده و با ورود کلسیم، نوروترانسمیترها و مواد مختلف آزاد شده و باعث رفتار درد می شود [۹]. اخیرا به مهار کنندههای کانال های کلسیمی به عنوان فاکتورهای ضد درد توجه شده است و در همین رابطه مطرح کردهاند که برخی از مهار کنندههای کانالهای کلسیمی در مدلهای پیش درمانگاهی و درمانگاهی درد، اثر ضد درد ایجاد کردهاند. به طوری که در یک مطالعه اثر نیمودیپین را بر درد ناشی از حرارت بررسی کرده و نشان دادهاند که این دارو، درد ناشی از گرما را در موشهای صحرایی مهار می کند [۸]. در بررسی دیگری اثـرات ضـد دردی نیفدیپین و وراپامیل را در مدل Tail-flick نـشان داده و پیـشنهاد كردهاند كه نيفدييين بر خلاف وراپاميل مي تواند ٣٠ دقيقه بعد از تزریق در موشهای صحرایی، درد ناشی از را کاهش دهد [۱۰]. پس از بررسی اثرات تزریق مزمن نیمودیپین و نیفدیپین را به مدت ۱۱ روز بر پاسخ درد موشهای صحرایی و نشان داده شده است که هر دو دارو به صورت وابسته به دوز درد ناشی از تحریک الکتریکی دم را در موشهای صحرایی کاهش می دهند [٦]. در مطالعه مشابه دیگری با مطالعه اثر مهار کنندههای کانالهای كلسيمي نوع P ،N و T بر التهاب و درد ناشي از تزريق فرمالين

زیرجلدی بررسی مشخص شده است که پیش درمانی با مهار کنندههای کانالهای کلسیمی با مقادیر بالا، درد مرحله اول را کاهش داده و بیشترین اثر این داروها بر درد مرحله دوم می باشد [٥]. در تحقیق دیگری بعد از بررسی اثر تزریق سیستمیک وراپامیل بر درد ناشی از تحریک مکانیکی و گرما در موشهای صحرایی نشان داده شده است که وراپامیل به صورت وابسته به دوز باعث مهار پاسخ درد میشود [۹]. همچنین در این مطالعه نقش فارماکولوژیکی مهارکننده های کانالهای کلسیمی، در درمان دردهای احشایی و سوماتیک نشان داده شده است [۹]؛ به طوری ${
m L}$ که تزریق داخل نخاعی مهار کنندههای کانالهای کلسیمی نـوع در موشهای صحرایی سبب کاهش دردهای ناشی از تزریقات احشایی و سوماتیک می شود. گزارش شده است که تزریق داخل بطن - مغزی مهار کننده های کانال های کلسیمی در موش سوری اثرات ضد دردی دارد. در مطالعه دیگری آنتاگونیستهای کانال-های کلسیمی نوع N و L، درد و التهاب ناشی از تحریکات مکانیکی و مدل مفصل زانوی ملتهب را در موشهای صحرایی کاهش دادهاند [۹]. نتایج این مطالعات، اثر ضد دردی برای مهار کنندههای کانالهای کلسیمی پیشنهاد می کنند و بنابراین احتمال دارد نیمودیپین، نیفدیپین و آمیلودیپین رفتار درد و التهاب ناشی از تزریق کف پایی فرمالین را کاهش دهند. از طرف دیگر بیشتر مطالعات انجام شده توسط محققان در مدلهای Tail-flick، صفحه داغ، تحریک الکتریکی دم و درد نوروپاتیک انجام شده است [۱۰- ۲] و تحقیقی در داخل و خارج از کشور مبنی بــر اثــر این ترکیبات بر روی رفتار درد و التهاب ناشی از فرمالین در موش های سوری وجود ندارد. بدین دلیل تحقیق در این مورد امری ضروری به نظر می رسد.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی، از تعداد ۲۰ سر موش سوری نر استفاده شد. موشهای سوری نر نژاد NMRI، با وزن بین ۳۰-۲۰ گرم و سن بین ۹-۸ هفته، از مؤسسه واکسن و سرم سازی رازی خریداری شده و در قفس های پرورشی از جنس پلی بیکربنات در آزمایشگاه با حرارت ۲۶-۲۰ درجـه سانتی گراد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت ثابت نگهداری شدند. غذا و آب به طور آزاد در دسترس حیوانات قرار داشت. موشها هر روز سه بار و هر بار به مدت ٥ دقیقه تیمار شدند [۱۱]. تمام آزمایشات بین ساعت ۱۲-۱۰ انجام شد. نیمـودبیین، نیفـدبیین و آمیلودبیین از شرکت سیگما، و فرمالین و تـوئین ۸۰ از شـرکت مرک خریداری شدند. فرمالین در نرمال سالین ۹/۰ درصـد و

نیمودیپین، نیفدیپین و آمیلودیپین در محلول ٥ درصد توئین ۸۰

حل گردیدند. حیوانات به صورت تصادفی در گروههای درمانی قرار داده شدند (٦ گروه و برای هر گروه ۱۰-۱). نیمودیین، نیفدیپین و آمیلودیپین و حاملها به صورت صفاقی با حجم ثابت و بر اساس وزن هر حیوان (۱۰ میلی لیتر به ازای هــر کیلــوگرم وزن بدن) تجویز شدند. در ابتدا رفتار درد در حیوانات دریافت کننده نرمال سالین داخل صفاقی همراه با نرمال سالین کف پایی (۲۰ میکرولیتر) مورد ارزیابی قرار گرفت و سپس بررسی اثـر حامـل داروها با تزریق داخل صفاقی نرمال سالین و محلول ٥ درصد توئین ۸۰ ، ۳۰ دقیقه قبل از تزریق کف پایی فرمالین ٥ درصد با حجم ۲۰ میکرولیتر انجام گرفت. در ادامه، حیوانات هر ۳ گروه نیمودیپین، نیفدیپین و آمیلودیپین را به صورت تک دوز، با دوز ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، در زمان ۳۰ دقیقه قبل از تزریق کف پایی فرمالین ٥ درصد با حجم ۲۰ میکرولیتر دریافت کردند. برای ایجاد و بررسی رفتار درد (آزمون فرمالین) از دستگاه آینه درد استفاده شد. دستگاه آینه درد از سه قسمت یایه، ظرف استوانه شیشهای و آینه تشکیل شده است. ظرف استوانهای بر روی شیشه و آینه با زاویه ٤٥ درجه در داخل پایه قرار داده می شود، به طوری که مشاهده و یا فیلم برداری حرکات حیوان از آینه کاملا امکان پذیر باشد. حیوانات سه روز متوالی و هر روز ۳۰ دقیقـه در دستگاه آینه درد قرار داده شدند [۱۱]. این عمل به منظور سازگاری حیوانات با روش کار و کاهش عوامل استرس زا انجام شد. برای ایجاد درد ۲۰ میکرولیتر از محلول فرمالین ۵ درصد توسط سرسوزن شماره ۲۸ در کف پای حیوان به صورت زیرجلدی تزریق و سپس حیوان در داخل ظرف استوانهای قرار داده شده و به مدت یک ساعت از حرکات حیوان فیلم برداری شد. سپس از روی فیلم ها مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده با استفاده از کرونومتر بر حسب ثانیه و با دقت یک دهم ثانیه طی فواصل زمانی ٥ دقیقهای محاسبه شد. در تحقیقات مربوط به درد فرمالینی در موش سوری، ارزیابی رفتار حیوان به دو صورت دادن نمره و ثبت زمان رفتارهای مختلف انجام می گیرد. با توجه به اینکه موش سوری از نظر جثه کوچک و حركات بسيار سريعي دارد، از روش دادن نمره كمتر استفاده مي-شود و ثبت زمان رفتارها به ویژه مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده ارجحیت دارد [۱۲،۱۱]. بعد از انجام آزمایشات داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار بیــان شــده و جهت تجزیه و تحلیل دادهها در مرحله اول از آزمون آماری آنالیز

واریانس با اندازه گیری مکرر و نیز آزمون تـی زوج و در مرحلـه دوم از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن از تست تعقیبی توکی استفاده گردید. مقدار ۱۹<۰/۰۵ برای تعیین سطح معنی داری بین گروهها در نظر گرفته شد.

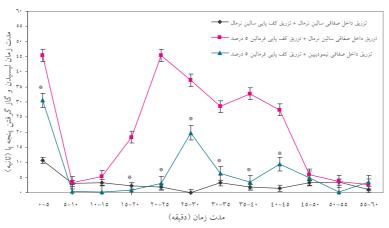
نتايج

تزریق کف پایی سالین نرمال ۳۰ دقیقه پس از تزریق داخل صفاقی سالین نرمال، فقط در ٥ دقیقه اول به طور معنی دار (p<٠/٠٥) موجب بروز درد شد. البته در ٥ دقیقه های بعدی نیز افزایش پاسخ مشاهده می شود ولی از نظر آماری معنی دار نیستند. تزریق کف پایی فرمالین، ۳۰ دقیقه پس از تزریق داخل صفاقی سالین نرمال موجب ایجاد پاسخ درد معنی دار (p<٠/٠٥) در ٥ دقیقه های اول، چهارم، پنجم، ششم، هفتم، هشتم و نهم نسبت به بقیه ۵ دقیقه ها شد (جدول ۱)، در نتیجه فرمالین درد دو مرحله ای (مرحله اول: ٥-٠ و مرحله دوم: ٤٥-٢٠ دقيقه پـس از تزريـق) ایجاد می کند. بین گروههای دریافت کننده توئین ۸۰ بــه صــورت داخل صفاقی همراه با فرمالین (کف پایی) با گروه دریافت کننده سالین نرمال (داخل صفاقی) و فرمالین (کف پایی) اختلاف معنی داری وجود نداشت، پس حلال به کار رفته تاثیر معنی داری روی رفتار درد ندارد (جدول ۱) و در نمودارها نشان داده نشده است. تزريق داخل صفاقى نيموديين، قبل از تزريق كف پايى فرمالين نشان داد که نیمودیپین بطور معنی داری (p<٠/٠٥) رفتار درد ناشی از فرمالین (مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پـــا) را در مرحله اول (٥ دقيقه اول) و مرحله دوم (٥ دقيقه هاى چهارم، پنجم، ششم، هفتم، هشتم و نهم) كاهش مى دهد (نمودار ١). تزریق داخل صفاقی نیفدیپین و آمیلودیپین قبل از تزریق کف پایی فرمالین نشان داد که هر دو داروی فوق به طور معنی داری (p<٠/٠٥) فقط رفتار درد مرحله دوم را (٥ دقیقــه هــای چهــارم، پنجم، ششم، هفتم، هشتم و نهم) کاهش می دهند و اثری بر درد مرحله اول (٥ دقیقه اول) ندارند (نمودار ۲ و ۳). مقایسه اثر نیمودیپین، نیفدیپین و آمیلودیپین بر پاسخ درد نشان داد که بیشترین و کمترین اثر ضددردی در مرحله اول به ترتیب مربوط به نیمودیپین و نیفدیپین است. در مرحله دوم درد بیشترین و کمترین اثر ضد دردی به ترتیب مربوط به نیمودیپین و آمیلودیپین می باشد. در مرحله اول درد اثر نیمودیپین نسبت به سایر داروها معنی دار است (p<٠/١١)، ولى در مرحله دوم اين اختلاف معنى دار نمى باشد (نمودار٤).

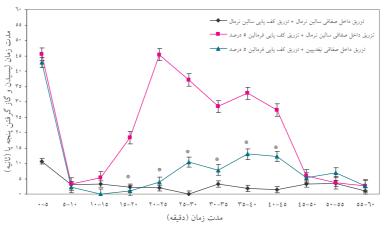
جدول ۱- اثرات تزریق داخل صفاقی سالین نرمال و توئین ۸۰ قبل از تزریق کف پایی سالین نرمال و فرمالین بر پاسخ درد (مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده بر حسب دقیقه) در موش سوری.

$(\overline{ ext{X}}\pm ext{SD})$ زمان برحسب دقیقه (شاخص
۰۶-۵٥	000	٤٥-٥٠	£ * - £ 0	۳٥-٤٠	۳۰-۳٥	۲٥-۳۰	Y•-Y0	10-7.	110	0-1.	•-0	٠
1/1±•/V	۳/٤±۱/۳	٣/ ₹± ١/٩	\/£±•/£	\/V±•/V	۳/۲±۱/٤	·±·	1/9±•/9	Y/Y±•/ 9	∀ / Y±Y / 1	*/\±\/A	1・/V土Ψ/Ψ °	تزريق داخل
												صفاقي سالين
												نرمال+تزريق
												ف پایی سالین
												نرمال
£/Y±Y/٣	Y/1±1/A	9/1± * /9	Υ Λ/1±٤/Λ ^{+Φ}	~• /\±∀/¶**	** ·/ V ± \ / Y **	**9/Y±*1/9 ^{+*}	£٣/٩±V/0 ^{+°}	\ \(\(\frac{4}{16} \) \(\frac{4}{16} \)	V/ Y±* /A	0/V±•/A	£∧/V±Y/\ ⁺ *	تزريق داخل
												صفاقي سالين
												نرمال+تزريق
												کف پایی
												فرمالين
Y/7±1/£	* /V±1/ 9	0/9±Y/0	YV/£±£/Y ⁺⁰	** Y/V±A/ 4 **	ΥΛ/£±0/ Υ ***	** V/ * ±V/ * **	£0/٣±A/*°	\\/ ** 0/£ ^{**}	0/ *± Y/ Y	∀ / Y±• / A	£0/£±Υ/\ ^{+°}	تزريق داخل
												صفاقى توئين
												٨+تزريق كف
												پایی فرمالین

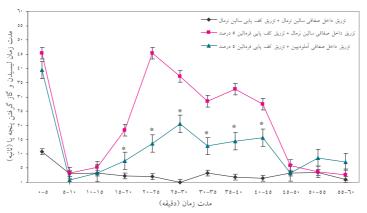
ه در مقایسه با سایر ۵ دقیقه ها در هر ردیف، $p<\cdot\cdot\cdot 0$ در مقایسه با سایر ۵ دقیقه ها در هر ستون $p<\cdot\cdot\cdot 0$



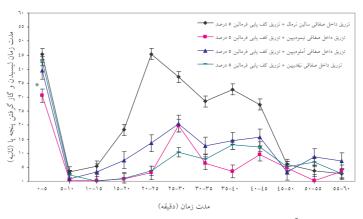
نمودار ۱- اثر نیمودیپین بر رفتار درد (مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پا) ناشی از فرمالین. ۱- اثر نیمودیپین بر رفتار درد (مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پا) ناشی از فرمالین. ۱- اثر نیمودیپین بر مقایسه با گروه دریافت کننده سالین نرمال به صورت داخل صفاقی.



نمودار ۲- اثر نیفدیپین بر رفتار درد (مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پا) ناشی از فرمالین. ۴۶۰۰/۰۰ در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین نرمال به صورت داخل صفاقی.



نمودار ۳– اثر آمیلودیپین بر رفتار درد (مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پا) ناشی از فرمالین. ۴p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین نرمال به صورت داخل صفاقی.



نمودار ٤- مقایسه اثر نیمودیپین، نیفدیپین و آمیلودیپین بر رفتار درد مرحله اول و دوم ناشی از تزریق کف پایی فرمالین. ۹-۰/۰۵ در مقایسه با درد مرحله اول دو داروی نیفدیپین و آمیلودیپین. اختلاف معنی دار بین اثر این سه دارو در مرحله دوم درد وجود ندارد.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که تزریق سالین نرمال با حجم ۲۰ میکرولیتر در زیر پوست سطح داخلی (کف) پنجه پای موشهای سوری، واکنش رفتاری بسیار خفیف فقط در ۵ دقیقه اول پس از تزریق ایجاد می کند. از تزریق سالین نرمال در حجمهای مختلف بسته به روش تحقیق به عنوان شاهد در اکثر مطالعات استفاده می شود و شاید مهمترین دلیل استفاده از آن ایزوتونیک بودن محلول است که واکنشهای مربوط به تونوسیته و فشار را در محل تزریق ایجاد نمی کند [۱۲،۱۳]. احتمال ایجاد واکنشهای ضعیف درد در پنج دقیقه اول پس از تزریق سالین نرمال می تواند ناشی از وارد شدن سر سوزن به زیر پوست باشد. علی رغم اینکه تزریق زیرپوستی در مطالعه حاضر با سر سوزن شماره ۲۸ انجام شده است، ولی وارد شدن سر سوزن در هر شمارهای به بافت ها، به علت تحریک گیرندههای درد معمولا با واکنش های درد همراه است [۱۲]. در مطالعات قبلی نیز با تزریق سالین نرمال با حجم ۲۰

میکرولیتر در کف پای موشهای سوری واکنشهای ضعیف درد در ۵ دقیقه اول پس از تزریت گزارش شده است [۱۲،۱۱]. در مطالعه حاضر پس از تزریق کف پایی فرمالین ۵ درصد با حجم ملا میکرولیتر، واکنش های لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریق شده در ۵ دقیقههای اول، چهارم، پنجم، ششم، هفتم، هشتم و نهم ایجاد شد. با توجه به اینکه در این پنج دقیقه ها نسبت به زمانهای دیگر واکنشهای درد بسیار شدید بود، می توان نتیجه گرفت که درد به صورت دو مرحلهای (مرحله اول: ۵-۰ و مرحله دوم ۵۵-۲۰ دقیقه پس از تزریق) ظاهر می شود. در تحقیقات مربوط به درد برای ایجاد درد و بررسی واکنشهای رفتاری، هورمونی، احشایی و الکتروفیزیولوژی درد، از مواد دردزا مثل اسید استیک، برادی کینین، پروستاگلاندینها، یون پتاسیم، هیستامین، سروتونین و کنین، پروستاگلاندینها، یون پتاسیم، هیستامین، سروتونین و کشتردهای استفاده شده است. در همین رابطه از فرمالین به طور گستردهای استفاده شده است. همچنین واکنشهای رفتاری آن گستردهای استفاده شده است. همچنین واکنشهای رفتاری آن

كينينها، هيستامين و آنزيمها ايجاد مي شود [١٦،١٢]. با توجــه بــه اینکه در مطالعه حاضر ۳ داروی نیمودیپین، نیفدیپین و آمیلودیپین پاسخ درد مرحله دوم را به طور معنی داری کاهش دادند، چنین می توان پیشنهاد کرد که مهار کننده های کانال های کلسیمی اثر مهاری بر آزاد سازی واسطه های التهابی دارند. در مدل های مختلفی، اثرات ضددردی مهار کننده های کانالهای کلسیمی را گزارش كردهاند. Zbuzek و همكاران نشان دادند كه نيفديپين و وراپامیل دردهای ناشی از آزمون Tail-flick را کاهش می دهند. آنها نیفدیپین را با دوز mg/kg ۱۵ سوراپامیل را بـا دوز mg/kg ۱۰ به صورت داخل صفاقی، ۳۰ دقیقه قبل از تـست Tail-flick تزریق کردند. نتایج مطالعه آنها نشان داد که نیفدیپین اثـر ضـد دردی بیشتری نسبت به وراپامیل دارد [۱۰]. Martin و همکاران نیز نشان دادند که نیفدیین و نیمودیپین اثـر ضـد دردی در مـدل تحریک الکتریکی دم (tail electric stimulation test) دارنـد. Martin و همكاران در آزمایش خود نیفدیپین و نیمودیپین را به مدت ۱۱ روز قبل از انجام آزمایش تحریک الکتریکی دم تزریت كردند. نتايج آزمايش آنها نشان داد كه نيف ديبين و نيم وديبين به صورت وابسته به دوز، درد ناشی از این تـست را در مـوشهـای صحرائی کاهش میدهند [٦]. Diaz و Dickenson در مطالعه خود نشان دادند که مهار کانالهای کلسیمی نـوع P ، N و Lنورونهای شاخه پشتی نخاع، اثر مهاری در التهاب ناشی از تزریق زیر جلدی فرمالین دارد. آنها به صورت داخل نخاعی وراپامیــل را با دوز ۵۰-۵ میکروگرم قبل از تزریق فرمالین تجویز کردنـد. از ω-Conotoxin-GVIA به عنوان مهار کننده کانال کلسیمی نوع N و از Argatoxin-IVA به عنوان مهار کننده کانال کلسیمی نوع p استفاده کردند. برای ایجاد التهاب از فرمالین ٥ درصد با حجم ٥٠ میکرولیتر به صورت زیرجلدی استفاده شد و نشان دادند که مهار کنندههای کانالهای کلسیمی اثرات متفاوتی بر پاسخ درد فرمالینی دارند و نوع کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ، در اثرات ضد دردی و ضد التهابی داروها نقش مهمی دارد [٥]. در یک مطالعه دیگر نشان داده شده است که تجویز مهار کنندههای کانال-های کلسیمی با دوز ۳-۱۸ mg/kg می تواند به صورت وابسته به دوز پاسخ درد را در موشهای صحرایی کاهش دهد. آنها برای ایجاد درد از تست صفحه داغ استفاده کرده و دوزهای مختلف وراپامیل اعم از ۳، ۲، ۹ و mg/kg را به صورت داخل صفاقی قبل از انجام آزمایش تزریق کردنـد [۹]. مطالعـه Pathirathna و همکاران نشان داد که آنتاگونیستهای کانالهای کلسیمی درد ناشی از گرما را در موشهای صحرایی نژاد Sprague-Dawley مهار می کنند [۷]. نتایج یک مطالعه دیگر حاکی از آن است که

آزمایش غلظتهای مختلف فرمالین از ۰/۱ تا ۵ درصد با حجمهای متفاوت از ۱۰ تا ۵۰ میکرولیتر، در قسمت های مختلف بدن از جمله كف دست و يا، لب بالا، داخل صفاق و داخـل كولـون بـه منظور ایجاد و بررسی واکنشهای رفتاری و هورمونی، دردهای پیکری و احشایی تزریق می شود [۱۵،۱٤،۸،۵]. متعاقب تزریق فرمالین پاسخ های رفتاری مثل لیسیدن، گاز گرفتن، جویدن و بی حرکت نگه داشتن عضو تزریق شده به صورت دو مرحلهای ثبت شده است. مرحله اول آن بلافاصله پس از تزریق برای مدت ۱۰-۵ دقیقه (تحت عنـوان درد نوروژنیـک) و مرحلـه دوم آن از ۲۰–۱۵ دقیقه پس از تزریق به مدت ۵۰-۳۰ دقیقه به صورت افرایش در رفتار (تحت عنوان درد التهابي) مشخص مي شود. بين دو مرحله مذكور يك فاصله زماني ١٥-٥ دقيقهاي به صورت كاهش واكنش-های درد وجود دارد [۱٤،۱۲]. در مطالعه حاضر نیز برای ایجاد درد و بررسی واکنش های درد در موشهای سوری از غلظت ٥ درصد فرمالین با حجم ۲۰ میکرولیتر استفاده شده است و همان طور که گفته شد، استفاده از غلظتهای مختلف فرمالین در کف پای موش های سوری درد ایجاد می کند [۱۲]. از طرف دیگر واکنش های درد با اندازه گیری مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پای مورد نظر ثبت شده که بر اساس تجربیات ذکر شده، این روش ثبت رفتار در موش های سوری، بهتر از روش نمره دادن می باشد [۱۲،۱٤،۱۲]. در یک مطالعه، مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریـق شده با فرمالین ٥ درصد در فواصل زمانی ٥-٠ و ٢٠-٢٠ دقیقه پس از تزریق شدید بوده است [۱۱]. در نتیجه، دو مرحله ای بودن درد فرمالینی در مطالعه حاضر، هیچ گونه تضادی با گزارش های قبلی ندارد و به طور کامل آشکار می کند که فرمالین درد دو مرحله ای ایجاد می کند. نتایج مطالعه حاضر نـشان مـیدهـد کـه تزریق داخل صفاقی نیمودیپین، نیفدیپین و آمیلودیپین بر رفتار درد ناشی از فرمالین اثر مهاری دارد؛ به طوری که نیمودیپین بیشترین اثر ضد دردی را داشته و رفتار درد مرحله اول (۵-۰ دقیقه) و مرحله دوم (٤٥-٢٠ دقيقه) را كاهش مي دهد. ولي آميلوديپين و نیفدیپین فقط بر مرحله دوم درد اثر داشته و رفتار درد مرحله اول را كاهش نمى دهند. همان گونه كه قبلا نيز توضيح داده شد، مرحله اول درد ناشی از فرمالین یک درد نوروژنیک بوده و با تحریک مستقیم گیرندههای درد (نوسیسپتورها) ایجاد می شود و در این مرحله هیچ نوع واسطه شیمیایی شرکت نمی کند [۱۲،۱۲]. در مطالعه حاضر از بین داروها فقط نیمودیپین درد مرحله اول را كاهش داد و چنين مى توان پيشنهاد كرد كه نيموديپين اثر مستقيم ضد دردی دارد. مرحله دوم درد فرمالینی یک درد التهابی است و با دخالت انواع واسطه های التهابی مثل پروستاگلاندین ها، بـرادی نیفدیپین و آمیلودیپین را شاید بتوان به توانایی نفوذ داروها از سد خونی – مغزی و ظرفیت مسدود کردن کانالهای کلسیمی توسط هر یک از داروها ربط داد.

نتيجه گيري

نیمودیپین، نیفدیپین و آمیلودیپین رفتار درد ناشی از فرمالین را مهار کرده و اثر ضد دردی و ضد التهابی دارند. هر سه دارو می توانند درد ناشی از التهاب را کاهش دهند و فقط نیمودیپین درد نوروژنیک را کاهش میدهد این اثرات را احتمالا می توان به نقش کانالهای کلسیمی در سلولهای عصبی از یک طرف و آزاد شدن واسطه های التهابی از سلولها ارتباط داد؛ ولی بررسی نقش دقیق مهار کننده های کانالهای کلسیمی دی هیدروپیریدینی بر درد و التهاب در انسان و مدلهای دیگر حیوانی، نیاز به بررسی های بیشتری دارد.

نیمودیپین پاسخ درد نوروپاتیک را در موش های صحرایی مبتلا به دیابت مهار می کند. همچنین برای بررسی اثر نیمودیپین از تزریت فرمالین و تست گرما استفاده شد. نتایج این مطالعه نیشان داد که تجویز طولانی مدت نیمودیپین، پاسخ درد موش های دیابتیک را در تست فرمالین و گرما کاهش می دهد [۸]. همان طور که نتایج این تحقیق و مطالعات فوق نشان می دهد، برای مهار کنندههای کانالهای کلسیمی می توان اثر ضد دردی و ضد التهابی پیشنهاد نمود و نتایج این مطالعه نیز با نتایج محققین مختلف همخوانی دارد. با توجه به اینکه کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ در کنترل نوروترانسمیترها و مواد شیمیایی از سلولها نقش مهمی دارند [۹]، خین می توان استنباط کرد که احتمالا اثر ضد دردی در مرحله اول به دلیل بلوکه شدن کانالهای کلسیمی از نوع L و کاهش پاسخ درد مرحله دوم، به دلیل مهار آزاد شدن واسطه های التهابی از سلولها می باشد. علت تفاوت اثر ضد دردی سه داروی نیمودیپین، سلولها می باشد. علت تفاوت اثر ضد دردی سه داروی نیمودیپین،

Reference:

- [1] Grossman E, Messerli FH. Calcium antagonists. *Prog Cardiovasc Dis* 2004;47(1):34-57.
- [2] Kulak W, Sobaniec W, Wojtal K, Czuczwar SJ. Calcium modulation in epilepsy. *Pol J Pharmacol* 2004;56(1):29-41.
- [3] Hockerman GH, Peterson BZ, Johnson BD, Catterall W. Molecular determinants of drug binding and action on L-type calcium channels. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997;37:361-96.
- [4] Ryan SG. Ion channels and the genetic contribution to epilepsy. *J Child Neurol* 1999;14(1):58-66.
- [5] Diaz A, Dickenson AH. Blockade of spinal N- and P-type, but not L-type, calcium channels inhibits the excitability of rat dorsal horn neurones produced by subcutaneous formalin Inflammation. *Pain* 1997;69(1-2):93-100.
- [6] Martin MI, Del Val VL, Colado MI, Goicoechea C, Alfaro MJ. Behavioral and analgestic effects induced by administration of nifedipine and nimodipine. *Pharmacol Biochem Behav* 1996;55(1):93-8.
- [7] Pathirathna S, Brimelow BC, Jagodic MM, Krishnan K, Jiang X, Zorumski CF, et al. New evidence that both T-type calcium channels and GABA_A channels are responsible for the potent peripheral analgesic effects of 5-reduced neuro active steroids. *Pain* 2005:114(3):429-43.
- [8] Shutov L, Kruglikov I, Gryshchenko O, Khomula E, Viatchenko-Karpinski V, Belan P, et al. The effect of nimodipine on calcium homeostasis and pain sensitivity in diabetic rats. *Cell Mol Neurobiol* 2006;26(7-8):1541-57.
- [9] Todorvic SM, Pathirathna S, Meyenburg A, Jevtovic-Todorovic V, Mechanical and thermal anti-nociception in rats after systemic administration of verapamil. *Neurosci Lett* 2004;360(1-2):57-60.
- [10] Zbuzek VK, Cohen B, Wu W. Antinociceptive effect of nifedipine and verapamil tested on rats chronically exposed to nicotine and after its withdrawal. *Life Sci* 1997;60(19):1651-8.
- [11] Tamaddonfard E, Mojtehedain A. The effect of intraperitoneal injection of cimetidine on pain response induced by formalin in mice. *J Fac Vet Med Univ Tehran* 2004;59(4):373-8.
- [12] Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 1992;51(1):5-17.
- [13] Choi SS, Lee JK, Suh HW. Antinociceptive profiles of aspirin and acetaminophen in formalin, substance P and glutamate pain models. *Brain Res* 2001;921(1-2):233-9.
- [14] Ness TJ. Models of visceral nociception. *ILAR J* 1999; 40(3):119-28.
- [15] Ren K. Dubner R. Inflammatory models of pain and hyperalgesia. ILAR J 1999; 40(3):111-8.
- [16] Porro CA, Cavazzuti M. Spatial and temporal aspects of spinal cord and brainstem activation in the formalin pain model. *Prog Neurobiol* 1993;41(5):565-607.