

اثر مسدود کننده های کانال های کلسمی دی هیدروپیریدینی بر پاسخ درد ناشی از فرمالین در موش سوری

^۱ میرهادی خیاط نوری ، ^۲ محمد رضا نصیرزاده ، علیرضا نورآذر

خلاصه

سابقه و هدف: کانال های کلسمی واپسیه به ولتاژ نقش مهمی در کارکرد سلول های قلبی و بافت های عصبی و عروقی دارند. نیمودیپین، نیفیدیپین و آمیلودیپین، مهار کننده های کانال های کلسمی دی هیدروپیریدینی با کاربرد وسیع برای درمان بیماری های قلبی - عروقی می باشد. برخی مطالعات نشان داده اند که مهار کننده های کانال های کلسمی اثرات ضد دردی و ضد التهابی در مدل های مختلف حیوانی دارند؛ هر چند در همه مدل ها این اثرات نشان داده نشده است. هدف از این مطالعه تعیین اثر نیمودیپین، نیفیدیپین و آمیلودیپین بر رفتار درد و التهاب ناشی از فرمالین در موش سوری می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، از تعداد ۶۰ سر موش سوری نر نژاد NMRI، با وزن بین ۲۵-۳۰ گرم استفاده شد. نیمودیپین، نیفیدیپین 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 ۵ درصد، تزریق شد. مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده به عنوان پاسخ درد در فواصل زمانی ۵ دقیقه ای به مدت یک ساعت ثبت شد.

نتایج: نتایج نشان داد که تزریق کف پایی فرمالین یک رفتار درد دو مرحله ای ($p < 0.05$) (مرحله اول: ۵-۰ و مرحله دوم: ۴۵-۲۰ دقیقه پس از تزریق) ایجاد می کند. تزریق داخل صفاقی نیمودیپین، نیفیدیپین و آمیلودیپین قبل از فرمالین، پاسخ درد مرحله دوم (درد التهابی) را به طور معنی دار ($p < 0.05$) کاهش می دهد. فقط نیمودیپین رفتار درد مرحله اول (درد نوروژنیک) را به طور معنی دار کاهش می دهد ($p < 0.05$).

نتیجه گیری: بر اساس نتایج چنین می توان پیشنهاد کرد که نیمودیپین، نیفیدیپین و آمیلودیپین اثر کاهش دهنده درد و التهاب ایجاد می کنند و فقط نیمودیپین درد نوروژنیک را کاهش می دهد. این اثرات احتمالاً به دلیل مسدود کردن کانال های کلسمی و کاهش جریان کلسمی و در نتیجه کاهش آزاد سازی نوروتانسمیترها و دیگر واسطه های درد و التهاب است.

واژگان کلیدی: مسدود کننده های کانال های کلسمی دی هیدروپیریدینی، درد، فرمالین

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

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

* نویسنده مسؤول: میرهادی خیاط نوری

آدرس: تبریز، خیابان شریعتی جنوبی، جنب دانشکده پرستاری، کوچه هرمز، کد پستی ۵۱۳۸۹۴۷۱۸۷

پست الکترونیک: khayat_nouri@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۴ ۳۰۰ ۵۸۵۵

تاریخ دریافت: ۸۷/۸/۲۵

تاریخ پذیرش نهایی: ۸۷/۱۲/۱۲

دورنويis: ۰۴۱۱ ۶۳۷۳ ۹۳۵

مقدمه

آناتاگونیست های کانال های کلسمی از دهه ۸۰ میلادی تا به حال برای درمان فشار خون استفاده می شوند. از زمان معرفی، این داروها مصارف گسترده ای پیدا کرده و برای سایر بیماری ها مانند آنژین صدری، تاکی آریتمی های فوق بطنی، کاردیومیوپاتی هیپرتروفیک و پنومونی مصرف می شوند. در سال های اخیر مصرف این داروها به دلیل اثرات جانبی قابل تحمل، به طور گسترده افزایش یافته است [۱]. مهار کننده های کانال های کلسمی دی هیدروپیریدینی همچون نیمودیپین، نیفیدیپین و آمیلودیپین جریان یون کلسمی را از طریق کانال های کلسمی حساس به ولتاژ مهار می کنند [۲]. کانال های کلسمی از زیر واحد های پلی پپتیدی مختلف با وزن مولکولی متفاوت تشکیل شده است. نشان داده اند که کانال های کلسمی در قسمت های مختلف CNS مثل قشر مغز، هیپوکمپ، مخچه و نخاع یافت می شوند. آناتاگونیست این کانال ها

زیرجلدی بررسی مشخص شده است که پیش درمانی با مهار کتندهای کانال‌های کلسیمی با مقادیر بالا، درد مرحله اول را کاهش داده و بیشترین اثر این داروها بر درد مرحله دوم می‌باشد [۵]. در تحقیق دیگری بعد از بررسی اثر تزریق سیستمیک و راپامیل بر درد ناشی از تحریک مکانیکی و گرما در موش‌های صحرایی نشان داده شده است که راپامیل به صورت واپسی به دوز باعث مهار پاسخ درد می‌شود [۹]. همچنین در این مطالعه نقش فارماکولوژیکی مهار کتندهای کانال‌های کلسیمی، در درمان دردهای احشایی و سوماتیک نشان داده شده است [۹]؛ به طوری که تزریق داخل نخاعی مهار کتندهای کانال‌های کلسیمی نوع L در موش‌های صحرایی سبب کاهش دردهای ناشی از تزریقات احشایی و سوماتیک می‌شود. گزارش شده است که تزریق داخل بطن-مغزی مهار کتندهای کانال‌های کلسیمی در موش سوری اثرات ضد دردی دارد. در مطالعه دیگری آتاگونیست‌های کانال-های کلسیمی نوع N و L، درد و التهاب ناشی از تحریکات مکانیکی و مدل مفصل زانوی متنه را در موش‌های صحرایی کاهش داده‌اند [۹]. نتایج این مطالعات، اثر ضد دردی برای مهار کتندهای کانال‌های کلسیمی پیشنهاد می‌کنند و بنابراین احتمال دارد نیمودپین، نیفدبیین و آمیلودپین 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 [۶-۱۰] و تحقیقی در داخل و خارج از کشور مبنی بر اثر این ترکیبات بر روی رفتار درد و التهاب ناشی از فرمالین در موش‌های سوری وجود ندارد. بدین دلیل تحقیق در این مورد امری ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، از تعداد ۶۰ سر موش سوری نر استفاده شد. موش‌های سوری نر نژاد NMRI، با وزن بین ۲۵-۳۰ گرم و سن بین ۸-۹ هفته، از مؤسسه واکسن و سرم سازی رازی خریداری شده و در قفسه‌های پرورشی از جنس پلی بیکربنات در آزمایشگاه با حرارت ۲۰-۲۴ درجه 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 ۵ دقیقه تیمار شدند [۱۱]. تمام آزمایشات بین ساعت ۱۰-۱۶ انجام شد. نیمودپین، نیفدبیین و آمیلودپین از شرکت سیگما، و فرمالین و توئین ۸۰ از شرکت مرک خردباری شدند. فرمالین در نرمال سالین ۰/۹ درصد و

به زیر واحدهای پلی پیتیدی کانال‌های کلسیمی واپسی به ولتاژ متصل شده و از جریان Ca^{2+} جلوگیری می‌کنند [۳]. مهار کتندهای کانال‌های کلسیمی دی هیدروپیریدینی عمدها بر کانال‌های کلسیمی نوع L اثر می‌گذارند. تعدادی از آتاگونیست‌های کانال‌های کلسیمی ممکن است از افزایش بیش از حد کلسیم نورون‌ها پیشگیری کنند و احتمالاً این کار را از طریق مهار غیراختصاصی کانال‌های کلسیمی انجام می‌دهند [۴]. نشان داده شده است که در بسیاری از مدل‌های حیوانی، مهار کتندهای کانال‌های کلسیمی اثر محافظتی روی بافت عصبی دارند [۴]. همچنین گزارش کرده‌اند که این داروها اثرات ضد دردی در بعضی از مدل‌ها داشته، ولی در همه مدل‌ها این اثرات ثابت نشده است [۵-۱۰]. کانال‌های کلسیمی واپسی به ولتاژ نقش مهمی در کنترل عملکرد سلولی در بافت‌های مختلف مثل قلب، عروق و اعصاب ایفا می‌کنند. 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 می‌کنند که عمل ضد دردی مهار کتندهای کانال-های کلسیمی به دلیل کاهش عبور کلسیم است. کلسیم با آزاد شدن نوروترانسمیترها و مواد دیگری که درد و التهاب را تسريع می‌کنند، تداخل دارد. فعال شدن کانال‌های کلسیمی، واپسی به دپولاریزاسیون غشاء بوده و با ورود کلسیم، نوروترانسمیترها و مواد مختلف آزاد شده و باعث رفتار درد می‌شود [۹]. اخیراً به مهار کتندهای کانال‌های کلسیمی به عنوان فاکتورهای ضد درد توجه شده است و در همین رابطه مطرح کرده‌اند که برخی از مهار کتندهای کانال‌های کلسیمی در مدل‌های پیش درمانگاهی و درمانگاهی درد، اثر ضد درد ایجاد کرده‌اند. به طوری که در یک مطالعه اثر نیمودپین را بر درد ناشی از حرارت بررسی کرده و نشان داده‌اند که این دارو، درد ناشی از گرما را در موش‌های صحرایی مهار می‌کند [۸]. در بررسی دیگری اثرات ضد دردی نیفدبیین و راپامیل را در مدل Tail-flick نشان داده و پیشنهاد کرده‌اند که نیفدبیین بر خلاف راپامیل می‌تواند ۳۰ دقیقه بعد از تزریق در موش‌های صحرایی، درد ناشی از را کاهش دهد [۱۰]. پس از بررسی اثرات تزریق مزمن نیمودپین و نیفدبیین را به مدت ۱۱ روز بر پاسخ درد موش‌های صحرایی و نشان داده شده است که هر دو دارو به صورت واپسی به دوز درد ناشی از تحریک الکتریکی دم را در موش‌های صحرایی کاهش می‌دهند [۶]. در مطالعه مشابه دیگری با مطالعه اثر مهار کتندهای کانال‌های کلسیمی نوع N، P و T بر التهاب و درد ناشی از تزریق فرمالین

واریانس با اندازه گیری مکرر و نیز آزمون تی زوج و در مرحله دوم از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن از تست تعقیبی توکی استفاده گردید. مقدار $p < 0.05$ برای تعیین سطح معنی داری بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

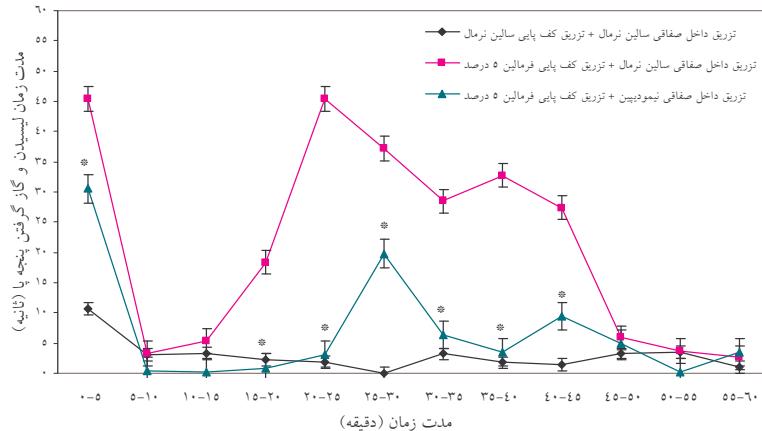
تزریق کف پایی سالین نرمال ۳۰ دقیقه پس از تزریق داخل صفاچی سالین نرمال، فقط در ۵ دقیقه اول به طور معنی دار ($p < 0.05$) موجب بروز درد شد. البته در ۵ دقیقه‌های بعدی نیز افزایش پاسخ مشاهده می‌شود ولی از نظر آماری معنی دار نیستند. تزریق کف پایی فرمالین، ۳۰ دقیقه پس از تزریق داخل صفاچی سالین نرمال موجب ایجاد پاسخ درد معنی دار ($p < 0.05$) در ۵ دقیقه‌های اول، چهارم، پنجم، ششم، هفتم، هشتم و نهم نسبت به بقیه ۵ دقیقه‌ها شد (جدول ۱)، در نتیجه فرمالین در دو مرحله ای (مرحله اول: ۰-۵ و مرحله دوم: ۲۰-۴۵ دقیقه پس از تزریق) ایجاد می‌کند. بین گروه‌های دریافت کننده توانی ۸۰ به صورت داخل صفاچی همراه با فرمالین (کف پایی) با گروه دریافت کننده سالین نرمال (داخل صفاچی) 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. تزریق داخل صفاچی نیمودپین، قبل از تزریق کف پایی فرمالین نشان داد که نیمودپین بطور معنی داری ($p < 0.05$) رفتار درد ناشی از فرمالین (مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پا) را در مرحله اول (۵ دقیقه اول) و مرحله دوم (۵ دقیقه‌های چهارم، پنجم، ششم، هفتم، هشتم و نهم) کاهش می‌دهد (نمودار ۱). تزریق داخل صفاچی نیفدبین و آمیلودپین قبل از تزریق کف پایی فرمالین نشان داد که هر دو داروی فوق به طور معنی داری ($p < 0.05$) فقط رفتار درد مرحله دوم را (۵ دقیقه‌های چهارم، پنجم، ششم، هفتم، هشتم و نهم) کاهش می‌دهند و اثری بر درد مرحله اول (۵ دقیقه اول) ندارند (نمودار ۲ و ۳). مقایسه اثر نیمودپین، نیفدبین و آمیلودپین بر پاسخ درد نشان داد که بیشترین و کمترین اثر ضددردی در مرحله اول به ترتیب مربوط به نیمودپین و نیفدبین است. در مرحله دوم درد بیشترین و کمترین اثر ضد دردی به ترتیب مربوط به نیمودپین و آمیلودپین می‌باشد. در مرحله اول درد اثر نیمودپین نسبت به سایر داروهای معنی دار است ($p < 0.01$)، ولی در مرحله دوم این اختلاف معنی دار نمی‌باشد (نمودار ۴).

نیمودپین، نیفدبین و آمیلودپین در محلول ۵ درصد توانی ۸۰ حل گردیدند. حیوانات به صورت تصادفی در گروه‌های درمانی قرار داده شدند (۶ گروه و برای هر گروه $n=10$). نیمودپین، نیفدبین و آمیلودپین و حامل‌ها به صورت صفاچی با حجم ثابت و بر اساس وزن هر حیوان (۱۰ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) تجویز شدند. در ابتدا رفتار درد در حیوانات دریافت کننده نرمال سالین داخل صفاچی همراه با نرمال سالین کف پایی (۲۰ میکرولیتر) مورد ارزیابی قرار گرفت و سپس بررسی اثر حامل داروها با تزریق داخل صفاچی نرمال سالین و محلول ۵ درصد توانی ۸۰ دقیقه قبل از تزریق کف پایی فرمالین ۵ درصد با حجم ۲۰ میکرولیتر انجام گرفت. در ادامه، حیوانات هر ۳ گروه نیمودپین، نیفدبین و آمیلودپین 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 ۵ 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 پایه، ظرف استوانه شیشه‌ای و آینه تشکیل شده است. ظرف استوانه‌ای بر روی شیشه و آینه با زاویه ۴۵ درجه در داخل پایه قرار داده می‌شود، به طوری که مشاهده و یا فیلم برداری حرکات حیوان از آینه کاملاً امکان پذیر باشد. حیوانات سه روز متوالی و هر روز ۳۰ دقیقه 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 ۵ 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 می‌گیرد. با توجه به اینکه موش سوری از نظر جثه کوچک و حرکات بسیار سریعی دارد، از روش دادن نمره کمتر استفاده می‌شود و ثبت زمان رفتارها به ویژه مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده ارجحیت دارد [۱۱، ۱۲]. بعد از انجام آزمایشات داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار بیان شده و جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها در مرحله اول از آزمون آماری آنالیز

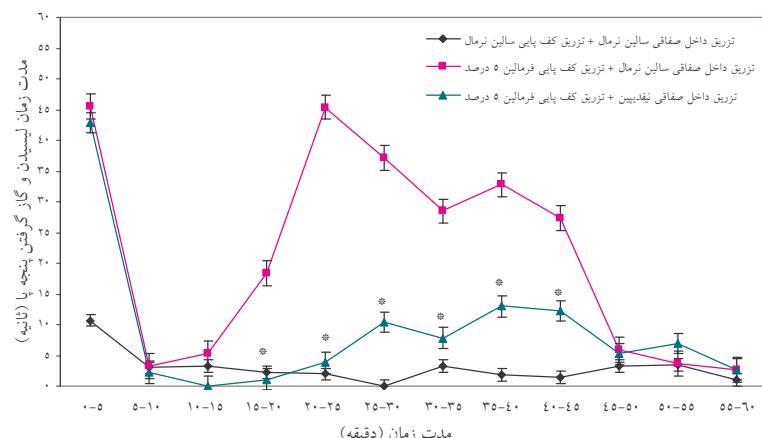
جدول ۱- اثرات تزریق داخل صفاقی سالین نرمال و توئین ۸۰ قبل از تزریق کف پایی سالین نرمال و فرمالین بر پاسخ درد (مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده بر حسب دقیقه) در موش سوری.

$\bar{X} \pm SD$													شاخص
۰۰-۶۰	۰۰-۵۰	۴۰-۵۰	۴۰-۴۵	۳۵-۴۰	۲۰-۳۵	۲۵-۳۰	۲۰-۲۵	۱۵-۲۰	۱۰-۱۵	۵-۱۰	۰-۵		
۱/۱۰±۰/۷	۳/۴±۱/۳	۳/۲±۱/۹	۱/۴±۰/۴	۱/۷±۰/۷	۳/۲±۱/۴	۰±۰	۱/۹±۰/۹	۲/۲±۰/۹	۳/۱±۱/۸	۱۰/۷±۳/۳°	تزریق داخل صفاقی سالین نرمال	تزریق داخل صفاقی سالین نرمال	
۴/۲±۲/۳	۲/۱±۱/۸	۹/۱±۳/۹	۲۸/۱±۴/۸°	۳۰/۱±۷/۹°	۳۰/۷±۷/۲°	۳۹/۲±۷/۹°	۴۳/۹±۷/۵°	۱۴/۲±۵/۳°	۷/۲±۳/۸	۵/۷±۰/۸	۴۸/۷±۲/۶°	تزریق داخل صفاقی فرمالین	تزریق داخل صفاقی فرمالین
۲/۶±۱/۴	۳/۷±۱/۹	۰/۹±۲/۰	۲۷/۴±۴/۲°	۳۲/۷±۸/۹°	۲۸/۴±۵/۳°	۳۷/۲±۷/۲°	۴۵/۳±۸/۱°	۱۸/۳±۵/۴°	۵/۳±۲/۲	۳/۲±۰/۸	۴۵/۴±۳/۶°	تزریق داخل صفاقی توئین فرمالین	تزریق داخل صفاقی توئین فرمالین
$p < 0.05$ در مقایسه با سایر ۵ دقیقه ها در هر ردیف، $p < 0.05$ در مقایسه با سایر ۵ دقیقه ها در هر ستون													

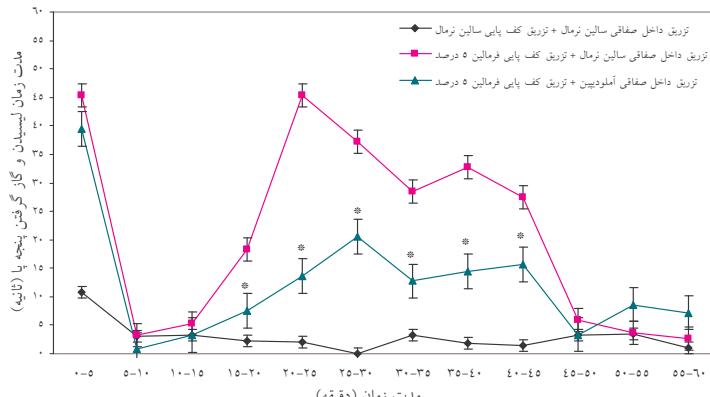
$p < 0.05$ در مقایسه با سایر ۵ دقیقه ها در هر ردیف، $p < 0.05$ در مقایسه با سایر ۵ دقیقه ها در هر ستون



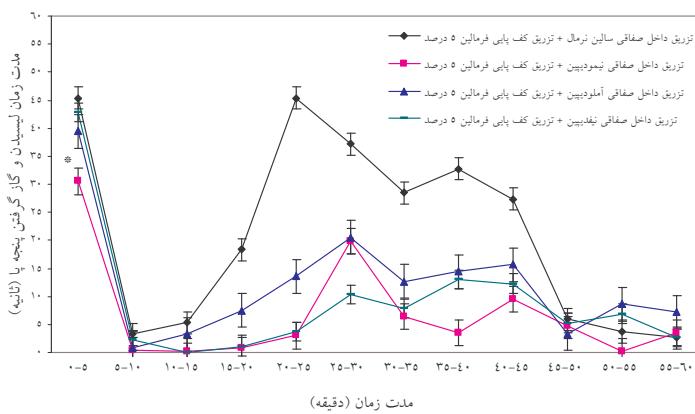
نمودار ۱- اثر نیمودیپین بر رفتار درد (مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای) ناشی از فرمالین. $p < 0.05$ در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین نرمال به صورت داخل صفاقی.



نمودار ۲- اثر نیفیدیپین بر رفتار درد (مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای) ناشی از فرمالین. $p < 0.05$ در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین نرمال به صورت داخل صفاقی.



نمودار ۳- اثر آمیلودپین بر رفتار درد (مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پا) ناشی از فرمالین. $p < 0.05$ در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین نرمال به صورت داخل صفاقی.



نمودار ۴- مقایسه اثر نیفیدپین، نیفلدپین و آمیلودپین بر رفتار درد مرحله اول و دوم ناشی از تزریق کف پایی فرمالین. $p < 0.05$ در مقایسه با درد مرحله اول دو داروی نیفلدپین و آمیلودپین. اختلاف معنی دار بین اثر این سه دارو در مرحله دوم درد وجود ندارد.

میکرولیتر در کف پای موش‌های سوری واکنش‌های ضعیف درد در ۵ دقیقه اول پس از تزریق گزارش شده است [۱۲، ۱۱]. در مطالعه حاضر پس از تزریق کف پایی فرمالین ۵ درصد با حجم ۲۰ میکرولیتر، واکنش‌های 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 دقیقه‌ها نسبت به زمان‌های دیگر واکنش‌های درد بسیار شدید بود، می‌توان نتیجه گرفت که درد به صورت دو مرحله‌ای (مرحله اول: ۰-۵ و مرحله دوم ۲۰-۴۵ دقیقه پس از تزریق) ظاهر می‌شود. در تحقیقات مربوط به درد برای ایجاد درد و بررسی واکنش‌های رفتاری، هورمونی، احساسی و الکتروفیزیولوژی درد، از مواد دردزا مثل اسید استیک، برادی کینین، پروستاگلاندین‌ها، یون پتاسیم، هیستامین، سروتونین و نیکوتین استفاده شده است. در همین رابطه از فرمالین به طور گسترده‌ای استفاده شده است. همچنین واکنش‌های رفتاری آن استاندارد شده و به تست فرمالینی معروف شده است [۱۲]. در این

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد 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 می‌کند. از تزریق سالین نرمال در حجم‌های مختلف بسته به روش تحقیق به عنوان شاهد در اکثر مطالعات استفاده می‌شود و شاید مهمترین دلیل استفاده از آن ایزوتوونیک بودن محلول است که واکنش‌های مربوط به تونوسیته و فشار را در محل تزریق ایجاد نمی‌کند [۱۴، ۱۳]. احتمال ایجاد واکنش‌های ضعیف در پنج دقیقه اول پس از تزریق سالین نرمال می‌تواند ناشی از وارد شدن سر سوزن به زیر پوست باشد. علی‌رغم اینکه تزریق زیرپوستی در مطالعه حاضر با سر سوزن شماره ۲۸ انجام شده است، ولی وارد شدن سر سوزن در هر شماره‌ای به بافت‌ها، به علت تحریک گیرنده‌های درد معمولاً با واکنش‌های درد همراه است [۱۲]. در مطالعات قبلی نیز با تزریق سالین نرمال با حجم ۲۰

کینین‌ها، هیستامین و آنزیم‌ها ایجاد می‌شود [۱۶، ۱۲]. با توجه به اینکه در مطالعه حاضر ۳ داروی نیمودپین، نیفیدپین و آمیلوودپین پاسخ درد مرحله دوم را به طور معنی داری کاهش دادند، چنین می‌توان پیشنهاد کرد که مهار کننده‌های کانال‌های کلسیمی اثر مهاری بر آزاد سازی واسطه‌های التهابی دارند. در مدل‌های مختلفی، اثرات ضددردی مهار کننده‌های کانال‌های کلسیمی را گزارش کرده‌اند. Zbuzeck و همکاران نشان دادند که نیفیدپین و وراپامیل دردهای ناشی از آزمون Tail-flick را کاهش می‌دهند. آنها نیفیدپین را با دوز mg/kg ۱۵ و وراپامیل را با دوز mg/kg ۱۰ به صورت داخل صفاتی، ۳۰ دقیقه قبل از تست Tail-flick تزریق کردند. نتایج مطالعه آنها نشان داد که نیفیدپین اثر ضد درد بیشتری نسبت به وراپامیل دارد [۱۰]. Martin و همکاران نیز نشان دادند که نیفیدپین و نیمودپین اثر ضد درد در مدل تحریک الکتریکی دم (tail electric stimulation test) دارند. Martin و همکاران در آزمایش خود نیفیدپین و نیمودپین را به مدت ۱۱ روز قبل از انجام آزمایش تحریک الکتریکی دم تزریق کردند. نتایج آزمایش آنها نشان داد که نیفیدپین و نیمودپین به صورت وابسته به دوز، درد ناشی از این تست را در موش‌های صحرائی کاهش می‌دهند [۶]. Diaz و Dickenson در مطالعه خود نشان دادند که مهار کانال‌های کلسیمی نوع N, P و L در نورون‌های شاخه پشتی نخاع، اثر مهاری در التهاب ناشی از تزریق زیر جلدی فرمالین دارد. آنها به صورت داخل نخاعی و راپامیل را با دوز ۵-۵۰ میکروگرم قبل از تزریق فرمالین تجویز کردند. از 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 ۵ درصد با حجم ۵۰ 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 [۵]. در یک مطالعه دیگر نشان داده شده است که تجویز مهار کننده‌های کانال‌های کلسیمی با دوز mg/kg ۳-۱۸ را می‌تواند به صورت وابسته به دوز پاسخ درد را در موش‌های صحرائی کاهش دهد. آنها برای ایجاد درد از تست صفحه داغ استفاده کرده و دوزهای مختلف وراپامیل اعم از ۹، ۶، ۳ و ۱۸ mg/kg را به صورت داخل صفاتی قبل از انجام آزمایش تزریق کردند [۹]. مطالعه Pathirathna و همکاران نشان داد که آنتاگونیست‌های کانال‌های کلسیمی درد ناشی از گرما را در موش‌های صحرائی نژاد Sprague-Dawley مهار می‌کنند [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 قسمت‌های مختلف بدن از جمله کف دست و پا، لب بالا، داخل صفاق و داخل کولون به منظور ایجاد و بررسی واکنش‌های رفتاری و هورمونی، دردهای پیکری و احتشایی تزریق می‌شود [۱۵، ۱۴، ۸، ۵]. متعاقب تزریق فرمالین پاسخ‌های رفتاری مثل لیسیدن، گاز گرفتن، جویدن و بسی حرکت نگه داشتن عضو تزریق شده به صورت دو مرحله‌ای ثبت شده است. مرحله اول آن بلا فاصله پس از تزریق برای مدت ۵-۱۰ دقیقه (تحت عنوان درد نوروژنیک) و مرحله دوم آن از ۱۵-۲۰ دقیقه پس از تزریق به مدت ۴۰-۳۰ دقیقه به صورت افزایش در رفتار (تحت عنوان درد التهابی) مشخص می‌شود. بین دو مرحله مذکور یک فاصله زمانی ۵-۱۵ دقیقه‌ای به صورت کاهش واکنش‌های درد وجود دارد [۱۴، ۱۲]. در مطالعه حاضر نیز برای ایجاد درد و بررسی واکنش‌های درد در موش‌های سوری از غلظت ۵ درصد فرمالین با حجم ۲۰ میکرولیتر استفاده شده است و همان طور که گفته شد، استفاده از غلظت‌های مختلف فرمالین در کف پای موش‌های سوری درد ایجاد می‌کند [۱۲]. از طرف دیگر واکنش‌های 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 موش‌های سوری، بهتر از روش نمره دادن می‌باشد [۱۶، ۱۴، ۱۲]. در یک مطالعه، مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده با فرمالین ۵ درصد در فواصل زمانی ۰-۵ و ۲۰-۴۰ دقیقه پس از تزریق شدید بوده است [۱۱]. در نتیجه، دو مرحله ای بودن درد فرمالینی در مطالعه حاضر، هیچ گونه تضادی با گزارش‌های قبلی ندارد و به طور کامل آشکار می‌کند که فرمالین درد دو مرحله ای ایجاد می‌کند. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تزریق داخل صفاتی نیمودپین، نیفیدپین و آمیلوودپین بر رفتار درد ناشی از فرمالین اثر مهاری دارد؛ به طوری که نیمودپین بیشترین اثر ضد دردی را داشته و رفتار درد مرحله اول (۰-۵ دقیقه) و مرحله دوم (۲۰-۴۵ دقیقه) را کاهش می‌دهد. ولی آمیلوودپین و نیفیدپین فقط بر مرحله دوم درد اثر داشته و رفتار درد مرحله اول را کاهش نمی‌دهند. همان گونه که قبل از توضیح داده شد، مرحله اول درد ناشی از فرمالین یک درد نوروژنیک بوده و با تحریک مستقیم گیرنده‌های درد (نوسیسپتورها) ایجاد می‌شود و در این مرحله هیچ نوع واسطه شیمیایی شرکت نمی‌کند [۱۶، ۱۲]. در مطالعه حاضر از بین داروها فقط نیمودپین درد مرحله اول را کاهش داد و چنین می‌توان پیشنهاد کرد که نیمودپین اثر مستقیم ضد دردی دارد. مرحله دوم درد فرمالینی یک درد التهابی است و با دخالت انواع واسطه‌های التهابی مثل بروستاگلاندین‌ها، برادی

نیفدبیپین و آمیلودبیپین را شاید بتوان به توانایی نفوذ داروها از سد خونی- مغزی و ظرفیت مسدود کردن کانال‌های کلسیمی توسط هر یک از داروها ربط داد.

نتیجه گیری

نیمودبیپین، نیفدبیپین و آمیلودبیپین رفتار درد ناشی از فرمالین را مهار کرده و اثر ضد دردی و ضد التهابی دارند. هر سه دارو می‌توانند درد ناشی از التهاب را کاهش دهند و فقط نیمودبیپین درد نوروژنیک را کاهش می‌دهد این اثرات را احتمالاً می‌توان به نقش کانال‌های کلسیمی در سلول‌های عصبی از یک طرف و آزاد شدن واسطه‌های التهابی از سلول‌ها ارتباط داد؛ ولی بررسی نقش دقیق مهار کننده‌های کانال‌های کلسیمی دی‌هیدروپیریدینی بر درد و التهاب در انسان و مدل‌های دیگر حیوانی، نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

نیمودبیپین پاسخ درد نوروپاتیک را در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت مهار می‌کند. همچنین برای بررسی اثر نیمودبیپین از تزریق فرمالین و تست گرمای استفاده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز طولانی مدت نیمودبیپین، پاسخ درد موش‌های دیابتیک را در تست فرمالین و گرمای کاهش می‌دهد [۸]. همان‌طور که نتایج این تحقیق و مطالعات فوق نشان می‌دهد، برای مهار کننده‌های کانال‌های کلسیمی می‌توان اثر ضد دردی و ضد التهابی پیشنهاد نمود و نتایج این مطالعه نیز با نتایج محققین مختلف هم خوانی دارد. با توجه به اینکه کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ در کنترل عملکرد سلول‌های مختلف به خصوص نورون‌ها و آزاد شدن نوروترانسミترها و مواد شیمیایی از سلول‌ها نقش مهمی دارند [۹]، چنین می‌توان استنباط کرد که احتمالاً 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 واسطه‌های التهابی از سلول‌ها می‌باشد. علت تفاوت اثر ضد دردی سه داروی نیمودبیپین،

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 analgesic 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] Todorovic 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] Zbuzeck 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] Tamaddonfar 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.