

بررسی اثرات فرمالین و سلکوکسیب بر تولید نیتریک اکساید محیطی

*^۱ پریچهر حسن زاده ، آنا حسن زاده^۲

خلاصه

سابقه و هدف: گزارشات متناقضی در خصوص نقش نیتریک اکساید در پردازش پیام‌های درد و التهاب منتشر شده‌اند. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی میزان تولید نیتریک اکساید محیطی در پی تجویز غلظت‌های مختلف فرمالین (القاء کننده درد التهابی) و سلکوکسیب (داروی ضد درد و ضد التهاب) طراحی گردید.

مواد و روش‌ها: درد التهابی حاد و مزمم به واسطه تزریق فرمالین ۱ درصد، ۲/۵ درصد و ۵ درصد به موش‌های صحرایی نر بالغ القاء گردید. ۱/۵ و ۲۴ ساعت پس از تزریق حاد و ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق فرمالین طی تجویز مزمم ۴ روزه، آنالیز اسپکتروفوتومتریک نیتریت سرم انجام شد. اثر تجویز حاد و مزمم سلکوکسیب با دوزهای ۱۰، ۲۰، و ۴۰ میلی گرم/کیلوگرم / داخل صفاقی به صورت پیش درمانی یا به تنهایی بر میزان تولید نیتریک اکساید در فواصل زمانی مشابه مورد ارزیابی قرار گرفت. تحلیل داده‌ها توسط آزمون آنالیز واریانس دو طرفه انجام شد.

نتایج: تجویز فرمالین به طور وابسته به دوز و زمان منجر به افزایش نیتریت سرمی گردید. تجویز دوز ۴۰ میلی گرم/کیلوگرم سلکوکسیب به استثنای اینکه بر میزان نیتریت حاصل از تزریق فرمالین ۵ درصد پس از ۱/۵ ساعت بی تاثیر بود، مانع از تولید نیتریت در سایر موارد گردید. در عین حال، ۱/۵ ساعت پس از تجویز مستقل این دوز، افزایش قابل توجه نیتریت سرمی ملاحظه گردید.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد نیتریک اکساید مسیرهای نشانه پردازی وابسته به فرمالین را تحت تاثیر قرار دهد. سلکوکسیب بسته به شرایط تجویز، اثرات متفاوتی را بر تولید نیتریک اکساید محیطی اعمال می‌نماید.

واژگان کلیدی: نیتریک اکساید، فرمالین، سلکوکسیب

- استادیار گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی آجا تهران

- گروه بیولوژی مولوکولی دانشکده علوم سلولی مولوکولی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند

*نویسنده مسؤول: پریچهر حسن زاده

آدرس: تهران، خیابان فاطمی غربی، خیابان سرهنگ اعتماد زاده، دانشگاه علوم پزشکی آجا

پست الکترونیک: pari_has@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۷/۶/۳

تلفن: ۰۹۱۲ ۱۸۸ ۷۷۴۵

تاریخ پذیرش نهایی: ۸۷/۱۲/۲۴

دورنوبیس: ۰۲۱ ۸۸۰ ۲۱۹۱۳

مقدمه

درد التهابی روندی پاتولوژیک است که متشکل از وقایع پیچیده داخل و خارج سلولی می‌باشد. شناخت مکانیسم‌ها و عوامل مرتبط با بروز درد التهابی همواره در کانون توجه محققین بوده و در همین راستا از مدل‌های مختلفی جهت القای درد التهابی استفاده شده است [۱]. طی سال‌های متعدد، فرمالین به عنوان ابزاری مناسب جهت القای التهاب نوروژنیک و درد مداوم به کار گرفته شده است. پاسخ دو فازی ایجاد شده در پی تزریق زیر جلدی فرمالین متشکل از فازهای حاد و تونیک بوده که توسط یک فاصله زمانی مشخص قابل تفکیک می‌باشند. فاز اولیه (درد حاد) ناشی از فعل شدن مستقیم گیرنده‌های درد (nociceptors) می‌باشد. فاز دوم منعکس کننده مکانیسم‌های نوروبلاستیک

مواد و روش ها

حیوانات: در تحقیق حاضر از موش های صحرایی نر بالغ از نژاد Wistar در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شده است. حیوانات ضمن دسترسی به غذای مخصوص و آب آشامیدنی، در سیکل تاریکی - روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شده و قواعد مربوط به استاندارهای اخلاقی مصوب (International Association for the Study of IASP Pain) رعایت گردید [۱۶].

تجویز فرمالین: غلظت های مختلف فرمالین به طور حدودی مزمن تجویز شدند. برای تجویز حاد، سه گروه حیوان در نظر گرفته شد و برای هر یک از گروه ها ۵۰ میکرولیتر از یکی از غلظت های فرمالین ۱ درصد، ۲/۵ درصد، و ۵ درصد در هر دو کف پا تزریق شد (n=۷/گروه). تجویز مزمن فرمالین طی ۴ روز انجام شد و روند تزریق به منظور به حداقل رساندن آسیب بافتی بینهاین ترتیب بود: در روز اول تزریق، هر یک از غلظت های یاد شده فرمالین به طور دو طرفه به کف پای حیوان تزریق گردید و در روز دوم، تزریقات دو طرفه در سطوح پشتی پا انجام شد. روند تزریق در روزهای سوم و چهارم نیز به ترتیب فوق الذکر تکرار گردید. گروه های کترل دریافت کننده سالین از روند مشابهی پیروی نمودند (n=۷/گروه). از آنجایی که هدف از تزریق حاضر، ارزیابی تغییرات بیوشیمیایی ناشی از تزریق فرمالین بود، لذا رفتارهای ناشی از تجویز فرمالین مورد بررسی قرار نگرفت.

ارزیابی تولید NO محیطی در پی تزریق فرمالین: با توجه به اینکه نیمه عمر NO در سیستم های بیولوژیک فوق العاده کوتاه می باشد؛ لذا در مطالعه حاضر، تعیین غلظت نیتریت (متاپولیت NO) در سرم توسط روش گریس (Griess method) که نوعی روش رنگ سنجی است، به عنوان معیاری جهت ارزیابی میزان تولید و فعالیت NO محیطی مدل نظر قرار گرفت [۱۷]. در ضمن، با استناد به مطالعات قبلی، زمان بندی مشخصی جهت تعیین غلظت نیتریت در نظر گرفته شد [۱۸، ۱۹]. به طور خلاصه، ۱/۵ و ۲۴ ساعت پس از تجویز حاد غلظت های مختلف فرمالین و ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق در روش مزمن (ساعت ۱۲۰)، خون-گیری از حیوان و جداسازی سرم در پی ۱۰ دقیقه سانتریفوژ با دور ۴۰۰۰ انجمام شد. به منظور دپروتئینه نمودن سرم، ۲۰۰ میکرولیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳۵ درصد به ۵۰۰ میکرولیتر سرم افزوده شد. مخلوط حاصل، هر ۵ دقیقه یک بار به مدت ۳۰ دقیقه با دستگاه، هم زده شده و در پی آن به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ سانتریفوژ گردید. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از مایع رویی جدا شده و

های شاخ خلفی نخاع می باشد؛ به طوری که تجویز مهار کننده های این آنزیم به صورت خوراکی، داخل صفاقی و یا داخل نخاعی منجر به تضعیف قابل توجه رفتارهای ناشی از تجویز فرمالین می شود [۴]. مطالعه Omote NMDA در تست فرمالین فعال می شود [۵]. نکته جالب توجه در مورد NO، اثرات ظاهرها متناقضی است که در مورد این بیومولکول گزارش شده است. بر اساس برخی گزارشات، NO واحد اثر ضد تب بوده و در بسی در درد ناشی از تجویز مخدراها نقش دارد [۷، ۶]. همچنین به نظر می رسد اثر ضد درد استیل کولین تا حدودی ناشی از تولید NO باشد [۸]. بسی دردی ناشی از تجویز نئوستیگمین یا کلونیدین نیز به واسطه تجویز مهار کننده های NOS از بین می رود [۹، ۱۰]. طبق گزارش Rocha zymosan NO در بروز درد التهابی مفاصل ناشی از تجویز موارد یاد شده و همچنین اطلاعات اندک گزارش شده در ارتباط با نقش NO محیطی در بروز درد التهابی، هدف عمدۀ از طراحی مطالعه حاضر، ارزیابی میزان تولید NO محیطی در پی تزریق فرمالین (به عنوان مدل درد التهابی) بوده است. از آنجایی که بررسی اثر یک داروی ضد درد و ضد التهاب نیز بر روند مذکور ضروری به نظر می رسید، سلکوکسیب مدل نظر قرار گرفت. داروی مذکور که مهار کننده انتخابی آنژیم سیکلواکسیژناز-۲ (COX-2) می باشد، به طور عمدۀ در آرتریت روماتوئید، استئوآرتریت، و دردهای حاد تجویز گردیده و تقریباً فاقد عوارض گوارشی است [۱۲]. طی سال های اخیر مشخص شده است که میزان فعالیت COX-2 تحت شرایط التهاب زا یا وجود انواع بد خیمی ها افزایش می یابد. NO نیز به نوبه خود موجب افزایش بیش از پیش فعالیت COX-2 شده و تجویز مهار کننده های NOS COX-2 iNOS و COX-2 می شود [۱۳]. در همین ارتباط، تعامل بین COX-2 و جهت ارائه راه کارهای درمانی مناسب تر در بیماری های مزمن التهابی مانند استئوآرتریت مورد عنایت محققین قرار گرفته است [۱۴]. از طرف دیگر، سلکوکسیب واحد اثرات درمانی دیگری از جمله اثر ضد تومور است که به نظر می رسد ناشی از القای آپوپتوز در سلول سرطانی بوده و ارتباطی به مهار COX-2 نداشته باشد [۱۵]. این مورد موجب شده است تا ارزیابی سایر مکانیسم اثرهای سلکوکسیب بیش از پیش مورد توجه قرار گیرد. لذا در این مطالعه، علاوه بر بررسی اثر سلکوکسیب بر تولید احتمالی NO در پی تزریق فرمالین، اثر تجویز مستقل آن نیز بر میزان تولید NO مد نظر قرار گرفت.

نتایج

خاطر نشان می گردد آنالیز واریانس دو طرفه نشان دهنده اثر هر یک از فاکتورهای زمان و غلظت فرمالین بر میزان نیتریت سرمی بود ($P < 0.01$). علاوه بر این، تعامل بین فاکتورهای مذکور نیز مشاهده گردید ($P < 0.05$).

اثر تزریق فرمالین بر تولید NO محیطی: ۱/۵ و ۲۴ ساعت پس از تجویز حاد فرمالین ۱ درصد، افزایش قابل توجهی در میزان نیتریت سرمی مشاهده نشد. هر چند که ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق مزمن، غلظت نیتریت در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری یافت (نمودار ۱) ($p < 0.001$). ۲۴ ساعت پس از تجویز حاد و مزمن فرمالین ۲/۵ درصد، میزان نیتریت افزایش چشمگیری یافت (نمودار ۱) ($p < 0.001$), در حالی که ۱/۵ ساعت پس از تزریق حاد اثر قابل توجهی مشاهده نگردید ($p > 0.05$). سنجش غلظت نیتریت در پی تجویز حاد و مزمن فرمالین ۵ درصد در کلیه فواصل زمانی مذکور حاکی از افزایش قابل توجه غلظت نیتریت در مقایسه با گروه کنترل و سایر غلظت‌های فرمالین بود (نمودار ۱، $p < 0.001$).

اثر پیش درمانی با سلکوکسیب بر غلظت NO حاصل از تزریق فرمالین: پیش درمانی با سلکوکسیب با دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم منجر به کاهش نیتریت حاصل از تجویز فرمالین نشد (نمودارهای ۲ و ۳) ($p > 0.05$). پیش درمانی با دوز ۴۰ میلی گرم/کیلوگرم سلکوکسیب، به جز بی تاثیر بودن آن بر میزان نیتریت حاصل از تزریق فرمالین ۵ درصد پس از ۱/۵ ساعت (نمودار ۴) ($p > 0.05$), در تمامی موارد دیگر باعث کاهش چشمگیر میزان نیتریت گردید (نمودار ۴).

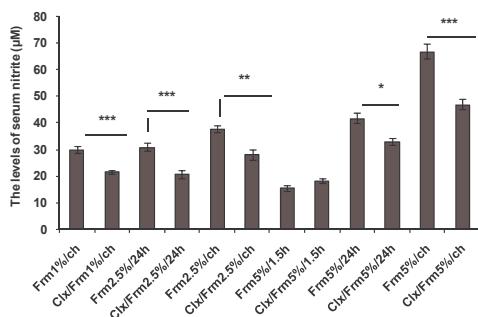
اثر سلکوکسیب بر تولید NO محیطی: تجویز حاد و مزمن سلکوکسیب با دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم در هیچ یک از فواصل زمانی یاد شده، اثر چشمگیری بر میزان نیتریت سرم نداشت (نمودار ۵) ۱/۵ ساعت پس از تجویز حاد دوز ۴۰ میلی گرم/کیلوگرم سلکوکسیب، افزایش معنی داری در غلظت نیتریت سرم ملاحظه گردید (نمودار ۵) ($p < 0.05$), در حالی که ۲۴ ساعت پس از تجویز حاد (ساعت ۲۴) و مزمن (ساعت ۱۲۰) دوز مذکور، تغییری در میزان نیتریت در مقایسه با گروه کنترل ملاحظه نگردید (نمودار ۵) ($p > 0.05$).

به آن بافر شامل ۳۰۰ میکرولیتر کلرید آمونیوم ۵ درصد و ۶۰ میکرولیتر هیدروکسید سدیم ۵ درصد افزوده شد. PH ترکیب حاصل در حدود ۸ تنظیم شده و با حجم مساوی از واکنش گر N-(1-sulphanilic acid (%1w v⁻¹) (Griess شامل ethylenediamide (0.1 w v⁻¹) naphthyl در اسید فسفریک ۵ درصد مخلوط شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. جذب نوری نمونه ها توسط اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر در برابر ترکیب آب م قطر و معروف گریس قرائت گردید. غلظت نیتریت با استفاده از منحنی استاندارد غلظت نیتریت سدیم (۱-۱۰۰ میکرومولار) در برابر جذب نوری آن تعیین شد.

ارزیابی اثر سلکوکسیب بر میزان NO حاصل از تجویز فرمالین: در صورت افزایش غلظت نیتریت در پی تجویز حاد یا مزمن هر یک از غلظت‌های فرمالین، در مرحله بعد، سلکوکسیب DMSO (Searle) با دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم (حلال: Dimethyl Sulfoxide; Sigma) دقیقه قبل از تجویز فرمالین به طور داخل صفاقی تزریق شد. سپس، مراحل فوق الذکر جهت سنجش میزان نیتریت سرمی تکرار گردید.

اثر تجویز مستقل سلکوکسیب بر تولید NO محیطی: این دارو با دوزهای یاد شده تحت تجویز حاد و مزمن (طی ۴ روز) قرار گرفت. سپس میزان نیتریت سرمی در فواصل زمانی مشابه ۱/۵ و ۲۴ ساعت پس از تجویز حاد، و ۲۴ ساعت پس از تجویز مزمن؛ ساعت ۱۲۰) تعیین گردید [۱۷]. گروه های کنترل حجم معادلی از DMSO ۲۰ درصد در سالین را دریافت کردند.

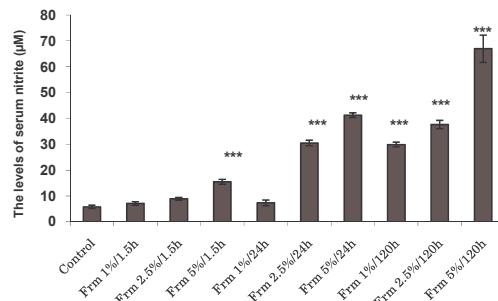
آزمون آماری: ANOVA دو طرفه همراه با تست تعقیبی توکی جهت آنالیز میزان نیتریت سرمی در نظر گرفته شد. در ضمن، ارزیابی اثرات هر یک از متغیرهای مستقل شامل زمان و غلظت فرمالین بر میزان نیتریت و همچنین تعامل احتمالی بین آنها نیز مد نظر قرار گرفت. هر یک از فاکتورهای مذکور به ترتیب دارای سه سطح، ۱/۵، ۲۴ و ۱۲۰ ساعت) و (۱، ۲/۵ و ۵ درصد) بودند. یادآور می شود قبل از این مرحله، آزمون-Kolmogorov-Smirnov به منظور ارزیابی توزیع نرمال داده ها استفاده شد و در صورت لزوم، تبدیل داده ها به منظور نرمال نمودن و کاهش پراکندگی داده ها انجام شد. داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار بیان شده اند. $p < 0.05$ به عنوان حداقل سطح تفاوت معنی دار تلقی گردید.



نمودار ۴- اثر پیش درمانی با دوز ۴۰ میلی گرم/کیلوگرم سلکوکسیب بر میزان نیتریت سرمی حاصل از تجویز فرمالین: پیش درمانی با دوز مذکور به جز عدم تاثیر آن بر میزان نیتریتی که ۱/۵ ساعت پس از تزریق فرمالین ۵ درصد تولید شده بود، منجر به کاهش قابل توجه نیتریت در سایر موارد گردید. داده ها به صورت Mean \pm SEM

ارائه شده اند.

*** p < 0.001 , ** p < 0.01 , * p < 0.05



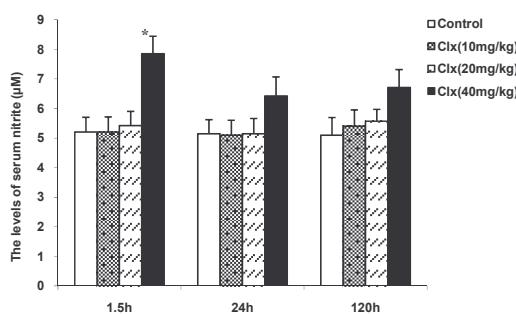
نمودار ۱- تجویز حاد و مزمن فرمالین ۵ درصد در کلیه فواصل زمانی موجب افزایش قابل توجه نیتریت در مقایسه با گروه کنترل و غلطت-های ۱ درصد و ۲/۵ درصد شد. داده ها به صورت Mean \pm SEM ارائه شده اند. *** p < 0.001

.../1.5h .../24h .../ch

...: ۲۴ ساعت پس از تجویز مزمن

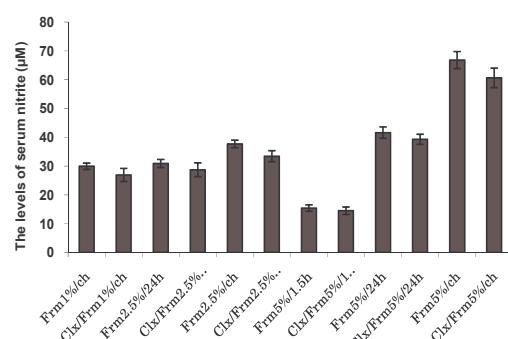
: پیش درمانی با سلکوکسیب

Frmlin



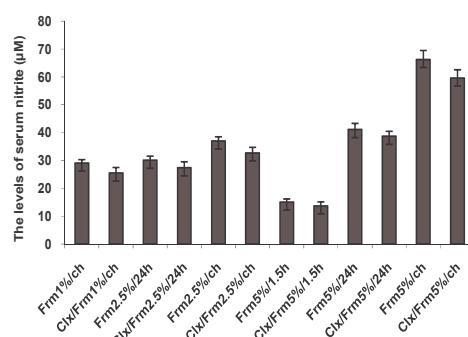
نمودار ۵- اثر تجویز دوز های مختلف سلکوکسیب بر میزان نیتریت سرمی: ۱/۵ ساعت پس از تجویز حاد سلکوکسیب با دوز ۴۰ میلی گرم/کیلوگرم، افزایش معنی داری در میزان نیتریت ملاحظه گردید. داده ها به صورت Mean \pm SEM ارائه شده اند. *

* p < 0.05



نمودار ۲- اثر پیش درمانی با سلکوکسیب ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم بر میزان نیتریت سرمی حاصل از تجویز فرمالین: با تجویز دوز یاد شده، تعییر چشمگیری در میزان نیتریت حاصله ملاحظه نشد. داده ها به صورت Mean \pm SEM ارائه شده اند.

Mean \pm SEM ارائه شده اند.



نمودار ۳- اثر پیش درمانی با سلکوکسیب ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم بر غلطت نیتریت سرمی حاصل از تجویز فرمالین: اثر قابل توجهی در اثر تجویز دوز مذکور ایجاد نشد. داده ها به صورت Mean \pm SEM ارائه شده اند.

ارتباط با تجویز مستقل سلکوکسیب بر میزان تولید NO محیطی ملاحظه گردید، افزایش میزان نیتریت سرمی ۱/۵ ساعت پس از تجویز سلکوکسیب با دوز ۴۰ میلی گرم/کیلوگرم بود (نمودار ۵). در نگاه اول، یافته اخیر با توجه به نقش NO در درد و کاهش تولید آن در پی پیش درمانی با سلکوکسیب، یک تناقض به نظر می رسد. هر چند که عدم توانایی دوز مذکور در کاهش نیتریت حاصل از تجویز فرمالین ۵ درصد پس از گذشت ۱/۵ ساعت (نمودار ۴)، ممکن است تا حدودی تناقض یاد شده را حذف کند. از طرف دیگر، همان گونه که قبل از اشاره گردید، در سال های اخیر نقش NO در بروز بی دردی نیز از جانب برخی از محققین عنوان شده است. بر اساس گزارشات، این غلظت‌های بالای بیومولکول به طور معمول در بروز درد نقش داشته و غلظت‌های کم آن در ظهور بی دردی اضافی نقش می نماید [۲۸]. بدین ترتیب به نظر می رسد یک غلظت پایه از NO در بدن موجود باشد که به عنوان جزء تاثیرگذار در مکانیسم‌های دفاعی یا واکنش‌های جبرانی بر علیه محرك‌های دردزا عمل نماید. در همین راستا، طی سالیان اخیر عرضه داروهای ضد درد مهار کننده COX-2 که واجد استخلاف آزاد کننده NO باشند، رو به افزایش بوده است. این داروها نسل جدیدی از داروهای ضد درد و ضد التهاب غیراستروئیدی (NSAIDs) بوده و به دلیل توانایی رهاش سمیت گوارشی کمتری در مقایسه با NSAID های استاندارد AZD3582 دارند. این داروها مانع از تجمع پلاکتی نیز می شوند. ترکیبی از این دسته است که طی سال‌های اخیر به دلیل اثر ضد درد مناسب و محافظت از دستگاه گوارش مورد توجه محققین قرار گرفته و به نظر می رسد از پتانسیل درمانی لازم جهت ارائه به مراکز بالینی برخوردار باشد [۲۹]. به طور کلی، یافته های مرتبط با اثر سلکوکسیب بر میزان نیتریت موید این نکته می باشند که سلکوکسیب واجد اثرات مختلفی بر میزان تولید NO محیطی است؛ به طوری که این دارو مانع از افزایش بیش از حد NO در شرایط التهابی شده و در عین حال در اولین مراحل اثر درمانی خود موجب تحیریک تولید NO می گردد. البته میزان افزایش مذکور در مقایسه با NO حاصل از درد التهابی به مراتب کمتر است (مقایسه نمودارهای ۱ و ۵). با توجه به نمودار ۵ ملاحظه می شود ۲۴ ساعت پس از تجویز حاد و مزمون سلکوکسیب افزایش چشمگیری در میزان نیتریت ایجاد نمی شود. علت مورد مذکور احتمالاً مربوط به نیمه عمر یک ساعته سلکوکسیب است. لذا به نظر می رسد در فواصل زمانی ذکر شده (ساعات ۲۴ و ۱۲۰) غلظت مناسبی از دارو در خون جهت القای تولید NO موجود باشد. نمودار ۵ نشان می دهد که تجویز دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی

طلانی مدتی را در مناطق وسیعی از بدن القاء نموده و غالباً همراه با تولید و تجمع یون‌ها، پیتیدها، لیپیدها، و سایتوکاین‌های التهابی می باشد که در نهایت فعال شدن اعصاب محیطی و مرکزی و همچنین القای سیت سلولی را در پی خواهد داشت [۲]. افزایش تولید NO در پی تزریق فرمالین، احتمالاً در اثر افزایش فعالیت آنزیم iNOS می باشد که دارای نقش بارزی در بروز ضایعات التهابی، دردهای مزمن، و القای آسیب سیت سلولی در نورون‌ها می باشد [۲۰]. یافته اخیر، تائیدی بر نتایج مطالعات قبلی است که میبن نقش NO در مکانیسم‌های ایجاد و هدایت درد در سیستم های عصبی محیطی و مرکزی می باشد [۲۲، ۲۱]. آنچه که در ارتباط با افزایش تولید NO محیطی در پی تزریق فرمالین حایز اهمیت بیشتری است، بالا بودن میزان نیتریت سرم علی رغم گذشت ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق فرمالین می باشد (نمودار ۱). این مورد، نشان دهنده تداوم درد التهابی ناشی از تزریق فرمالین تا مدت‌ها پس از اعمال تحیریک اولیه بوده و همچنین منعکس کننده روندی پاتولوژیک همراه با تغییرات دینامیک و پیش رونده می باشد. پیش درمانی با دوز ۴۰ میلی گرم/کیلوگرم سلکوکسیب به عنوان داروی ضد درد و ضد التهاب سبب کاهش چشمگیر میزان نیتریت حاصل از تزریق فرمالین گردید (نمودار ۲). در حالی که با دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم داروی مذکور، اثر قابل توجهی در این خصوص ملاحظه نگردید (نمودارهای ۲ و ۳). این یافته‌ها علاوه بر تأیید نقش درد التهابی حاصل از تزریق فرمالین در القای تولید NO، نشان می دهند که سلکوکسیب روندهای اکسایتوکسیک مرتبط با درد التهابی را به طور وابسته به دوز تحت تاثیر قرار می دهد. بنابر گزارش Ozgocmen، غلظت نیتریت سرمی در بیماران دریافت کننده سلکوکسیب، کاهش قابل توجهی می یابد [۲۳]. علاوه بر این، Matsuda نیز نشان داده است که سلکوکسیب قادر است افزایش NO ناشی از osteoarthritic chondrocytes افزایش فعالیت NO و COX-2 تحت شرایط التهاب‌زا، تشیدید فعالیت COX-2 NO توسط و تعامل می بین iNOS در مدل های التهابی [۲۵]، به نظر می رسد سلکوکسیب اثر درمانی خود را تا حدودی از طریق دخالت در عملکرد iNOS اعمال می کند. به عبارت دیگر، سلکوکسیب علاوه بر مهار COX-2 محیطی و نخاعی [۱۲]، مسیر وابسته به NO را نیز تحت تاثیر قرار داده و اثر مهاری خود را بر پیامدهای درد التهابی اعمال می کند. البته در همین ارتباط نباید نقش سایر مکانیسم ها از جمله مهار NF-kappa B (فاكتور هسته ای دخیل در بروز درد) یا تغییر در فعالیت کینازهای سلولی [۲۷، ۲۶] را نادیده گرفت. آنچه که در

نتیجه گیری

نتایج بدست آمده در این مطالعه مبین نقش NO در روندهای التهابی و ضد التهابی می‌باشد. با توجه به افزایش قابل توجه NO در پی تزریق غلظت‌های مختلف فرمالین، به نظر می‌رسد القای درد التهابی به مدت طولانی تر می‌تواند آسیب و سمیت محیطی را در پی داشته باشد. لذا تجویز مهار کننده و یا خنثی کننده‌های NO را می‌توان به عنوان عامل محافظت کننده در برابر عوارض ناشی از القای این نوع از درد پاتولوژیک در نظر گرفت. در ضمن، مطالعه حاضر نشان داد که سلکوکسیب علاوه بر مکانیسم اثرهای شناخته شده، مسیرهای وابسته به NO را نیز جهت بروز اثرات خود تحت تأثیر قرار می‌دهد. البته اثر مذکور بسته به شرایط تجویز می‌تواند کاملاً متفاوت باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله، نویسنده‌گان تشکر صمیمانه خود را خدمت جناب آقای دکتر زواران، عضو هیات علمی گروه ایمونولوژی دانشگاه تربیت مدرس، و پرسنل محترم گروه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی ایران بابت اهدای برخی از مواد مصرفی تقدیم می‌دارند.

گرم/کیلوگرم سلکوکسیب موجب افزایش نیتریت سرمی در مقایسه با گروه کنترل نشد. این یافته بار دیگر اهمیت دوز-پاسخ را خاطر نشان می‌سازد. در مجموع، نتایج این مطالعه در ارتباط با عملکرد سلکوکسیب موید این نکته است که داروی مذکور جزو داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی نسل دوم است که محرک تولید NO می‌باشد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که افزایش میزان NO محیطی منجر به افزایش cGMP، اتساع عروق، افزایش جریان خون بافتی، حفظ پتانسیل طبیعی غشاء، و در نهایت موجب تضعیف درد می‌شود [۳۰]. نتایج یک مطالعه حاکی از این است که سلکوکسیب به طور منحصر به فرد موجب اتساع عروق کرونر خوکچه هندی و اتساع آثورت در مسیر نشانه‌پردازی NO/cGMP به دارای اثر تقویت کننده در مسیر نشانه‌پردازی به [۳۱]. تحریک تولید NO توسط سلکوکسیب، شاید تا حدودی کم خطر بودن این دارو را در سیستم قلبی عروقی به ذهن متبار سازد؛ هر چند که مورد اخیر همچنان به عنوان یک موضوع بحث برانگیز مطرح می‌باشد. در مجموع، با عنایت به یافته‌های دور از انتظار در مورد سلکوکسیب، به نظر می‌رسد داروی مذکور همچنان با ناشناخته‌هایی همراه است.

References:

- [1] Banna NR, Saadé NE, Atweh SF, Jabbur SJ. Prolonged discharge of wide-dynamic-range spinal neurons evoked by formaldehyde injected in their cutaneous receptive fields. *Exp Neurol* 1986; 93(1):275-8.
- [2] Dickenson AH, Sullivan AF. Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neurons in the rat: differential response to an intrathecal opiate administered pre or post formalin. *Pain* 1987;30(3):349-60.
- [3] Anbar M, Gratt BM. Role of nitric oxide in the physiopathology of pain. *J Pain Symptom Manage* 1997;14(4):225-54.
- [4] Przewlocka B, Micka J, Capone F, Machelska H, Pavone F. Intrathecal oxotremorine affects formalin-induced behavior and spinal nitric oxide synthase immunoreactivity in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1999; 62(3):531-6.
- [5] Omote K, Kawamata T, Kawamata M, Nakayama Y, Hazama K, Namiki A. Activation of peripheral NMDA-nitric oxide cascade in formalin test. *Anesthesiology* 2000;93(1):173-8.
- [6] Benamar K, Geller EB, Adler MW. Role of the nitric oxide pathway in kappa-opioid-induced hypothermia in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;303(1):375-8.
- [7] Homayoun H, Khavandgar S, Dehpour AR. The selective role of nitric oxide in opioid-mediated footshock stress antinociception in mice. *Physiol Behav* 2003;79 (4-5):567-73.
- [8] Patil CS, Jain NK, Singh VP, Kulkarni SK. Cholinergic-NO-cGMP mediation of sildenafil-induced antinociception. *Indian J Exp Biol* 2004;42(4):361-7.
- [9] Przesmycki K, Dzieciuch JA, Czuczwar SJ, Kleinrok Z. Nitric oxide modulates spinal antinociceptive effect of clonidine but not that of baclofen in the formalin test in rats. *Eur Neuropsychopharmacol* 1999;9(1-2):115-21.
- [10] Chen SR, Khan GM, Pan HL. Antiallodynic effect of intrathecal neostigmine is mediated by spinal nitric oxide in a rat model of diabetic neuropathic pain. *Anesthesiology* 2001;95(4): 1007-12.
- [11] da S Rocha JC, Peixoto ME, Jancar S, de Q Cunha F, de A Ribeiro R, da Rocha FA. Dual effect of nitric oxide in articular inflammatory pain in zymosan-induced arthritis in rats. *Br J Pharmacol* 2002;136(4):588-96.
- [12] Frampton JE, Keating GM. Celecoxib: a review of its use in the management of arthritis and acute pain. *Drugs* 2007;67(16):2433-72.

- [13] Park SW, Lee SG, Song SH, Heo DS, Park BJ, Lee DW, et al. The effect of nitric oxide on cyclooxygenase-2 (COX-2) overexpression in head and neck cancer cell lines. *Int J Cancer* 2003;107(5):729-738.
- [14] Needleman P, Manning PT. Interactions between the inducible cyclooxygenase (COX-2) and nitric oxide synthase (iNOS) pathways: implications for therapeutic intervention in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 1999;7(4):367-70.
- [15] Yoshinaka R, Shibata MA, Morimoto J, Tanigawa N, Otsuki Y. COX-2 inhibitor celecoxib suppresses tumor growth and lung metastasis of a murine mammary cancer. *Anticancer Res* 2006; 26(6B): 4245-54.
- [16] Zimmermann M. Ethical guidelines for investigation of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1983;16(2):109-10.
- [17] Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15 N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982;126(1):131-8.
- [18] Amini H, Ahmadiani A. Increase in testosterone metabolism in the rat central nervous system by formalin-induced tonic pain. *Pharmacol Biochem Behav* 2002;74(1):199-204.
- [19] Zhang FY, Wan Y, Zhang ZK, Light AR, Fu KY. Peripheral formalin injection induces long-lasting increases in cyclooxygenase 1 expression by microglia in the spinal cord. *J Pain* 2007;8(2):110-7.
- [20] Hassanzadeh P, Ahmadiani A. Nitric oxide and c-Jun N-terminal Kinase are involved in the development of dark neurons induced by inflammatory pain. *Synapse* 2006;59(2):101-6.
- [21] Robbins RA, Grisham MB. Nitric oxide. *Int J Biochem Cell Biol* 1997;29(6):857-60.
- [22] Levy D, Zochodne DW. NO Pain: Potential Roles of Nitric Oxide in Neuropathic Pain. *Pain Pract* 2004; 4(1):11-18.
- [23] Ozgocmen S, Ardicoglu O, Erdogan H, Fadillioglu E, Gudul H. In vivo effect of celecoxib and tenoxicam on oxidant/anti-oxidant status of patients with knee osteoarthritis. *Ann Clin Lab Sci* 2005;35(2):137-43.
- [24] Matsuda K, Nakamura S, Matsushita T. Celecoxib inhibits nitric oxide production in chondrocytes of ligament-damaged osteoarthritic rat joints. *Rheumatol Int* 2006;26(11):991-5.
- [25] Clancy R, Varenika B, Huang W, Ballou L, Attur M, Amin AR, et al. Nitric oxide synthase/COX cross-talk: nitric oxide activates COX-1 but inhibits COX-2-derived prostaglandin production. *J Immunol* 2000; 165(3):1582-87.
- [26] Yoshinaka R, Shibata MA, Morimoto J, Tanigawa N, Otsuki Y. COX-2 inhibitor celecoxib suppresses tumor growth and lung metastasis of a murine mammary cancer. *Anticancer Res* 2006;26(6B):4245-54.
- [27] Kirkova M, Alexandova A, Kesiova M, Tsvetanova E, Georgieva A, Todorov S. Potential antioxidant activity of celecoxib and amtolmetin guacyl: in vitro studies. *Auton Autacoid Pharmacol* 2007;27(1):13-18.
- [28] Gladwin MT, Raat NJH, Shiva S, Dezfulian C, Hogg N, Kim-Shapiro DB, et al. Nitrite as a vascular endocrine nitric oxide reservoir that contributes to hypoxic signaling, cytoprotection, and vasodilation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;291(5):H2026-H2035.
- [29] Michael Hill C, Sindet-Pederson S, Seymour RA, Hawkesford JE 2nd, Coulthard P, Lamey PJ, et al. Analgesic efficacy of the cyclooxygenase-inhibiting nitric oxide donor AZD3582 in postoperative dental pain: Comparison with naproxen and rofecoxib in two randomized, double-blind, placebo-controlled studies. *Clin Ther* 2006;28(9):1279-95.
- [30] Arasapam G, Scherer M, Cool JC, Foster BK, Xian CJ. Roles of COX-2 and iNOS in the bony repair of the injured growth plate cartilage. *J Cell Biochem* 2006;99(2):450-61.
- [31] Klein T, Eltze M, Grebe T, Hatzelmann A, Kömhoff M. Celecoxib dilates guinea-pig coronaries and rat aortic rings and amplifies NO/cGMP signaling by PDE5 inhibition. *Cardiovasc Res* 2007;75(2):390-7.