

## مقایسه رفتار درد فرمالینی در موش‌های سوری نر نرمال و کلستاتیک

میرهادی خیاط نوری<sup>۱\*</sup>، محمدرضا نصیرزاده<sup>۲</sup>، سیدحسین طباطبایی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۸۹/۸/۲۳

### چکیده

درد یکی از مهمترین تظاهرات بالینی اکثر بیماری‌ها می‌باشد. با وجود پیشرفت‌های زیاد، درمان درد و اختلالات همراه آن از چالش‌های پیش روی پزشکان و محققان است. نشان داده‌اند که بستن مجاری صفراوی (کلستاز) در حیوانات به صورت تجربی و زردی در انسان، اثر داروها روی اندام‌ها و گیرنده‌ها را تغییر می‌دهد. بنابراین بررسی این موضوع که وجود توام این دو (درد و کلستاز) در یک شخص میتواند تداخلی داشته باشد یا نه موضوع مهمی می‌تواند باشد. هدف از این مطالعه، مقایسه رفتار درد فرمالینی در حیوانات نرمال و کلستاتیک می‌باشد. در این مطالعه تجربی از تعداد ۳۰ سر موش سوری نر نژاد *NMRI* که به صورت تصادفی به ۳ گروه تقسیم شدند، استفاده شد. به طوری که یک گروه نرمال، یک گروه جراحی شده بدون بستن مجرای صفراوی و یک گروه جراحی شده همراه با بستن مجرای صفراوی بود. رفتار درد در حیوانات نرمال و هفت روز بعد از جراحی در دو گروه ارزیابی شد. برای ایجاد رفتار درد، فرمالین ۵ درصد با حجم ۲۰ میکرولیتر به صورت کف پای تزریق و مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده، در فواصل زمانی ۵ دقیقه‌ای به مدت یک ساعت ثبت شد. نتایج نشان داد که تزریق کف پای فرمالین یک رفتار درد دو مرحله‌ای ایجاد می‌کند. کلستاز باعث کاهش معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) پاسخ درد حاد و کاهش غیرمعنی‌دار ( $p > 0.05$ ) درد مزمن شد. بر اساس نتایج چنین می‌توان پیشنهاد کرد که کلستاز اثر کاهش دهنده درد و التهاب ایجاد می‌کند. این اثر احتمالاً به دلیل افزایش اویوئیدهای داخلی است.

**واژگان کلیدی:** کلستاز، اویوئید داخلی، درد، فرمالین، موش سوری

### مقدمه

درد یکی از مهمترین اختلالات در بدن است و از تظاهرات بالینی اکثر بیماری‌ها می‌باشد (۲۶). درد یک

مکانیسم حفاظتی برای بدن است و زمانی ایجاد می‌شود که بافت‌ها آسیب دیده باشند و بدین ترتیب درد شخص را وادار به واکنش برای برداشتن محرک دردزا می‌کند. شیوع درد بسیار زیاد است به طوری که ۲۰ درصد مردم در طول زندگی خود درد را تجربه می‌کنند. بیش از ۲۰ درصد افراد بالغ مبتلا به درد مزمن هستند و در بیشتر موارد نیز در درمان آن دچار مشکل

۱- گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز  
۲- گروه فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز  
۳- دانشجوی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز  
\*پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mh.khayatnouri@iaut.ac.ir

در روزها (۲)، احتمال وجود مکانیسم دیگری را در نوروهای حیوانات کلستاتیک مطرح می‌کنند (۱۴، ۱۳، ۱۲ و ۱۵). با توجه به اهمیت درد و در ضمن کلستاز، که امروزه در اجتماع یکی از مشکلات بیماران و وزارت بهداشت کشور است، بررسی این موضوع که وجود توام این دو بیماری در یک شخص می‌تواند تداخلی داشته باشد یا نه، مهم است. این موضوع می‌تواند از لحاظ فارماکولوژی به ناقل‌ها و گیرنده‌های مختلفی مرتبط باشد. روشن شدن این مطلب مهم است، زیرا در شخصی که مبتلا به درد و در ضمن مبتلا به یرقان می‌باشد، از لحاظ کاربردی چه نوع تغییری در درمان باید صورت گیرد و علت این تغییرات در درد بیماران کلستاتیک چه می‌تواند باشد؟ با این پیش فرض، این مطالعه به مقایسه پاسخ درد در حیوانات نرمال و کلستاتیک می‌پردازد.

## مواد و روش کار

در این مطالعه تجربی از تعداد ۳۰ سر موش سوری نر نژاد NMRI استفاده شد. حیوانات انتخاب شده از نظر وزن (۲۵-۳۰ گرم) و تغذیه در شرایط یکسان، نگهداری شدند. حیوانات به صورت تصادفی در گروه‌های درمانی قرار داده شدند (۳ گروه و برای هر گروه  $n=10$ )، به طوری که یک گروه نرمال، یک گروه جراحی شده بدون بستن مجرای صفراوی (شم) و یک گروه جراحی شده همراه با بسته شدن مجرای صفراوی (کلستاتیک) بود. در ابتدا رفتار درد فرمالینی در حیوانات نرمال و سپس برای ارزیابی اثر کلستاز روی درد، بعد از انجام عمل کلستاز و مشخص کردن گروه شم و کلستاتیک، هفت روز بعد از جراحی و عمل کلستاز (۲۲، ۱۵، ۱۴ و ۲۷) رفتار درد فرمالینی ارزیابی شد، تا در نهایت رفتار درد بین حیوانات نرمال، شم و کلستاتیک مقایسه شود.

برای انجام عمل کلستاز، ابتدا حیوانات توسط کلرپرومازین ( $10\text{mg/kg}$ ) به عنوان داروی پیش

شده‌اند. در کشور استرالیا حدود ۲ تا ۴ میلیون انسان مبتلا به آرتریت (درد مزمن) وجود دارد (۸). با وجود پیشرفت‌های زیادی که در عرصه علم پزشکی و داروسازی صورت گرفته است، با این حال درمان درد و اختلالات همراه آن، از چالش‌های پیش روی پزشکان و محققان است (۱۸ و ۲۶).

کلستاز از بیماری‌های مهمی است که امروزه در اجتماع یکی از مشکلات بیماران و وزارت بهداشت کشور است. با توجه به اینکه ایجاد کلستاز (بستن مجاری صفراوی) در حیوانات به صورت تجربی و زردی در انسان، نشان داده‌اند که به علت تغییرات پاتوفیزیولوژیکی شدید، اثر داروها روی اندام‌ها و گیرنده‌ها را تغییر می‌دهد (۱۶، ۳، ۴ و ۳۳)، این احتمال وجود دارد که کلستاز ایجاد شده روی موش‌ها بر درد ناشی از فرمالین اثرگذار باشد. Bergasa و همکاران (۱۹۹۴) در مطالعه روی موش‌های صحرایی مبتلا به کلستاز نشان دادند که ایجاد کلستاز پاسخ موش‌های صحرایی را نسبت به داروی نالوکسان در مدل درد تلنگر دمی تغییر می‌دهد (۲). حتی در سایر اختلالات سیستم اعصاب مرکزی نیز از جمله تشنج، ارتباط بین کلستاز و آن را نشان داده و نقش سیستم اویپوئیدی را مطرح کرده‌اند. به طوریکه مطالعات قبلی نشان می‌دهد که افزایش سطح اویپوئیدهای درون‌زا در بعضی از حالات پاتولوژیک مثل کلستاز، آستانه تشنجات را در موش‌های کلستاتیک، افزایش می‌دهد که در صورت تجویز آنتاگونیست‌های اویپوئیدی (نالوکسان) این افزایش آستانه خنثی می‌شود. Homayoun و همکاران (۲۰۰۲) در مطالعه روی موش‌های سوری مبتلا به کلستاز تجربی نشان دادند که با بستن مجرای صفراوی، پاسخ این حیوانات نسبت به ماده تشنج‌زای پنتیلین ترازول کاهش می‌یابد. آنها علت این امر را به افزایش سطح برخی مواد آندوژن ارتباط دادند (۱۶).

به طور کلی مکانیسم اثر کلستاز روی درد مشخص نشده و حتی علاوه بر افزایش اویپوئیدهای

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، در نتیجه فرمالین درد دو مرحله‌ای (مرحله اول: ۵-۰ و مرحله دوم: ۴۵-۱۵ دقیقه پس از تزریق) ایجاد می‌کند. بین گروه های نرمال و شم از نظر رفتار درد فرمالینی اختلاف معنی داری وجود نداشت، پس دستکاری حیوان بدون بستن مجرای صفراوی تاثیر معنی داری روی رفتار درد ندارد (نمودار ۱).

دو روز بعد از مسدود کردن مجرای صفراوی در حیوانات نشانه های کلستاز (زردی، ادرار تیره و اسهال چرب) مشاهده گردید که به عنوان شاخص ایجاد کلستاز در نظر گرفته شد. اما در روز هفت بعد از عمل، متعاقب تزریق کف پای فرمالین، کلستاز فقط در ۵ دقیقه اول به طور معنی دار ( $p < 0.05$ ) موجب کاهش درد شد. البته در ۵ دقیقه های بعدی نیز کاهش پاسخ مشاهده می‌شود ولی از نظر آماری معنی دار نیستند (نمودار ۱).

## بحث

در مطالعه حاضر پس از تزریق کف پای فرمالین ۵٪ با حجم ۲۰ میکرولیتر، واکنش های لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریق شده در ۵ دقیقه های اول، چهارم، پنجم، ششم، هفتم، هشتم و نهم ایجاد می‌شود. با توجه به اینکه در این پنج دقیقه ها نسبت به زمان های دیگر واکنش های درد بسیار شدید بود، میتوان نتیجه گرفت که درد به صورت دو مرحله ای (مرحله اول: ۵-۰ و مرحله دوم ۴۵-۲۰ دقیقه پس از تزریق) ظاهر می‌شود. در تحقیقات مربوط به درد برای ایجاد درد و بررسی واکنش های رفتاری، هورمونی، احشایی و الکتروفیزیولوژی درد، از مواد دردزا مثل اسید استیک، برادی کینین، پروستاگلاندین ها، یون پتاسیم، هیستامین، سروتونین و نیکوتین استفاده شده است. در همین رابطه از فرمالین به طور گسترده ای استفاده شده و

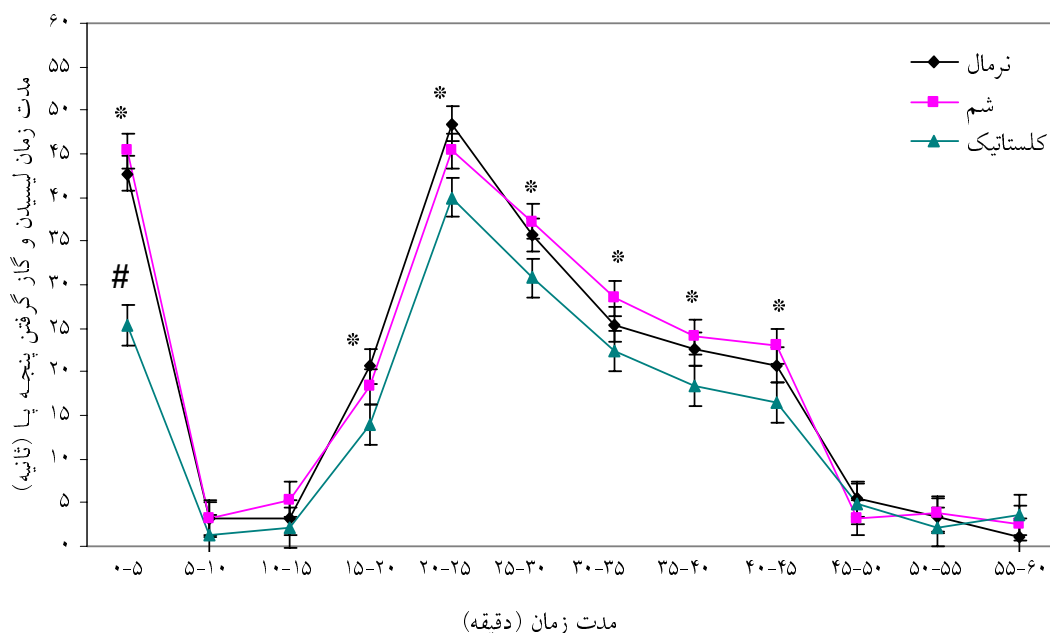
بیهوشی و به همراه کتامین ( $50\text{mg/kg}$ )، بیهوش شده (از راه داخل صفاقی) و سپس شکم باز و مجرای مشترک صفراوی مشخص شده و در دو جای مختلف از بالاترین و پائین ترین قسمت گره زده شد. عضلات و پوست به طور مجزا بخیه زده می‌شوند. در گروه شم فقط شکم حیوان باز و مجرای صفراوی دستکاری شده، ولی بسته نمی‌شود، ولی در گروه کلستاتیک مجرای صفراوی طبق روش فوق بسته می‌شود. دو روز بعد از مسدود کردن مجرای صفراوی در حیوانات نشانه های کلستاز (زردی، ادرار تیره و اسهال چرب) مشاهده می‌شود که به عنوان شاخص ایجاد کلستاز در نظر گرفته شد (۱۵، ۱۴، ۱۳، ۱۶ و ۱۷).

برای ایجاد و بررسی رفتار درد (آزمون فرمالین) از دستگاه آینه درد (MPA, Mirror pain apparatus) استفاده شد. دستگاه آینه درد طوری تنظیم شده است که مشاهده و یا فیلم برداری حرکات حیوان از آینه کاملاً امکان پذیر است. برای ایجاد درد ۲۰ میکرولیتر از محلول فرمالین ۵ درصد در کف پای حیوان به صورت زیرجلدی تزریق و سپس حیوان در دستگاه قرار داده شده و به مدت یک ساعت از آینه، 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 تا یک دهم ثانیه در فواصل زمانی ۵ دقیقه ای به مدت یک ساعت محاسبه شد (۳۵ و ۳۶).

داده ها به صورت  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  بیان شده و برای تجزیه و تحلیل داده ها از روش آماری آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و به دنبال آن از تست های مقایسه چند گانه (تعقیبی) توکی برای مقایسه وجود اختلاف بین گروه ها و تی زوجی برای مقایسه زمان های مختلف در داخل هر گروه استفاده شد. مقدار  $p < 0.05$  به عنوان سطح معنی دار بودن در نظر گرفته شد.

## نتایج

تزریق کف پای فرمالین در حیوانات نرمال



نمودار ۱- اثر کلستاز بر پاسخ درد فرمالینی (مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده) در موش سوری.  $p < 0.05$ \* در مقایسه با سایر پنج دقیقه ها در داخل گروه ها.  $p < 0.05$ \* در مقایسه با رفتار مرحله اول سایر گروه ها. اختلاف معنی دار بین دو گروه نرمال و شَم در مرحله اول و دوم درد وجود ندارد.

بررسی واکنش‌های درد در موش‌های سوری از غلظت ۵ درصد فرمالین با حجم ۲۰ میکرولیتر استفاده شده است و همانطور که گفته شد استفاده از غلظت‌های مختلف فرمالین در کف پای موش‌های سوری درد ایجاد می‌کند (۳۵). از طرف دیگر واکنش‌های درد با اندازه‌گیری 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 (۲۳، ۲۵ و ۳۵). 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 (۱). در نتیجه، دو مرحله ای بودن درد فرمالینی در مطالعه حاضر، هیچگونه تضادی با گزارش‌های قبلی ندارد و به طور کامل آشکار می‌کند که فرمالین درد دو مرحله‌ای ایجاد می‌کند.

مرحله اول ناشی از فرمالین یک درد نوروزنیک بوده و با تحریک مستقیم گیرنده‌های درد

واکنش‌های رفتاری آن استاندارد و به تست فرمالینی معروف شده است (۳۵). در این تست 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 احشایی تزریق می‌شود (۲۳، ۲۸، ۲۹). متعاقب تزریق فرمالین پاسخ‌های 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 ۵-۱۰ دقیقه (تحت عنوان درد حاد یا نوروزنیک) و مرحله دوم آن از ۱۵-۲۰ دقیقه پس از تزریق به مدت ۳۰-۴۰ دقیقه بصورت افزایش در رفتار (تحت عنوان درد مزمن یا التهابی) مشخص می‌شود. بین دو مرحله مذکور یک فاصله زمانی ۱۵-۵ دقیقه ای به صورت کاهش واکنش‌های درد وجود دارد (۲۳، ۳۵). در مطالعه حاضر نیز برای ایجاد درد و

افزایش می‌یابد (۳۱، ۳۰، ۳۳، ۳۴). بر این اساس در حیوانات مبتلا به کلستاز تجربی افزایش آستانه درد گزارش شده است (۱۳، ۷، ۲۷). بنابراین ممکن است اویپوئیدهای اندوژن دارای نقش پاتوفیزیولوژیکی در کلستاز کبدی باشند. همچنین مشخص شده است که تغییرات ایجاد شده در نمونه های مبتلا به کلستاز مانند اثر ضددردی بعد از استفاده آنتاگونیست های گیرنده های اویپوئیدی قابل برگشت است (۱۴ و ۱۹).

مشخص شده است که در بیماری های کبدی مانند سیروز و کارسینوما پاسخ مبتلایان نسبت به درد تغییر می‌کند و با کاربرد نالوکسان به عنوان آنتاگونیست گیرنده های اویپوئیدی در این بیماران، خارش کاهش می‌یابد و نالوکسان با تحت تاثیر قرار دادن نوعی گیرنده های اویپوئیدی که اخیراً OP4 نامیده می‌شود، اثر می‌کند. مشخص شده است که در بیماری ویلسون و بیماران مبتلا به درد مزمن و سیروز صفراوی اولیه، میانگین پلاسمایی نوسیسپتین افزایش می‌یابد (۱۱) و به دنبال تومور کبدی بیان گیرنده های نوسیسپتین افزایش می‌یابد. همچنین در این بیماران نوسیسپتین با پپتیدهای اویپوئیدی از جمله داینورفین A ارتباط ساختاری دارد. نوسیسپتین یک آگونیست اندوژن متصل به پروتئین G برای گیرنده های OP4 می‌باشد. اخیراً این سیستم به عنوان مسیر پیام رسانی پپتیدی تنظیم کننده درد و ادراک مطرح شده است. بنابراین آنتاگونیست های اویپوئیدی به وفور برای درمان خارش در بیماران مبتلا به سیروز صفراوی اولیه استفاده می‌شوند (۱۷).

در مدل های حیوانی مختلفی، اثرات ضددردی کلستاز را گزارش کرده اند. به طوری که Hasanein و همکاران (۲۰۰۸ و ۲۰۰۹) در دو مطالعه روی موش های صحرائی در مدل درد تلنگر دم (tail-flick) گزارش کردند که متعاقب بستن مجرای صفراوی در هفتمین روز بعد از عمل، پاسخ حیوانات نسبت به درد کاهش می‌یابد. آنها علت این امر را تداخل بین سیستم اویپوئیدی و کانابینوئیدی ذکر کردند (۱۲ و ۱۳).

نوسیسپتورها) ایجاد می‌شود و در این مرحله هیچ نوع واسطه شیمیایی شرکت نمی‌کند (۲۵ و ۳۵). مرحله دوم درد فرمالینی یک درد التهابی است و با دخالت انواع واسطه های التهابی مثل پروستاگلاندین ها، برادی کینین ها، هیستامین و آنزیم ها ایجاد می‌شود (۲۵ و ۳۵). با توجه به اینکه در مطالعه حاضر کلستاز پاسخ درد مرحله اول را بطور معنی داری کاهش داد، چنین می‌توان پیشنهاد کرد که کلستاز احتمالاً با افزایش اویپوئیدهای اندوژن اثر ضددرد مستقیم دارد و هیچگونه تاثیری بر آزاد شدن واسطه های التهابی نمی‌گذارد.

در این مطالعه رفتار درد در حیوانات کلستاتیک در روز ۷ بعد از عمل جراحی مورد بررسی قرار گرفت. علت انتخاب این زمان دو گزارش قبلی نلسون و همکاران (۲۰۰۶) و رستگار و همکاران (۲۰۰۲) می‌باشد که آنها گزارش کردند بیشترین اثر ضددردی در موش های صحرائی کلستاتیک، ۷ روز بعد از عمل ایجاد می‌شود (۲۲، ۱۵، ۱۴ و ۲۷).

مشخص شده است که بیماری کلستاز کبدی با افزایش فعالیت سیستم اویپوئیدی اندوژن باعث اثر ضددردی می‌شود (۱۵، ۱۳، ۵، ۲۱ و ۲۱). افزایش سطح اویپوئیدهای اندوژن متعاقب کلستاز در بیماران مبتلا به سندرم شبه ترک (with drawal-like) و حیواناتی که به صورت تجربی مجرای صفراوی آنها مسدود شده، قابل مشاهده است (۱۵، ۱۳، ۷، ۳۳). همچنین مشخص شده است که به دنبال انسداد مجرای صفراوی در موش های صحرائی تعداد گیرنده های مو ( $\mu$ ) اویپوئیدی دچار تنظیم کاهنده می‌شوند (۱۳، ۳، ۲، ۱۵). چندین سیستم واسطه شیمیایی (نوروترنسمیتری) در تنظیم اثر ضددردی ناشی از کلستاز دخالت می‌کنند (۷، ۱۳، ۱۴ و ۲۷). یکی از مهمترین سیستم های نوروترنسمیتری که باعث کاهش حساسیت مغز نسبت به تحریکات درد می‌گردد، سیستم اویپوئیدی می‌باشد (۱۳). مشخص شده است که در بیماری های حاد کبدی به دلیل افزایش سطح پپتیدهای اویپوئیدی، شدت (تون) اویپوئید

نالوکسان در حیوانات کلستاتیک مربوط به خارج از CNS بوده و احتمالاً افزایش بیان مت-انکفالین پستی در موش های سوری کلستاتیک علت این امر می باشد. در نتیجه اثر کاهش درد و افزایش سطح اویپوئیدهای اندوژن (مانند مت-انکفالین) به دلیل اثرات موضعی مت-انکفالین در پایانه های اعصاب حسی بوده و این امر ممکن است در درمان خارش ناشی از کلستاز مفید باشد (۲۲).

در مورد مکانیسم های اثر ضددردی متعاقب کلستاز تجربی در حیوانات گزارش های مختلفی وجود دارد. به طوریکه Hasanein و همکاران (۲۰۰۷ و ۲۰۰۸) در چهار تحقیق مجزا در مدل درد تلنجر دمی نقش آنتاگونیست های گیرنده NMDA (MK-801 و سولفات منیزیوم) (۱۴)، مهار کننده اسید چرب آمید هیدرولاز URB597 (fatty acid amid hydrolase) (۱۵)، مهارکننده باز جذب کانابینوئیدهای اندوژن (UCM707) (۱۳) و مهار کننده های حامل کانابینوئیدهای اندوژن (AM404) (۱۲) را ذکر کردند، با این توضیح که در هر چهار تحقیق امکان تداخل سیستم اویپوئیدی و کانابینوئیدی برجسته تر بود و احتمالاً سیستم کانابینوئیدی باعث افزایش شدت اویپوئیدهای اندوژن می شود. Rastegar و همکاران (۲۰۰۲) با مطالعه تاثیر آگونیست ها و آنتاگونیست های گیرنده های کوله سیستوکینین در مدل درد تلنجر دمی در موش های صحرائی کلستاتیک ۷ روزه گزارش کردند که احتمالاً علاوه بر اویپوئیدهای اندوژن سیستم کوله سیستوکینین نیز می تواند در اثر ضددردی متعاقب کلستاز حاد نقش داشته باشد و این اثر مشابه حیواناتی است که مرفین دریافت کرده اند (۲۷).

در انسان نیز مطالعاتی در این زمینه صورت گرفته است. Terg و همکاران (۲۰۰۲) در یک مطالعه دو سوبه کور کنترل شده با بررسی تجویز خوراکی نالتروکسان روی خارش متعاقب کلستاز نشان دادند که در بیست بیمار مبتلا به خارش با تجویز نالتروکسان با

Bergasa و همکاران (۱۹۹۴) با بررسی تاثیر نالوکسان بر مدل درد تلنجر دمی در موش های صحرائی متعاقب ایجاد کلستاز تجربی نشان دادند که پاسخ درد در گروه های نرمال و شم نسبت به پاسخ پایه تفاوت معنی دار نمی کند، اما در موش هایی که عمل کلستاز روی آنها انجام شده بود بعد از ۵ تا ۷ روز از عمل، درد نسبت به قبل از جراحی به صورت معنی دار کاهش می یابد. آنها همچنین با استفاده نالوکسان گزارش کردند که این دارو قادر است با تحت تاثیر قرار دادن گیرنده های اویپوئیدی باعث برگشت اثر ضددردی ناشی از کلستاز شود. آنها همچنین با ایجاد نکروز سلولی کبدی با استفاده از تیواستامید نشان دادند که با وجود کاهش درد در این حیوانات در مدل درد تلنجر دمی، نالوکسان قادر به برگشت اثر آسیب کبدی روی پاسخ درد در این حیوانات نمی باشد. بنابراین با این نتایج، آنها این فرضیه را مطرح کردند که اثر ضددردی متعاقب کلستاز در ارتباط با افزایش شدت سیستم اویپوئیدی می باشد (۲). Ghafourifar و همکاران (۱۹۹۷) با بررسی تاثیر LNA (L-nitro arginin) یک مهار کننده سنتز نیتریک اکساید روی نشانه های ترک ناشی از نالوکسان در موش های مبتلا به کلستاز نشان دادند که این ماده قادر است علائم ترک، مانند افزایش اثر ضددردی را کاهش دهد. با این نتایج، آنها پیشنهاد کردند که مسیر L-آرژنین-نیتریک اکساید می تواند در ظهور وابستگی نسبت به سیستم اویپوئیدی در حیوانات کلستاتیک نقش داشته باشد (۱۰). Nelson و همکاران (۲۰۰۶) در موش های سوری کلستاتیک در دو مدل درد ناشی از گرما و تحریکات مکانیکی نشان دادند که در هر دو مدل درد نسبت به دو گروه شم، حیوانات کلستاتیک پاسخ درد کمتری نشان می دهند. این پاسخ با تجویز آنتاگونیست گیرنده اویپوئیدی (نالوکسان) قابل برگشت می باشد. با توجه به اینکه نالوکسان و مشتقات مشابه آن از سد خونی- مغزی عبور نمی کنند، آنها گزارش کردند این اثر برگشت پذیر درد توسط

دوم، به دلیل عدم تاثیر کلستاز روی آزاد شدن واسطه‌های التهابی از سلول‌ها می باشد. ولی بررسی نقش دقیق عمل کلستاز بر درد و التهاب در انسان و مدل‌های دیگر حیوانی، نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله از طرح تحقیقاتی که با بودجه پژوهشی و حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به انجام رسیده است، استخراج شده است.

### منابع

- ۱- تمدن‌فرد، ا. و مجتهدین، ع. (۱۳۸۳): اثر تزریق داخل صفاقی سایمتیدین بر پاسخ درد ناشی از فرمالین در موش های سوری. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۹، شماره ۴، صفحات ۳۷۸-۳۷۳.
- 2- Bergasa, N.V., Alling, D.W., Vergalla, J. and Jones, E.A. (1994): Cholestasis in the male rat is associated with naloxone-reversible antinociception. *J. Hepatol.* 20(1): 85-90.
- 3- Bergasa, N.V., Rothman, R.B., Vergalla, J., Xu H., Swain, M.G. and Jones, E.A. (1992): Central Mu-opioid receptors are down-regulated in a rat model of cholestasis. *J. Hepatol.* 15: 220-224.
- 4- Dehpour, A.R., Akbarloo, N. and Ghafourifar, P. (1998): Endogenous nitric oxide modulated naloxane-precipitated withdrawal signs in a mouse model with acute cholestasis. *Behav. Pharmacol.* 9: 77-80.
- 5- Dehpour, A.R., Mani, A.R. and Amanlou, M. (1999): Naloxone is protective against indomethacin-induced gastric damage in cholestatic rats. *J. Gastroenterol.* 34: 178-181.
- 6- Dehpour, A.R., Rastegar, S. and Jorjani, M. (2000): Subsensitivity to opioids is receptor specific in isolated guinea pig lieum and

میزان ۵۰ mg/day به مدت دو هفته، خارش نسبت به حالت قبل از دریافت نالتروکسان بیش از ۵۰ درصد کاهش می یابد که این کاهش نسبت به گروه کنترل (پلاسبو) معنی‌دار می باشد. همچنین در پنج بیمار خارش به طور کامل از بین می رود. تغییر معنی‌دار خاصی در این مدت بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم مشاهده نمی‌شود. فقط در تعدادی از بیماران ۴۸ ساعت بعد از شروع تجویز نالتروکسان علائم شبه ترک اعتیاد مشاهده می گردد که بعد از ۲ روز ناپدید می شود. آنها نتیجه گیری کردند که نالتروکسان برای درمان خارش ناشی از کلستاز می تواند مفید باشد، بدون اینکه اثر جانبی خاصی روی بیماران داشته باشد (۳۲). McRaea و همکاران (۲۰۰۳) در مطالعه مشابهی تاثیر مفید درمانی نالتروکسان را روی نشانه های کلستاز از جمله خارش گزارش کرده و آنها پیشنهاد کردند که استفاده از آنتاگونیست‌های اوپیوئیدی می تواند یک راه متداول درمانی برای از بین بردن نشانه های کلستاز باشد، اما از نظر سلامتی و اثرات جانبی بایستی بیماران تحت کنترل قرار بگیرند (۲۰). Owczarek و همکاران (۲۰۰۳) با بررسی تغییرات غلظت پلاسمایی اوپیوئیدهای اندوژن در بیماران مبتلا به سیروز اولیه صفراوی، کلستاز و آسیب‌های کبدی مزمن نشان دادند که متعاقب این آسیب‌ها سه تغییر عمده در این بیماران ایجاد می شود:

- ۱- غلظت اوپیوئیدهای اندوژن از جمله مت-انکفالین پلاسما افزایش می یابد. ۲- در این بیماران به دلیل افزایش مت-انکفالین خارش یک نشانه مهم است. ۳- در این بیماران با وجود افزایش غلظت مت-انکفالین در پلاسما این ماده در بافت کبد کاهش می‌یابد (۲۴).

همانطور که نتایج این تحقیق و مطالعات فوق نشان می دهد، برای کلستاز می توان اثر ضد دردی (نه ضدالتهابی) پیشنهاد نمود و نتایج این مطالعه نیز با نتایج محققین مختلف در مدل درد حاد همخوانی دارد. احتمالاً اثر ضد دردی در مرحله اول به دلیل افزایش اوپیوئیدهای داخلی و عدم کاهش پاسخ درد در مرحله

- inhibitor of fatty acid amide hydrolase on modulation of nociception in a rat model of cholestasis. *Eur J Pharmacol.* 591(1-3):132-5.
- 16- Homayoun, H., Sayyah, M. and Dehpour, A.R. (2002): The additive effect of opioids and nitric oxide in increasing pentylentetrazole-induced seizure threshold in cholestatic mice. *Journal of Gastroenterology and Hepatology.* 17: 96-101.
- 17- Horvath, A., Folhoffer, A., Lakatos, P.L., Halosz, J., Illyes G., Schaff Z., Hantos M.B., Tekes K. and Szalay F. (2004): Rising plasma nociceptin level during development of HCC: a case report. *World J. Gastroenterol.* 10(1):152-4.
- 18- Katzung, B.G. (2004): *Basic and Clinical Pharmacology*, ninth edition, M.C. Graw Hill, USA, pp: 497-500 and 576-578.
- 19- Kremer, A.E., Beuers, U., Oude-Elferink, R.P. and Pusch, T. (2008): Pathogenesis and treatment of pruritus in cholestasis. *Drugs.* 68(15): 2163-82.
- 20- McRae, C.A., Prince, M.I., Hudson, M., Day, C.P., James, O.F. and Jones, D.E. (2003): Pain as a complication of use of opiate antagonists for symptom control in cholestasis. *Gastroenterology.* 125(2): 591-6.
- 21- Namiranian, K., Samini, M., Mehr, S.E. (2001): Mesenteric vascular bed responsiveness in bile duct-ligated rats: roles of opioid and nitric oxide systems. *Eur. J. Pharmacol.* 423: 185-193.
- 22- Nelson, L., Vergnolle, N., D'Mello, C., Chapman, K., Le T. and Swain, M.G. (2006): Endogenous opioid-mediated antinociception in cholestatic mice is peripherally, not centrally mediated. *J. Hepatol.* 44(6): 1141-9.
- 23- Ness, T.J. (1999): Models of visceral nociception. *ILAR J.* 40(3): 119-128.
- 24- Owczarek, D., Garlicka, M., Pierzchała-Koziec, K., Skulina, D. and Szulewski, P. (2003): Met-enkephalin plasma concentration and content in liver tissue in patients with primary biliary cirrhosis. *Przegl. Lek.* 60(7): 461-6.
- mouse vas deferens after obstructive cholestasis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 293: 945-951.
- 7- Dehpour, A.R., Sadeghipour, H.R. and Nowroozi, A. (2000): The effect of the serotonergic system on opioid withdrawal-like syndrome in a mouse model of cholestasis. *Hum. Psychopharmacol.* 15: 423-428.
- 8- Delroy, T. (2004): Chronic pain. Available at: <http://www.painworld.zip.com.au/>.
- 9- Diaz, A. and Dickenson, A.H. (1997): 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* 69(1-2): 93-100.
- 10- Ghafourifar, P., Dehpour, A.R. and Akbarloo, N. (1997): Inhibition by L-NA, a nitric oxide synthase inhibitor, of naloxone-precipitated withdrawal signs in a mouse model of cholestasis. *Life Sci.* 60(19):PL 265-70.
- 11- Hantos, M.B., Szalay, F., Lakatos, P.L., Hegedus, D., Firneisz, G., Reiczigel, J., Torok, T. and Tekes, K. (2002): Elevated plasma nociceptin level in patients with Wilson disease. *Brain Res. Bull.* 58: 311-313.
- 12- Hasanein, P. (2009): The endocannabinoid transport inhibitor AM404 modulates nociception in cholestasis. *Neurosci. Lett.* 462(3):230-4.
- 13- Hasanein, P. and Javanmardi, K. (2008): A potent and selective inhibitor of endocannabinoid uptake, UCM707, potentiates antinociception induced by cholestasis. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 22(5): 517-22.
- 14- Hasanein, P., Parviz, M., Keshavarz, M., Javanmardi, K., Allahtavakoli, M. and Ghaseminejad, M. (2007): Modulation of cholestasis-induced antinociception in rats by two NMDA receptor antagonists: MK-801 and magnesium sulfate. *European Journal of Pharmacology.* 554: 123-127.
- 15- Hasanein, P., Shahidi, S., Komaki, A. and Mirazi, N. (2008): Effects of URB597 as an



- 25- Porro, C.A. and Cavazzuti, M. (1993): Spatial and temporal aspects of spinal cord and brainstem activation in the formalin pain model. *Prog. Neurobiol.* 41(5): 565-607.
- 26- Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M. and Moore, P.K. (2003): *Pharmacology*. Fifth Edition, Churchill Livingstone, USA, pp: 562-570.
- 27- Rastegar, H., Homayoun, H., Afifi, M., Rezayat, M. and Dehpour, A.R. (2002): Modulation of cholestasis-induced antinociception by CCK receptor agonists and antagonists. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 12(2): 111-8.
- 28- Ren, K. and Dubner, R. (1999): Inflammatory models of pain and hyperalgesia. *ILAR J.* 40(3): 111-118.
- 29- Shutov, L., Kruglikov, I., Gryshchenko, O., Khomula, E., Viatchenko-Karpinski, V., Belan, P. and Voitenko, N. (2006): The effect of nimodipine on calcium homeostasis and pain sensitivity in diabetic rats. *Cell Mol. Neurobiol.* 26(7-8): 1541-1557.
- 30- Swain, M.G., MacArthur, L. and Vergalla, J. (1994): Adrenal secretion of BAM-22P, a potent opioid peptide, is enhanced in rats with acute cholestasis. *Am. J. Physiol.* 266: G201-G205.
- 31- Swain, M.G., Rothman, R.B. and Xu, H. (1992): Endogenous opioids accumulate in plasma in a rat model of acute cholestasis. *Gastroenterology.* 103: 630-635.
- 32- Terg, R., Coronel, E., Sordá, J., Muñoz, A.E. and Findor, J. (2002): Efficacy and safety of oral naltrexone treatment for pruritus of cholestasis, a crossover, double blind, placebo-controlled study. *J. Hepatol.* 37(6): 717-22.
- 33- Thornton, J.R. and Losowsky, M.S. (1988): Opioid peptides and primary biliary cirrhosis. *B.M.J.* 297: 1501-1504.
- 34- Thornton, J.R. and Losowsky, M.S. (1989): Methionine enkephalin is increased in plasma in acute liver disease and is present in bile and urine. *J. Hepatol.* 8: 53-59.
- 35- Tjolsen, A., Berge, O.G., Hunskaar, S., Rosland, J.H. and Hole, K. (1992): The formalin test: an evaluation of the method. *Pain.* 51(1): 5-17.

