

## نقش مهار کالمودولین در بی دردی حاصل از تزریق داخل نخاعی تری فلورپرازین

دکتر سعید گل‌بیدی\*، دکتر تقی قفقازی\*\*، دکتر ولی‌الله حاج‌هاشمی\*، دکتر هیروشی موریوچی\*<sup>✦</sup>

### چکیده:

گزارشاتی مبنی بر اثر ضد درد داروهای ضد جنون وجود دارد ولی مکانیسم آن کاملاً شناخته شده نیست. از سوی دیگر مقالاتی نیز در مورد اثر ضد درد مهارکننده‌های کالمودولین در سالهای اخیر انتشار یافته است. در بین داروهای ضد جنون تری فلورپرازین یکی از قوی‌ترین مهارکننده‌های کالمودولین می‌باشد. در این تحقیق بررسی اثر ضد درد تری فلورپرازین مد نظر قرار گرفته و از آنجائی که این دارو اثرات آنتی‌دوپامینرژیک، آنتی‌کلینرژیک، آنتی‌ادرنرژیک و آنتی‌هیستامینیک نیز دارد سعی شده رابطه اثر ضد درد با تأثیر این دارو بر گیرنده‌های فوق نیز مورد مطالعه قرار گیرد. بدین منظور بعد از کاتتریزاسیون فضای ساب آراکتوئید موش صحرایی داروهای مختلف به صورت داخل نخاعی تزریق و بعد از ۱۵ دقیقه، حیوانات با تست فرمالین مورد ارزیابی قرار گرفتند. ضمناً با توجه به اینکه اندازه‌گیری شدت درد در تست فرمالین وابسته به فعالیتهای حرکتی است، جهت تشخیص عوارض حرکتی داروهای مورد استفاده از تست رونارود استفاده گردید. نتایج حاصل را می‌توان به شرح زیر خلاصه نمود: دوزهای پایین تری فلورپرازین (۱، ۱۰  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) اثر ضد درد نشان داد و دوز (۱۰۰  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) بالا منجر به هیپرالژی (hyperalgesia) شد. هیچگونه اثر ضد دردی بعد از تزریق داخل نخاعی سولپیراید، آتروپین، فنتول‌آمین و برموفنیرامین مشاهده نشد. کالمیدازولیموم به عنوان آنتاگونیست کالمودولین به صورت وابسته به دوز (۲۵۰، ۵۰، ۱۰  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) دارای آثار ضد درد بود. در تزریق همزمان تری فلورپرازین با فیزوستیگمین، هیستامین، بروموکریپتین و نوراپی نفرین تغییر در اثر ضد درد مشاهده نگردید. کلسیم اثر ضد درد کالمیدازولیموم را مهار و اثر ضد درد تری فلورپرازین را کاهش داد. نالوکسان به صورت نسبی باعث کاهش اثر ضد درد تری فلورپرازین گردید در صورتی که بر اثر ضد درد کالمیدازولیموم تأثیر قابل توجه نداشت. با توجه به آزمایشات فوق می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً اثر ضد درد دوزهای پایین تری فلورپرازین نخاعی ناشی از مهار کالمودولین بوده است. با افزایش دوز، آثار دیگر تری فلورپرازین تفوق یافته که منجر به هیپرالژی شده است. همچنین می‌توان نتیجه گرفت سیستم اپیوئیدی اگر چه در اثر ضد درد تری فلورپرازین نقش دارد ولی اثر ضد درد مهار کالمودولین جدای از این سیستم می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: مهارکننده‌های کالمودولین، فضای ساب آراکتوئید، تری فلورپرازین، ضد درد.

\* متخصص اطفال - رزیدنت فارماکولوژی - گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان:

اصفهان - خیابان مرداویج - خیابان استقلال جنوبی - نبش خیابان سوم - پلاک ۷، تلفن: ۶۶۸۵۹۵-۳۱۱ (مؤلف مسئول).

\*\* فارماکولوژیست - استاد گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی و علوم دارویی - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

<sup>✦</sup> فارماکولوژیست - استادیار گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی و علوم دارویی - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

<sup>✦</sup> فارماکولوژیست - استادیار گروه شیمی بالینی و انفورماتیک - دانشگاه کوماموتو - ژاپن.

## مقدمه:

گزارشاتی مبنی بر اثر ضد درد داروهای ضد جنون و از جمله فنوتیازین‌ها وجود دارد، ولی مکانیسمهای دخیل چندان شناخته شده نیست و اغلب گزارشات بر پایه مطالعات کلینیکی و مشاهدات بالینی استوار است (۲۰،۱). لذا انجام مطالعه‌ای در جهت بررسی مکانیسم این آثار ضروری به نظر می‌رسید. چنین مطالعه‌ای می‌تواند به طرح داروهای جدیدتر برای کنترل درد کمک شایانی بنماید.

داروهای ضد جنون فنوتیازینی با گیرنده‌های مختلفی از جمله گیرنده‌های دوپامینی، کلینژیک، آدرنژیک و هیستامینی واکنش نشان می‌دهند (۲). به علاوه بعضی از مشتقات فنوتیازینی عمل کالمودولین را مهار می‌کنند (۲۸،۲۴،۴). کالمودولین پروتئینی است که به عنوان واسطه داخل سلولی کلسیم عمل می‌نماید. در بین فنوتیازینها تری‌فلوپرازین یکی از قوی‌ترین مهار کننده‌های کالمودولین است (۲۴،۴). با توجه به این آثار مختلف تری‌فلوپرازین بر آن شدیم تا نقش هر کدام را در اثر ضد درد این دارو مشخص نمائیم. لذا با استفاده از تست فرمالین به عنوان مدل درد، اثر ضد درد تری‌فلوپرازین با اثر ضد درد سولپیراید (به عنوان یک D<sub>2</sub> بلوکر اختصاصی)، آتروپین (به عنوان یک آنتی‌کلینژیک)، فنتول آمین (به عنوان یک مهار کننده گیرنده  $\alpha$  برموفنیرآمین) (به عنوان مهار کننده H<sub>1</sub> هیستامین) و کالمیدازولیوم (مهار کننده اختصاصی کالمودولین) مقایسه شد. لازم به ذکر است انتخاب هر کدام از داروهای فوق از بین گروه مربوطه به گونه‌ای انجام شد که به غیر از تری‌فلوپرازین و کالمیدازولیوم بقیه داروها با کالمودولین واکنش نمی‌دهند (۲۱،۸).

در آخر با توجه به اینکه گزارشاتی مبنی بر دخالت سیستم اپیویدی در اثر ضد درد داروهای ضد جنون وجود دارد (۲۶،۹). نقش این سیستم را در اثر ضد درد مهار کننده‌های کالمودولین مورد بررسی قرار دادیم.

## مواد و روشها:

در این مطالعه از راتهای نر از نژاد ویستار با وزن ۳۰۰ تا ۴۰۰ گرم از کمپانی (Inoue Co, LTD, Kumamoto, Japan) استفاده گردید. حیوانات به صورت تصادفی به گروههای آزمایش و کنترل تقسیم شده و در طول مدت مطالعه دسترسی آزاد به آب و غذا داشته‌اند. هر حیوان تنها یکبار مورد آزمایش قرار گرفته و در پایان به وسیله مقادیر بالای اتر کشته شده است.

## داروها:

کالمیدازولیوم در محلول ۱۰٪ دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) حل گردید. سولپیراید و بروموکریپتین در چند میلی لیتر اسید استیک حل و سپس با آب مقطر رقیق شد. pH محلول با اضافه کردن NaOH در حد ۶/۷ تنظیم گردید. آتروپین، تری‌فلوپرازین، نالوکسان، هیستامین، فیزوستیگمین، فنتول آمین و برموفنیرآمین در آب مقطر حل شدند. تمام مواد شیمیایی در این تحقیق از کمپانی سیگما (Sigma; St. Louis, Mo, USA) تهیه شده است. غلظتهای مختلف داروهای مورد استفاده به صورتی تهیه گردید که حجم تزریق از ۱۰ میکرولیتر تجاوز ننماید.

## تزریق داخل نخاعی:

جهت تزریق داخل نخاعی از روش کاتتریزاسیون مزمن فضای ساب آراکنوئید که توسط Yaksh و همکاران در سال ۱۹۷۶ توضیح داده شده، استفاده گردید (۲۹). در این روش حیوانات با استفاده از کتامین (۱۰۰ mg/kg) بیهوش و بر روی دستگاه استروتاکس (Stereotax) قرار داده شدند. یک برش در ناحیه سر حیوان از خط بین گوشها تا ۲ cm به سمت دم ایجاد و پس از کنار زدن عضلات گردن غشاء آنالاتو - اکسیپیتال نمایان گردید. با ایجاد یک منفذ کوچک در این پرده کاترپلی اتیلن شماره ۱۰ به طول تقریبی ۸ cm در فضای ساب آراکنوئید قرار داده شد. قسمت خارجی

درصد تست روتارود برای هر دوز دارو و کنترل مربوطه محاسبه گردید.

$100 \times \frac{\text{زمان آزمایش}}{\text{زمان پایه}} = \text{درصد تست روتارود}$

در صورتی که زمان آزمایش برابر زمان پایه و یا به حد ۵ دقیقه می‌رسید آزمایش قطع و درصد تست روتارود برابر ۱۰۰ درصد در نظر گرفته می‌شد.

#### آنالیز آماری:

برای بررسی یکنواختی واریانس در هر گروه از آزمون بارتلت (Bartlett) استفاده شد و با توجه به عدم یکنواختی در بعضی از گروهها از آزمون شف (sheffe's test) برای مقایسه هر دوز دارو و کنترل مربوطه استفاده شد. معیار اختلاف معنی‌دار در تمام آزمایشات  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

#### نتایج:

اثر تزریق داخل نخاعی داروها بر تست فرمالین:

تزریق زیر جلدی ۵۰ میکرولیتر از فرمالین ۲/۵ درصد در زیر پوست پای راست حیوان باعث ایجاد یک پاسخ درد به صورت لیسیدن و گاز گرفتن پای مورد نظر گردید. این پاسخ به مدت پنج دقیقه (فاز I) ادامه داشت سپس به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه کاهش نسبی داشته و مجدداً پس از ۱۵ دقیقه افزایش یافت (فاز II). افزایش مجدد پاسخ به درد تا پایان مدت آزمایش (۳۰ دقیقه) ادامه یافت.

تزریق داخل نخاعی دوزهای مختلف تری‌فلوپرازین ( $100, 10, 1 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) تا ۱۵ دقیقه قبل از تزریق فرمالین ایجاد یک پاسخ دوگانه نمود. بدین ترتیب که دوزهای پایین‌تر ( $10, 1 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) ایجاد بی‌دردی و دوز بالا ( $100 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) تولید هیپرالژزی نمود. دوز پایین و متوسط آتروپین ( $1, 0/1 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) اثر معنی‌داری نشان نداد. در حالی که دوز بالا ( $10 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) ایجاد هیپرالژزی

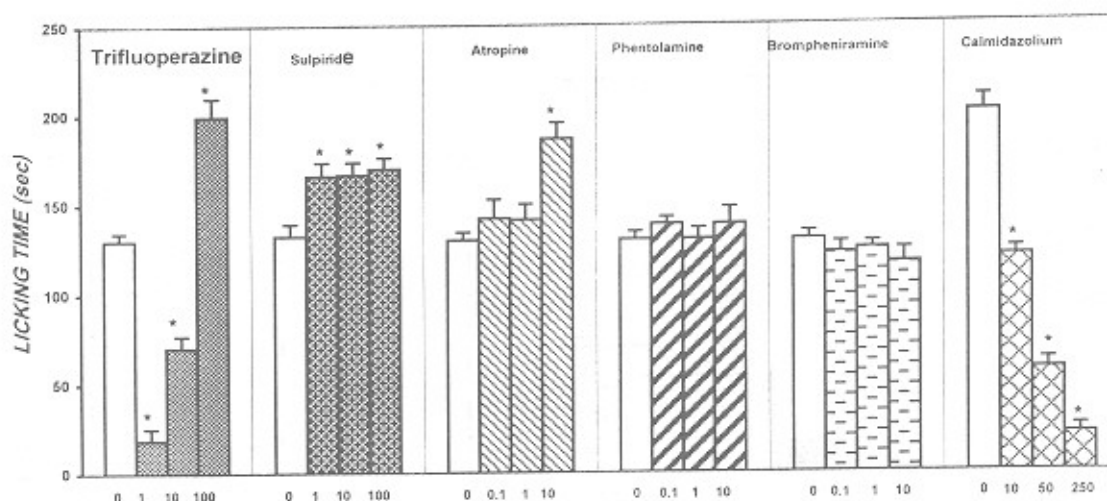
کاتر با استفاده از نخ بخیه و اکریل دندانپزشکی در جای خود ثابت گردید. حیوانات ۷ روز بعد از انجام جراحی مورد استفاده قرار گرفتند.

#### تست فرمالین:

در این تست حیوانات یک ساعت قبل از تزریق فرمالین در قفسهای شفاف استاندارد قرار گرفتند تا با محیط آشنائی پیدا کنند. یک آینه در پشت این قفسها طوری قرار داده شد تا مشاهده پاهای حیوان به آسانی امکان‌پذیر باشد. با استفاده از یک میکروسرنج و سوزن ۲۶، پنجاه میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد در کف پای راست به صورت زیرجلدی تزریق و حیوان بلافاصله به قفس بازگردانده، و مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریق شده در دو فاصله زمانی صفر تا پنج دقیقه و پانزده تا سی دقیقه اندازه‌گیری گردید.

#### آزمایش روتارود:

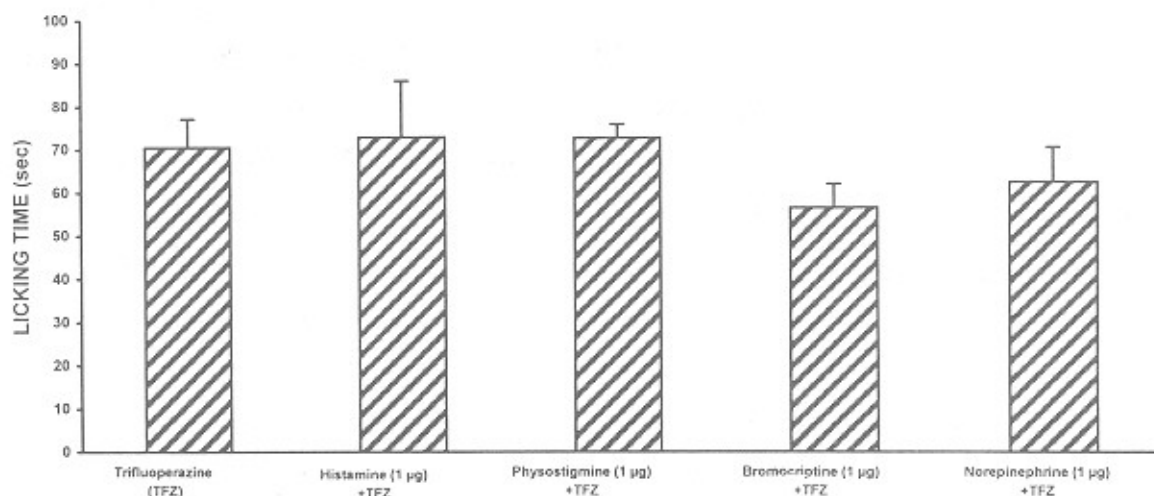
فعالتهای حرکتی حیوانات با استفاده از یک دستگاه روتارود (MK-650 Muromachi Kikai Co, LTD, Tokyo, Japan) بررسی شد. بدین ترتیب که حیوان بر روی یک استوانه (۷×۹ cm) که با سرعت ۱۰ دور در دقیقه در حال حرکت بود قرار می‌گرفت و مدت زمان حفظ تعادل اندازه‌گیری می‌شد. در صورت حفظ تعادل به مدت ۵ دقیقه آزمایش قطع و حیوان از لحاظ فعالتهای حرکتی سالم در نظر گرفته می‌شد. روز قبل از آزمایش تمام حیوانات با دستگاه آشنائی پیدا می‌کردند. در روز آزمایش جهت اندازه‌گیری زمان پایه حیوانات، چهار بار به فاصله ۱۰ تا ۱۵ دقیقه بر روی دستگاه قرار می‌گرفتند و معدل این زمانها به عنوان زمان پایه تعیین می‌گردید. ده تا پانزده دقیقه بعد از تزریق داخل نخاعی، جهت بررسی اثر دارو بر روی فعالتهای حرکتی، حیوان مجدداً روی دستگاه قرار می‌گرفت و زمان به دست آمده به عنوان زمان آزمایش ثبت می‌شد. نهایتاً با استفاده از فرمول زیر



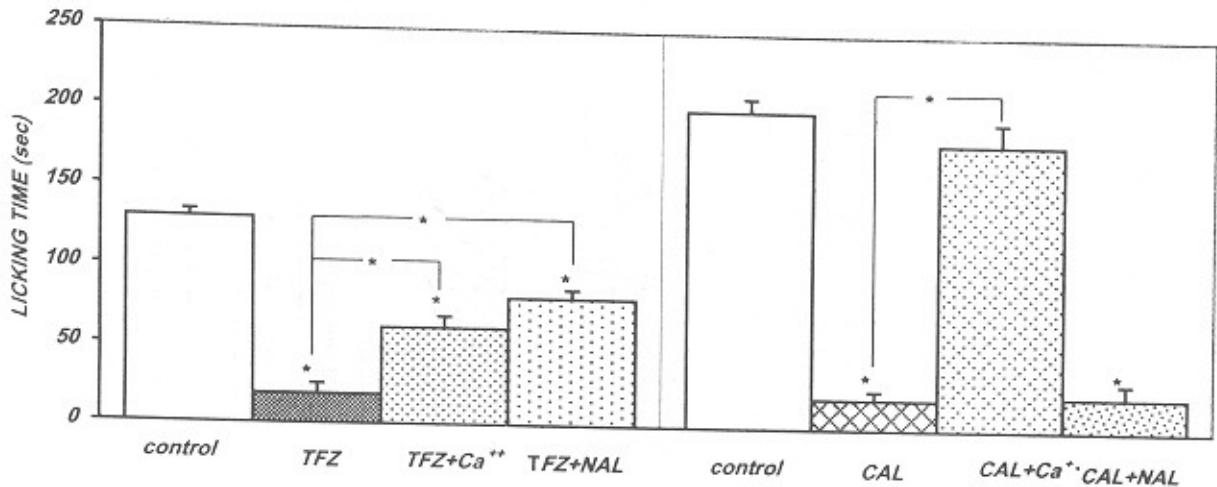
**نمودار شماره ۱:** اثر تزریق داخلی داروهای مختلف ( $\mu\text{g/rat}$ ) و کنترل مربوطه ( $10 \mu\text{g}$ )، ۱۵-۱۰ دقیقه قبل از انجام تست فرمالین. میانگین زمان گاز گرفتن و لیسیدن پا ( $\text{mean} \pm \text{s.e.m.}$ ) در فاصله زمانی ۱۵ تا ۳۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین (فاز II) برای هر گروه ( $n=5$ ) نشان داده شده است. مقایسه در هر گروه دارویی با کنترل مربوطه با استفاده از تست بارتلت و شف (Bartlett and Sheffe's test) صورت گرفت  $P < 0.05$ .

القاء یک اثر ضد درد وابسته به دوز نمود (نمودار شماره ۱). در به کارگیری همزمان تری‌فلوپرازین ( $10 \mu\text{g/rat}$ ) با هیستامین ( $1 \mu\text{g}$ )، فیزوستیگمین ( $1 \mu\text{g}$ )،

نمود. فتتول آمین ( $10 \mu\text{g/rat}$ )، ( $1 \mu\text{g}$ )، ( $0.1 \mu\text{g}$ ) و برموفنیرامین ( $10 \mu\text{g/rat}$ )، ( $1 \mu\text{g}$ )، ( $0.1 \mu\text{g}$ ) نشان دهنده اثر معنی داری در این آزمایش نبودند. کالمیدازولیم ( $10 \mu\text{g/rat}$ )، ( $50 \mu\text{g/rat}$ )، ( $250 \mu\text{g/rat}$ )



**نمودار شماره ۲:** اثر تزریق داخلی نخاعی تری‌فلوپرازین به تنهایی ( $10 \mu\text{g/rat}$ ) و تری‌فلوپرازین ( $10 \mu\text{g/rat}$ ) به اضافه مواد دیگر ( $10 \mu\text{g/rat}$ )، ۱۵ تا ۱۰ دقیقه قبل از انجام تست فرمالین. میانگین زمان گاز گرفتن و لیسیدن پا ( $\text{mean} \pm \text{s.e.m.}$ ) در فاصله زمانی ۱۵ تا ۳۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین (فاز II) برای هر گروه ( $n=5$ ) نشان داده شده است. مقایسه بین تری‌فلوپرازین تنها و دیگر گروهها با استفاده از تست بارتلت و شف (Bartlett and Sheffe's test) صورت گرفته  $P < 0.05$ .



**نمودار شماره ۳:** اثر تزریق داخلی نخاعی کلسیم (۲۰  $\mu\text{g}/\text{rat}$ , Ca) و نالوکسان (۲ mg/kg, NAL) داخلی صفاقی) بر بی‌دردی حاصل از تزریق داخلی نخاعی تری‌فلوپرازین (۱  $\mu\text{g}/\text{rat}$ , TFZ) و کالمیدازولیوم (۲۵۰  $\mu\text{g}/\text{rat}$ , CAL) میانگین زمان گاز گرفتن و لیسیدن با (mean  $\pm$  s.e.m.) در فاصله زمانی ۱۵ تا ۳۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین (فاز II). برای هر گروه (n=5) نشان داده شده است. در هر گروه با کنترل مربوطه با استفاده از تست بارتلت و شف صورت گرفت  $P < 0.05$ .

مواد هیچگونه اثر بارزی بر فعالیت‌های حرکتی حیوانات مورد آزمایش نداشتند.

### بحث:

تری‌فلوپرازین به عنوان یک داروی ضد جنون دارای آثار متعددی است که هر کدام از این آثار می‌تواند در ارتباط با اثر ضد درد این دارو باشد. در این مطالعه ما برای اولین بار نشان دادیم که تزریق داخلی نخاعی تری‌فلوپرازین باعث یک اثر دوگانه بر روی درد می‌باشد. به این معنی که دوزهای پایین دارو تولید بی‌دردی و دوزهای بالا ایجاد هیپرالژی می‌نموده و در مورد رابطه این اثر با آثار متفاوت تری‌فلوپرازین بحث نموده‌ایم.

با توجه به این که اندازه‌گیری شدت درد در تست فرمالین وابسته به واکنش‌های رفتاری حیوان می‌باشد و تظاهر این واکنشها نیز در رابطه با فعالیت‌های حرکتی است. لذا وجود اختلالات حرکتی در حین تست فرمالین می‌تواند اشتباهاً به عنوان اثر ضد درد تفسیر شود (۱۹).

بروموکریپتین (۱  $\mu\text{g}$ ) و نوراپی نفرین (۱  $\mu\text{g}$ ) تأثیر معنی‌داری بر روی بی‌دردی ناشی از تری‌فلوپرازین مشاهده نشد (نمودار شماره ۲). تزریق همزمان تری‌فلوپرازین و کلسیم باعث کاهش نسبی اثر ضد درد این دارو شد. همچنین کلسیم اثر ضد درد کالمیدازولیوم را مهار نمود. تزریق صفاقی (۲ mg/kg) نالوکسان نیم ساعت قبل از تزریق تری‌فلوپرازین باعث کاهش نسبی اثر ضد درد این دارو گردید در حالی که بر بی‌دردی ناشی از کالمیدازولیوم بی‌اثر بود (نمودار شماره ۳). از آنجایی که در تمام آزمایشات فوق نتایج مشابهی در فاز اول و دوم تست فرمالین مشاهده گردید، تنها نتایج فاز II در نمودارها نمایش داده شده است.

### آثار تزریق داخلی نخاعی داروها بر تست روتارود:

نتایج تزریق داخلی نخاعی داروهای مختلف بر تست روتارود در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود تزریق داخلی نخاعی این

جدول شماره ۱: اثر تزریق داخل نخاعی مواد مختلف بر تست روتارود.

دارو	دوز ( $\mu\text{g}/\text{rat}, \text{i.t.}$ )	درصد تست روتارود
Trifluoperazine	۱	۹۵/۷۵±۲/۴۵
TFZ	۱۰	۹۶/۳۵±۳/۶۵
TRZ	۱۰۰	۹۰/۷۵±۵/۸۵
Sulpiride (SUL)	۱	۹۱/۴۵±۸/۵۵
SUL	۱۰	۹۲/۳۵±۴/۵۸
SUL	۱۰۰	۹۵/۴۵±۳/۵۵
Atropine (ATR)	۰/۱	۱۰۰±۰
ATR	۱	۹۸/۲۰±۱/۸۰
ATR	۱۰	۹۲/۲۵±۴/۴۹
Phentolamine (PHN)	۰/۱	۹۴/۴۰±۳/۴۷
PHN	۱	۹۰/۷۵±۵/۳۷
PHN	۱۰	۹۶/۵۷±۳/۴۲
Brompheniramine (BRM)	۰/۱	۹۵/۷۲±۴/۲۷
BRM	۱	۱۰۰±۰
BRM	۱۰	۹۶/۲۰±۳/۸
Calmiidazolium (CAL)	۱۰	۹۸/۶۰±۱/۴
CAL	۵۰	۹۶/۱۰±۳/۹
CAL	۲۵۰	۹۶/۳۰±۳/۷
Histamine	۱	۹۳/۴۸±۴/۵۸
Physostigmine	۱	۹۴/۸۹±۷/۶۱
Bromocriptine	۱	۹۶/۱۲±۶/۳۲
Norepinephrine	۱	۹۵/۱۶±۳/۴۸
Water	-	۹۵/۸۲±۲/۵۰
SUL vehicle	-	۹۶/۴۷±۳/۵۲
DMSO	-	۹۶/۱۰±۳/۹

مقایسه هر دوز دارو با کنترل مربوطه با استفاده از تست بارتلت و شف (Bartlett and Sheffe's test) انجام شده است ( $P < 0/05$ ).

i.t. = intrathecal

-: مربوط به حلال‌ها یا پلاسیبو می‌باشد.

نشان دادند، غلظت مغزی داروهایی که از طریق کاتتریزاسیون مزمن فضای ساب آراکنوئید در نخاع کمتری تزریق می‌شوند، بسیار پایین خواهد بود (۲۹). مهارگیرنده‌های مغزی  $D_2$  دوپامین از مهم‌ترین و بارزترین آثار داروهای ضد جنون می‌باشد. گزارشات متعددی مبنی بر اثر بلوک‌گیرنده‌های  $D_2$  مغزی و نخاعی بر مسیرهای درد وجود دارد. اغلب محققین بر

در این آزمایش جهت تشخیص عوارض حرکتی داروهای مورد استفاده از تست روتارود استفاده گردید. علی‌رغم وجود گزارشاتی در مورد عوارض حرکتی داروهای ضد جنون هیچکدام از داروهای مورد استفاده در این تحقیق باعث اختلال در تست روتارود نشدند. علت این موضوع را می‌توان در رابطه با غلظت پایین این داروها در مغز دانست. همانطور که Yaksh و همکارانش در سال ۱۹۷۶

گزارشات متفاوتی در مورد نقش گیرنده‌های نخاعی و فوق نخاعی هیستامین در درد وجود دارد. اگر چه اکثر محققین نشان داده‌اند که تزریق داخل بطنی هیستامین منجر به بی‌دردی می‌گردد ولی نقش گیرنده‌های شناخته شده هیستامین هنوز به روشنی معلوم نیست (۲۷،۱۳،۶). به عنوان مثال تزریق داخل بطنی ۲-متیل هیستامین ( $H_1$  آگونیست) و میپرامین ( $H_1$  آنتاگونیست) هر دو القاء بی‌دردی نموده‌اند (۲۳،۱۷). همچنین حداقل یک گزارش در مورد اثر ضد درد تزریق داخل نخاعی بتاهستین ( $H_1$  آگونیست) وجود دارد (۵). از طرف دیگر موشهای جهش یافته که فاقد گیرنده‌های  $H_1$  هستند، پاسخ درد کمتری را در آزمایشات مختلف نشان داده‌اند که دلالت بر افزایش حساسیت به درد هنگام فعالیت گیرنده‌های  $H_1$  هیستامین می‌باشد (۲۲). در این آزمایش هیچ اثر ضد درد از تزریق داخل نخاعی برومفنیرامین مشاهده نشد، همچنین تزریق همزمان هیستامین و تری‌فلوپرازین اثری بر بی‌دردی ناشی از تری‌فلوپرازین نداشت. لذا می‌توان اینگونه نتیجه‌گیری نمود که اثر ضد درد تری‌فلوپرازین به واسطه بلوک گیرنده‌های  $H_1$  نمی‌باشد.

نقش کلسیم در انتقال سیگنالهای درد در سطح نخاع نشان داده شده است. به خصوص محرکات دردناک مداوم که باعث تسهیل انتقال درد در نخاع می‌شود در رابطه با افزایش کلسیم سیتوزول و فعال شدن یک سری آنزیمهای وابسته به کلسیم می‌باشد (۱۸). در آزمایش ما تزریق داخل نخاعی کالمیدازولوم القاء بی‌دردی وابسته به دوز نمود که به وسیله تزریق همزمان کلسیم ( $20 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) مهار گردید. اثر ضد درد تری‌فلوپرازین نیز با تزریق همزمان کلسیم به طور نسبی کاهش یافت. با توجه به این داده‌ها می‌توان اینگونه برداشت کرد که اثر ضد درد کالمیدازولوم که با کلسیم مهار می‌شود، نشان دهنده فعال شدن کالمودولین در طی تست فرمالین است. همچنین با توجه به اثر مشابه

این باورند که آگونیستهای دوپامین از طریق گیرنده‌های  $D_2$  القاء بی‌دردی می‌نمایند (۱۶،۱۰،۳). در آزمایشات ما نیز سولپیراید نه تنها اثر بی‌دردی نشان نداد بلکه القاء هیپرالزی نمود، از طرف دیگر بروموکریپتین (آگونیست گیرنده‌های  $D_2$ ) اثر ضد درد تری‌فلوپرازین را کاهش نداد. با توجه به این آزمایشات می‌توان اینگونه نتیجه‌گیری کرد که بلوک گیرنده‌های  $D_2$  منجر به هیپرالزی شده و به نظر نمی‌رسد که اثر ضد درد تری‌فلوپرازین از طریق بلوک گیرنده‌های  $D_2$  اعمال شود.

گزارشات ضد و نقیضی در مورد رابطه سیستم کلینرژیک نخاعی و مسیرهای درد وجود دارد. تزریق نخاعی و سیستمیک آگونیستهای موسکارینی و مهارکننده‌های کلین استراز باعث اثر ضد درد گردیده (۱۵،۱۲) آتروپین اثر ضد درد فیزوستیگمین و حتی مرفین را کاهش داده است (۱۵،۷). بر عکس در گزارشات دیگری بلوک سیستم کلینرژیک نیز القاء بی‌دردی نموده است (۱۱). در این آزمایش تزریق داخل نخاعی آتروپین باعث القاء هیپرالزی در دوز بالا شد. همچنین فیزوستیگمین اثر ضد درد تری‌فلوپرازین را کاهش نداد. با توجه به این داده‌ها محتمل به نظر نمی‌رسد که اثر ضد درد تری‌فلوپرازین به واسطه اثر آنتی‌کلینرژیک آن باشد.

در مورد نقش بازدارنده نور اپی‌نفرین در انتقال درد توافق نسبی وجود دارد به طوری که به کارگیری داخل نخاعی آگونیستهای آدرنرژیک آستانه درد را در گونه‌های مختلف حیوانات افزایش داده است (۲۵،۱۱). این آثار به واسطه گیرنده‌های  $\alpha_1$  و یا  $\alpha_2$  آدرنرژیک می‌باشد (۱۴،۱۱). در آزمایشات ما، تزریق داخل نخاعی فنتول آمین فاقد اثر بارزی در تست فرمالین بود همچنین نوراپی‌نفرین اثر بارزی بر بی‌دردی حاصل از تزریق تری‌فلوپرازین نداشت. بنابراین می‌توان اینگونه نتیجه‌گیری نمود که احتمالاً اثر ضد درد تری‌فلوپرازین به واسطه اثر آلفا بلوکری آن نیست.

نتیجه‌گیری کرد که تری‌فلوپرازین در دوزهای پایین دارای اثر ضد درد می‌باشد و مهار کالمودولین دارای نقش نسبی در این مسئله است. با افزایش دوز، دیگر آثار دارو مثل اثر آنتی‌کلیترژیکی و بلوک‌گیرنده‌های D<sub>2</sub> بر مهار کالمودولین غالب می‌آیند و این آثار می‌توانند بالقوه هیپرالژزی مشاهده شده در این تحقیق را توجیه نمایند.

### تشکر و قدردانی:

همزین این طرح از بودجه معاونت پژوهشی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأمین شده است.

کلسیم بر بی‌دردی ناشی از تزریق تری‌فلوپرازین می‌توان نقش مهار کالمودولین را در اثر ضد درد تری‌فلوپرازین مطرح کرد. از سوی دیگر کاهش اثر ضد درد تری‌فلوپرازین به وسیله نالوکسان و بی‌تأثیر بودن آن بر اثر ضد درد کالمیدازولیموم دلالت بر دو نکته دارد، یکی این که سیستم اویوئیدی در بی‌دردی ناشی از تری‌فلوپرازین نقش نسبی دارد و دوم این که بی‌دردی ناشی از مهار کالمودولین به واسطه سیستم اویوئیدی نمی‌باشد.

نهایتاً از مجموع آزمایشات فوق می‌توان این گونه

### References:

- 1- Acs G.; Palkovits M.; Blumberg PM. Trifluoperazine modulates [3H] resiniferatoxin binding by human and rat vanilloid (capsaicin) receptors and affects 45Ca uptake by adult rat dorsal root ganglion neurons. *J Pharmacol Exp Ther*, 274: 1090-8, 1995.
- 2- Baldessarini RJ. Drugs and the treatment of psychiatric disorders: psychosis and anxiety. In: Hardman JG.; Limbird LE (eds.). *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics: From McGraw-Hill Company*. New York: USA, 9th ed. 399-430, 1996.
- 3- Bittencourt AI.; Takahashi RN. Mazindol and lidocaine are antinociceptives in the mouse formalin model: involvement of dopamine receptor. *Eur J Pharmacol*, 330: 109-13, 1997.
- 4- Brostrom CO.; Wolff DJ. Properties and functions of calmodulin. *Biochem Pharmacol*, 30: 1395-405, 1981.
- 5- Chung KM.; Kim YH.; Song DK.; Huh SO.; et al. Antinociceptive mechanisms of betahistine administered intrathecally in mice. *Biogenic Amines*, 14: 249-60, 1998.
- 6- Chung YH.; Miyake H.; Kamei C.; Tasaka K. Analgesic effect of histamine induced by intracerebral injection into mice. *Agents Actions*, 15: 137-42, 1984.
- 7- Dirksen R.; Nijhuis GM. The relevance of cholinergic transmission at the spinal level to opiate effectiveness. *Eur J Pharmacol*, 91: 215-21, 1983.
- 8- Earl CQ.; Prozialeck WC.; Weiss B. Interaction of alpha-adrenergic antagonists with calmodulin. *Life Sci*, 35: 525-34, 1984.
- 9- Fields HL.; Pain II. New approaches to management (Review). *Ann Neurol*, 9: 101-6, 1981.
- 10- Frussa-Filho R.; Rocha JB.; Conceicao IM.; Mello CF.; et al. Effects of dopaminergic agents on visceral pain measured by the mouse writhing test. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 331: 74-93, 1996.
- 11- Furst S. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord (Review). *Brain Res Bull*, 48: 129-41, 1999.



- 12- Hartvig P.; Gillberg PG.; Gordh TJ.; Post C. Cholinergic mechanisms in pain and analgesia (Review). *Trends Pharmacol Sci*, Suppl: 75-9, 1989.
- 13- Hough LB.; Nalwalk JW.; Leurs R.; Menge WM.; et al. Antinociceptive activity of impentamine, a histamine congener, after CNS administration. *Life Sci*, 64: 79-86, 1999.
- 14- Kawabata A.; Kasamatsu K.; Umeda N.; Takagi H. The noradrenaline precursor L-threo-3, 4-dihydroxyphenylserine exhibits antinociceptive activity via central alpha-adrenoceptors in the mouse. *Br J Pharmacol*, 111: 503-8, 1994.
- 15- Khan IM.; Buerkle H.; Taylor P.; Yaksh TL. Nociceptive and antinociceptive responses to intrathecally administered nicotinic agonists. *Neuropharmacology*, 37: 1515-25, 1998.
- 16- Kiristy-Roy JA.; Standish SM.; Terry LC. Dopamine D-1 and D-2 receptor antagonists potentiate analgesic and motor effects of morphine. *Pharmacol Biochem Behav*, 32: 717-21, 1989.
- 17- Malec D. The influence of histamine receptor antagonists on antinociceptive action of narcotic analgesics. *Pol J Pharmacol Pharm*, 39(3): 229-35, 1987.
- 18- Menendez L.; Hidalgo A.; Baamonde A. Spinal calmodulin inhibitors reduce N-methyl-D-aspartate and spide-induced nociceptive behavior. *Eur J Pharmacol*, 335: 9-14, 1997.
- 19- Menendez L.; Perez-Vallina JR.; Cantabrana B.; Hidalgo A.; et al. Calmodulin inhibitors induce spinal analgesia in rats. *Brain Res*, 731: 114-21, 1996.
- 20- Merskey H. Pharmacological approaches other than opioids in chronic non-cancer pain management. *Acta Anesthesiol Scand*, 41: 187-90, 1997.
- 21- Middleton E.; Ferriola P.; Drzewiecki G.; Duane Sofia R. The effect of azelastine and some other antiasthatic and antiallergic drugs on calmodulin and protein kinase C. *Agents Actions*, 28(1-2): 9-15, 1989.
- 22- Mobarakeh JI.; Sakurada S.; Katsuyama S.; Kutsuwa M.; et al. Role of histamine H<sub>1</sub> receptor in pain perception: a study of the receptor gene knockout mice. *Eur J Pharmacol*, 391: 81-9, 2000.
- 23- Netti C.; Sibilina V.; Guidobono F.; Villani P.; et al. Evidence for an inhibitory role of central histamine on carrageenin-induced hyperalgesia. *Neuropharmacology*, 33: 205-10, 1994.
- 24- Prozialeck WC.; Weiss B. Inhibition of calmodulin by phenothiazines and related drugs. *J Pharmacol Exp Ther*, 222: 509-16, 1982.
- 25- Reddy SV.; Yaksh TL. Spinal noradrenergic terminal system mediates antinociception. *Brain Res*, 189: 391-401, 1980.
- 26- Schreiber S.; Backer MM.; Weizman R.; Pick CG. Augmentation of opioid induced antinociception by the atypical antipsychotic drug risperidone in mice. *Neurosci Lett*, 228: 25-8, 1997.
- 27- Thobum KK.; Hough LB.; Nalwalk JW.; Mischler SA. Histamine-induced modulation of nociceptive responses. *Pain*, 58: 29-37, 1994.
- 28- Weiss B.; Prozialeck WC.; Wallace TL. Interaction of drugs with calmodulin. *Biochem Pharmacol*, 31: 2217-26, 1982.
- 29- Yaksh TL.; Rudy TA. Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiol Behav*, 17: 1031-6, 1976.