مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ششم، شماره سوم، پاییز ۱۳۸۶، ۱۸۶-۱۷۹

نقش محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- آدرنال بر اثرات ضدالتهابی تری‌فلوپرازین در موش صحرایی نر

علی شمسی‌زاده [۱]، دکتر محمد خاکساری‌حداد [۲]، افروز آذرنگ [۳]، دکتر مهدی محمودی [۴]، دکتر رضا عباسی‌راینی [۵]

دریافت مقاله:۸۵/۷/۱۸ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۵/۱۱/۱ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۵/۱۱/۲۱ پذیرش مقاله: ۸۵/۱۲/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: در مطالعات قبلی بیان شده است که داروی تری‌فلوپرازین دارای اثر ضدالتهابی است. در مطالعه حاضر به منظور تعیین مکانیسم احتمالی اثر ضدالتهابی این دارو، نقش محور هیپوتالاموس- هیپوفیز - آدرنال در اثرات ضدالتهابی داروی تری‌فلوپرازین بررسی شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی بر روی ۱۰۰ سر موش صحرایی نر بالغ انجام شد. با تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ۰/۵ درصد کاراگینین به کف پنجه چپ، خیز التهابی ایجاد شد. موش‌ها به طور تصادفی به سه گروه کلی کنترل، آدرنالکتومی شده و دریافت کننده مهار گر CRH (corticotropin-releasing hormone) تقسیم شدند. آدرنالکتومی به صورت دو طرفه انجام شد و یک هفته پس از عمل حیوان‌ها تحت آزمایش قرار گرفتند. مهار گر CRH با دوز ۲۰ میکروگرم در هر موش به صورت داخل بطنی تزریق شد. تری‌فلوپرازین (دوزهای ۰/۲ و ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. چهار ساعت بعد از تزریق دارو، میزان خیز التهابی از طریق اندازه‌گیری تغییرات حجم و محتوای رنگ آبی ایوانز در پنجه ملتهب تعیین گردید. هم‌چنین غلظت سرمی ACTH و پرولاکتین نیز اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: دوزهای دارو در هر دو گروه کنترل و آدرنالکتومی شده، اثرات مهاری بر روی افزایش حجم و محتوای رنگ در پنجه داشتند به طوری که به ترتیب به میزان ۳۸٪ و ۶۵٪ در گروه‌های کنترل و آدرنالکتومی شده افزایش حجم پنجه ناشی از تزریق کاراگینین مهار شد. هم‌چنین محتوای رنگ آبی ایوانز در گروه‌های فوق به ترتیب به میزان ۶۰٪ و ۲۰٪ مهار شد. در گروه دریافت کننده مهارگر CRH، دوزهای مختلف دارو افزایش حجم پنجه را به میزان ۵۰٪ مهار کردند، اگرچه اثر مهاری معنی‌داری را بر محتوای رنگ آبی ایوانز نداشتند. آدرنالکتومی باعث افزایش غلظت سرمی ACTH به میزان ۹ برابر نسبت به گروه کنترل شد و این افزایش به میزان ۸۲٪ توسط هر دو دوز تری‌فلوپرازین مهار شد. غلظت سرمی پرولاکتین تحت تاثیر آدرنالکتومی قرار نگرفت.

نتیجه‌گیری: این نتایج پیشنهاد می‌کند که اثرات ضدالتهابی تری‌فلوپرازین در حیوان‌های آدرنالکتومی شده و گروه دریافت کننده مهارگر CRH وجود دارد، بنابراین به نظر می‌رسد که داروی مورد نظر اثرات ضدالتهابی خود را مستقل از عملکرد محور هیپوتالاموس- هیپوفیز - آدرنال اعمال می‌کند.

واژه‌های کلیدی: محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- آدرنال، التهاب، تری‌فلوپرازین

۱- (نویسنده مسؤول) مربی و عضو هیأت علمی گروه آموزشی فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
تلفن: ۰۳۹۱-۵۲۲۵۴۰۰، فاکس:۰۳۹۱-۵۲۲۵۲۰۹ ، پست الکترونیکی: alishamsy@yahoo.com
۲- استاد گروه آموزشی فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۳- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۴- دانشیار گروه آموزشی بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
۵- پزشک عمومی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1386.6.3.3.9]

مقدمه

التهاب پاسخ بافت زنده به آسیب است که ویژگی همه بیماری‌های مفاصل است [۱]. هم‌چنین تجمع موضعی مایع یا خیز یکی از ویژگی‌های بارز التهاب حاد است و در بیماری‌های التهابی از قبیل ورم مفاصل، استئوآرتریتیس، آسم و کهیر، ممانعت از تشکیل خیز برای درمان این بیماری‌ها مفید است [۲]. در حال حاضر پاتوفیزیولوژی التهاب نامشخص است، اگرچه یکی از میانجی‌هایی که نقش احتمالی در فعال شدن یاخته‌های التهابی دارد، کلسیم است [۴-۳]. در مطالعات قبلی نشان داده شده است که کلسیم در ایجاد خیز التهابی ناشی از کاراگینین نقش دارد [۵]. کلسیم از طریق اتصال به یک پروتئین به نام کالمودولین و تشکیل مجموعه کلسیم - کالمودولین تعدادی از اعمال مهم سلولی را موجب می‌شود که از جمله این اعمال می‌توان به تنظیم فعالیت آنزیم فسفودی استراز، آنزیم فسفولیپاز A۲ پمپ کلسیم، ترشح سلولی، نفوذپذیری اتصالات شکافی و رهایش میانجی‌های عصبی اشاره کرد [۷-۶]. بنابراین، این احتمال مطرح می‌شود که شاید مصرف مهار کننده‌های کالمودولین از قبیل تری‌فلوپرازین (Trifluoperazine, TFP) می‌تواند مانع از اثر کلسیم در ایجاد خیز التهابی شود.

در سال‌های اخیر اثرات ضدالتهابی TFP در کنترل مدل‌های التهابی حاد و مزمن بررسی شده است. اثرات درمانی و پیشگیری کننده TFP در درمان سوختگی و سرمازدگی نشان داده شده است [۹-۸]. TFP باعث مهار خیز ناشی از کاراگینین [۱۰] و کائولین [۱۱] در موش صحرایی می‌شود و هم‌چنین این دارو باعث مهار نشت پروتئین در دیابت مزمن در موش صحرایی می‌گردد [۱۲].

از سوی دیگر، بسیاری از انواع مختلف مدل‌های التهاب و عفونت‌ها منجر به تحریک محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA) می‌شوند [۱۳]. فعال شدن محور HPA عمدتاً از طریق سیتوکین‌های رها شده از بافت‌های التهابی (مثل TNF-α، IL-۱، IL۶) واسطه‌گری می‌شود. هم‌چنین التهاب به صورت غیرمستقیم و از طریق تحریک سیستم نورآدرنرژیک مرکزی توسط سیتوکین‌ها و سایر اعصاب آوران که در محل التهاب هستند باعث افزایش فعالیت محور HPA می‌شود. محور HPA نقش مهمی در بهبود هومئوستاز (Homeostasis) بدن (که متعاقب التهاب و عفونت، آسیب می‌بینند) دارد [۱۴-۱۳]. گزارش شده است که تجویز TFP می‌تواند عملکرد محور HPA را تغییر دهد. به عنوان مثال TFP می‌تواند اثر تحریکی وازوپرسین و هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین (CRH) را بر ترشح ACTH مهار کند [۱۶-۱۵]. تاکنون ارتباط بین اثرات ضدالتهابی داروی مذکور و نقش محور HPA در پیدایش این اثرات مورد بررسی قرار نگرفته است.

با توجه به بیان فوق، پژوهش حاضر به منظور بررسی نقش محور HPA بر روی اثرات ضدالتهابی TFP از طریق برداشتن غده آدرنال و هم‌چنین تزریق مهارگر CRH انجام شد. جهت ارزیابی نقش هورمون‌هایACTH و پرولاکتین بر روی اثرات ضدالتهابی TFP مقادیر این هورمون‌ها در گروه‌های مختلف آزمایشی نیز اندازه‌گیری شد.

مواد و روش‌ها

حیوان‌ها: این مطالعه تجربی روی ۱۰۰ سر موش صحرایی بالغ نر از نژاد Albino-N-Mary با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام گرفت. حیوان‌ها در حیوان‌خانه دانشکده پزشکی رفسنجان با درجه حرارت C ° ۲۲-۲۰ و سیکل تاریکی - روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شدند و همه گروه‌ها آب و غذا آزادانه در اختیارشان بود. در گروه آدرنالکتومی شده، آب حیوان‌ها با سرم فیزیولوژی جایگزین شد [۵].

داروها: داروی تری‌فلوپرازین (TFP, Sigma, Co, Uk) در دو دوز ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم [۱۱-۱۰] در سرم فیزیولوژی استریل (به عنوان حلال) حل شد و به صورت داخل صفاقی بلافاصله پس از تزریق کاراگینین استفاده شد. پودر کاراگینین (Sigma, Co, Uk) به منظور تهیه محلول ۵٪ در سالین استریل حل شد. مهارگر CRH یا (۴۱-۹)-α-helical CRH (Sigma, Co, Uk) با دوز ۲۰ میکروگرم در ۵ میکرولیتر آب مقطر استریل به ازای هر حیوان به صورت میکرواینجکشن به داخل بطن جانبی ۱۰ دقیقه قبل از ایجاد التهاب تزریق شد [۱۷]. رنگ آبی

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1386.6.3.3.9]

ایوانز(Evans blue, Sigma, Co, Uk) به میزان ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم به داخل ورید فمورال حیوان تزریق شد [۱۲].

روش ایجاد خیز پنجه: ابتدا حیوان با تزریق داخل صفاقی۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیوپنتال سدیم بیهوش شد. سپس به منظور ایجاد خیز التهابی، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ۵ درصد کاراگینین به داخل کف پنجه چپ حیوان تزریق شد. پنجه راست حیوان نیز همین حجم سرم فیزیولوژیک دریافت کرد [۵].

روش اندازه‌گیری خیز پنجه: به منظور اندازه‌گیری میزان خیز التهابی از دو شاخص، تغییرات حجم پنجه (روش پلتیسوموتری) و محتوای بافتی رنگ آبی ایوانز (E.B) (روش نشاندار کردن پروتئین) به طریق زیراستفاده شد:

الف- پلتیسوموتری مایع: در این روش در ساعت چهارم بعد از تزریق کاراگینین (حداکثر خیز در این ساعت ایجاد می‌شود)، حجم پنجه‌ای که به آن کاراگینین تزریق شده بود با دستگاه پلتیسوموتری مایع اندازه‌گیری شد و این مقدار حجم از حجم پنجه‌ای که به آن سرم فیزیولوژیک تزریق شده بود کسر گردید و حاصل آن به عنوان افزایش حجم پنجه ناشی از کاراگینین در نظر گرفته شد [۵].

ب- روش نشاندار کردن پروتئین: رنگ آبی ایوانز به پروتئین‌های پلاسما خصوصاً آلبومین وصل می‌شود و در شرایط عادی داخل عروق محبوس است ولی در زمانی که نفوذپذیری عروق افزایش پیدا کند به خارج نشت می‌نماید، بنابراین از این رنگ به عنوان روش نشاندار کردن پروتئین استفاده می‌شود. جهت اندازه‌گیری محتوای بافتی رنگ آبی ایوانز، سه ساعت و نیم بعد از تزریق کاراگینین، رنگ آبی ایوانز به میزان ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به داخل ورید فمورال حیوان تزریق شد و در ساعت چهارم، نخست حجم پنجه اندازه‌گیری و سپس حیوان کشته و پنجه‌های آن از مفصل تارسوکرورال قطع شد. بعد از آماده سازی، غلظت رنگ در نمونه بافتی (با قرائت میزان جذب نوری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Milton Roy, Belgium) در طول موج ۶۲۰ نانومتر تعیین و بر حسب میکروگرم درصد میلی‌گرم بافت محاسبه و گزارش شد [۱۲].

روش انجام آدرنالکتومی [(Adrenalectomy (ADX)]: ابتدا حیوان با تزریق تیوپنتال سدیم (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی بیهوش شد. سپس غدد فوق کلیه به صورت دو طرفه با استفاده از برش پشتی دو طرفه (bilateral dorsal excision) مشخص و برداشته شدند. روش جراحی شم (Sham) نیز با انجام برش‌ها بدون برداشتن غدد فوق کلیوی انجام گرفت. در حیوان آدرنالکتومی شده، جهت حفاظت حیوان از شوک ناشی از قطع مینرالوکورتیکوییدها، آب حیوان با سرم فیزیولوژی (کلرورسدیم ۰/۹ درصد) جایگزین گردید. یک هفته جهت بهبودی به حیوان فرصت داده شد و بعد آزمایش‌ها انجام شد [۵].

روش آماده کردن حیوان برای تزریق مهارگر CRH در بطن جانبی مغز: در این روش حیوان ابتدا با تزریق ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیوپنتال سدیم به صورت داخل صفاقی بیهوش شد. سپس سر حیوان در دستگاه استریوتاکس ثابت و یک برش طولی از قسمت ابتدایی به طرف انتهایی جمجمه داده شد. با تنظیم دستگاه بر روی مختصات بطن طرفی راست مغز بر اساس اطلس پارکسینوس و واتسون، کانول‌گذاری برای حیوان انجام گرفت و این کانول با استفاده از خمیر دندانپزشکی فیکس شد و دهانه آن با مفتول فلزی مناسب مسدود گردید. یک هفته جهت بهبودی به حیوان فرصت داده شد [۵،۱۷].

روش اندازه‌گیری هورمون‌های پرولاکتین و ACTH: ابتدا از گوشه چشم هر حیوان خون‌گیری انجام و نمونه خون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس سرم جدا شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. پرولاکتین و ACTH با استفاده از کیت‌های تجاری (کاوشیار، ایران) و با روش رادیو ایمونواسی(RIA) اندازه‌گیری شد.

گروه‌های آزمایشی: حیوان‌ها به طور تصادفی به سه گروه کلی کنترل، آدرنالکتومی شده و دریافت کننده مهارگر CRH و ۱۱ زیر گروه تقسیم شدند. در هر زیر گروه ۸-۶ سرحیوان وجود داشت.

الف- گروه کنترل شامل سه زیر گروه بود: زیر گروه ۱: در این حیوان‌ها بعد از تزریق کاراگینین حلال TFP مصرف شد و

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1386.6.3.3.9]

شاخص‌های مربوط به حجم پنجه، محتوای رنگ آبی ایوانز و هم‌چنین هورمون‌ها در آن‌ها اندازه‌گیری گردید.

زیر گروه ۲ و ۳: به ترتیب دوز ۰/۲ و ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم داروی TFP را در حضور کاراگینین دریافت کردند و شاخص‌های فوق در آن‌ها اندازه‌گیری شد.

ب- گروه آدرنالکتومی شده (ADX) شامل پنج زیرگروه بود:

زیر گروه ۱: در این حیوان‌ها بعد از تزریق کاراگینین حلال TFP مصرف شد و شاخص‌های ذکر شده در فوق در آن‌ها اندازه‌گیری شد. زیر گروه ۲: حیوان‌های این گروه کاراگینین دریافت نکردند و فقط شاخص‌های فوق در آنها اندازه‌گیری شد. زیر گروه‌های ۳ و۴: به ترتیب دوز ۰/۲ و ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم داروی TFP را در حضور کاراگینین دریافت کردند و شاخص‌های ذکر شده فوق در آن‌ها اندازه‌گیری شد. زیر گروه ۵: گروه شم است که جراحی لازم برای برداشتن غدد فوق کلیه در آن‌ها انجام شد، اما غدد مذکور برداشته نشده و ادامه کار مشابه با زیر گروه ۱ بود.

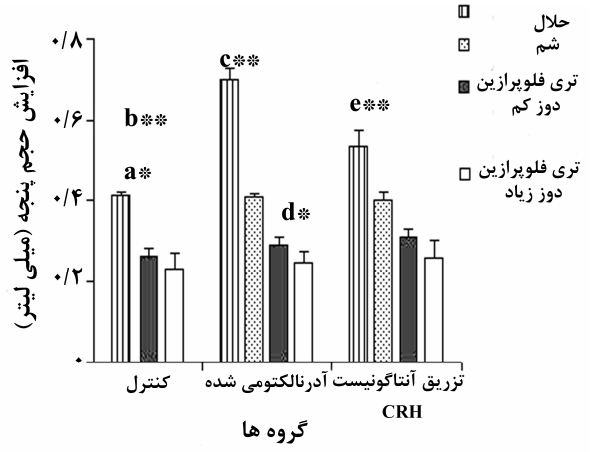
ج- گروه دریافت کننده مهارگر CRH به پنج زیر گروه تقسیم شد که این زیرگروه‌ها مشابه با زیر گروه‌های ADX بودند.

روش آماری: داده‌ها به صورت Mean±SEM نشان داده شدند. از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) برای تجزیه و تحلیل داده‌ها در بین چند گروه آزمایشی و در صورت لزوم از آزمون Tukey استفاده شد. برای مقایسه داده‌ها در دو گروه مجزا از Independent t test استفاده شد. مقایسه اختلاف اثر TFP روی پارامترهای اندازه‌گیری شده در سه گروه آزمایشی با استفاده از آزمون Two way ANOVA انجام شد. تمامی داده‌ها با $p<0/05$ معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

تزریق کاراگینین در هر کدام از گروه‌های کنترل، ADX و دریافت کننده مهارگر CRH باعث افزایش حجم پنجه، محتوای بافتی رنگ آبی ایوانز و غلظت سرمی ACTH در مقایسه با حیوان‌های بدون تزریق کاراگینین شد (نتایج نشان داده نشده است).

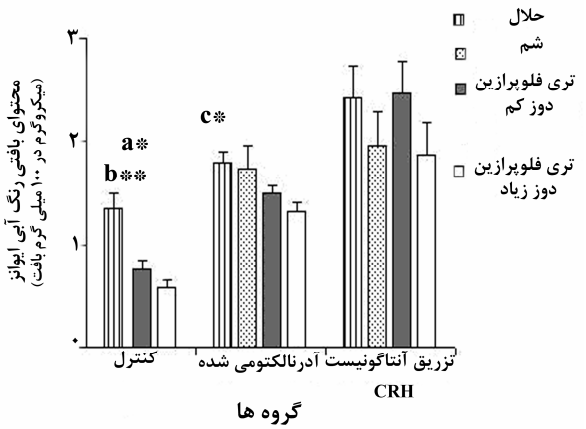
اثر TFP بر روی تغییرات حجم پنجه ناشی از تزریق کاراگینین: همان طوری که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود در گروه کنترل، افزایش حجم پنجه ناشی از تزریق کاراگینین، به دنبال تجویز دوزهای کم و زیاد TFP به ترتیب ۰/۲۶±۰/۰۲ میلی‌لیتر و ۰/۲۳±۰/۰۴ میلی‌لیتر بود، که این افزایش حجم به طور معنی‌داری کمتر از گروه حلال بود (۰/۴±۰/۰۱ میلی‌لیتر) ($p<0/01$). در گروه ADX نیز افزایش حجم پنجه پا در گروه دریافت کننده دوزهای کم (۰/۲۸±۰/۰۲ میلی‌لیتر) و زیاد (۰/۲۳±۰/۰۳ میلی‌لیتر) TFP به طور معنی‌داری در مقایسه با حلال (۰/۰۳ ± ۰/۷ میلی‌لیتر) کمتر بود (۰/۰۰۱ >p). مقایسه اثر TFP در گروه کنترل و ADX نشان داد که اثراین دارو در کاهش حجم پنجه در گروه ADX در مقایسه با گروه کنترل بیشتر است ($p< 0/05$). در گروه دریافت کننده مهارگر CRH، افزایش حجم پنجه در اثر تجویز دوزهای کم و زیاد TFP به ترتیب به میزان ۰/۳±۰/۰۲ میلی‌لیتر و ۰/۲۵±۰/۰۴ میلی‌لیتر بود، که به طور معنی‌داری کمتر از افزایش حجم پنجه در گروه حلال (۰/۵۳±۰/۰۴ میلی‌لیتر) است ($p<0/01$).



نمودار ۱- اثر TFP بر روی تغییرات حجم پنجه ناشی از تزریق کاراگینین در گروه‌های مختلف مطالعه. a ، اختلاف معنی‌دار بین حلال درگروه کنترل با گروه‌های آدرنالکتومی شده و دریافت کننده مهارگر CRH. b ، اختلاف معنی‌دار بین TFP با حلال در گروه کنترل. c ، اختلاف معنی‌دار بین TFP با حلال در گروه آدرنالکتومی شده. d ، اختلاف معنی‌دار بین اثر ضد التهابی دوز های کم و زیاد TFP درگروه‌های کنترل و آدرنالکتومی شده. e ، اختلاف معنی دار بین TFP با حلال درگروه دریافت کننده مهارگر CRH. **: p<۰/۰۱، *: p<۰/۰۵

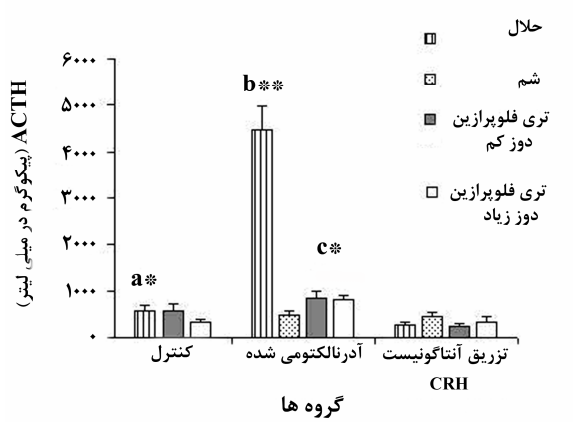
[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1386.6.3.3.9]

اثر TFP بر روی محتوای بافتی رنگ آبی ایوانز در پنجه ملتهب: نمودار ۲، اثر تجویز دوزهای کم و زیاد TFP را بر روی محتوای بافتی رنگ آبی ایوانز در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. در گروه کنترل در حضور حلال، محتوای رنگ آبی ایوانز ۰/۱۵±۱/۳۵ میکروگرم در هر ۱۰۰ میلی‌گرم بافت بود که با تجویز دوزهای کم و زیاد TFP به ترتیب به میزان ۰/۰۹±۰/۷۵و ۰/۰۵±۰/۵ کاهش یافت که این اثر مهاری دارای اختلاف معنی‌داری با حلال است (p<۰/۰۱). در گروه آدرنالکتومی شده، محتوای بافتی رنگ آبی ایوانز فقط دراثر تجویز دوز ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم داروی TFP کاهش یافت (p<۰/۰۵). در گروه دریافت کننده مهارگر CRH، دارو نتوانست تأثیری بر محتوای بافتی رنگ آبی ایوانز اعمال کند.



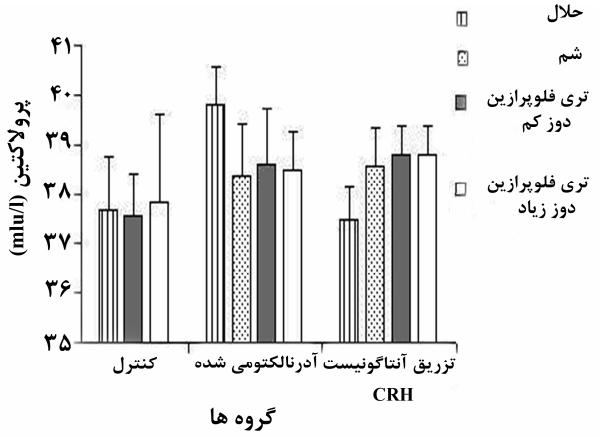
نمودار ۲- اثر TFP بر روی تغییرات محتوای بافتی رنگ آبی ایوانز (E.B) در گروه‌های مختلف مطالعه. a ، اختلاف معنی‌دار بین حلال در گروه کنترل با گروه دریافت کننده مهارگر CRH. b ، اختلاف معنی‌دار بین TFP با حلال در گروه کنترل. c اختلاف معنی‌دار بین TFP (دوز ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با حلال در گروه آدرنالکتومی شده. **:p<۰/۰۱ ،*: p<۰/۰۵

اثرTFP بر روی غلظت ACTH سرم: غلظت سرمی ACTH در گروه ADX (۵۰۰±۴۴۸۴ پیکوگرم بر میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه کنترل (۱۳۶±۵۶۴ پیکوگرم بر میلی‌لیتر) افزایش نشان می‌دهد (p< ۰/۰۰۱) (نمودار ۳، حلال). TFP با دوز ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش میزان سرمی ACTH در گروه‌های کنترل (p<۰/۰۵، ۵۱±۳۲۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر) و ADX (p<۰/۰۰۱ ، ۷۶±۸۲۳ پیکوگرم بر میلی‌لیتر) شد. TFP با دوز ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم غلظت سرمی ACTH را فقط در گروه ADX (۱۳۴±۸۴۸ پیکوگرم بر میلی‌لیتر) کاهش داد (p<۰/۰۰۱). اثر TFP در کاهش میزان سرمی هورمون ACTH در گروه ADX نسبت به گروه کنترل بیشتر است (p<۰/۰۵). هم‌چنین نمودار ۳ نشان می‌دهد که در گروه دریافت کننده مهارگر CRH داروی TFP تغییر معنی‌داری در میزان سرمی ACTH نسبت به حلال ایجاد نکرد.



نمودار ۳- اثر TFP بر روی غلظت سرمی ACTH در گروه های مختلف مورد مطالعه. a ، اختلاف معنی‌دار بین TFP (دوز ۸ میلی‌گرم بر کیوگرم) با حلال در گروه کنترل. b ، اختلاف معنی‌دار بین TFP با حلال در گروه آدرنالکتومی شده. c ، اختلاف معنی‌دار بین اثر ضد التهابی TFP در گروه‌های کنترل و آدرنالکتومی شده. *: p<۰/۰۵

اثرTFP بر روی غلظت پرولاکتین سرم: نمودار۴، اثر TFP را بر میزان سرمی پرولاکتین نشان می‌دهد. هیچ یک از دوزهای کم و زیاد TFP در گروه‌های کنترل، ADX و دریافت کننده مهارگر CRH نتوانست باعث تغییر معنی‌داری در میزان سرمی هورمون پرولاکتین گردد.



نمودار ٤- اثر TFP بر روی غلظت سرمی هورمون پرولاکتین در گروه‌های مختلف مورد مطالعه. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها مشاهده نشد.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1386.6.3.3.9]

بحث

در حال حاضر پاتوفیزیولوژی التهاب به طور دقیق مشخص نیست، اگرچه بیان شده است که یکی از میانجی‌های التهابی که نقش مهمی در فعال شدن یاخته‌های التهابی دارد، کلسیم است [۴-۳]. کلسیم بسیاری از اعمال خود را از طریق متصل شدن به پروتئینی به نام کالمودولین انجام می‌دهد [۷-۶].

نتایج این مطالعه نشان داد که داروی TFP می‌تواند خیز التهابی ناشی از تزریق کاراگینین را مهار کند. این یافته با نتایج گزارش‌های قبلی مطابقت دارد [۱۱-۱۰]. مسیرهای ملکولی دخیل در اثر ضدالتهابی داروی TFP به طور دقیق شناسایی نشده‌اند، از آن جایی که کالمودولین یکی از ملکول‌های دخیل در فرآیند التهاب است و TFP به عنوان مهار کننده کالمودولین نیز مطرح شده است [۹،۱۸]، بنابراین به نظرمی‌رسد که مهار کالمودولین توسط TFP نقش مهمی در اثرات ضدالتهابی این دارو در کنترل خیز التهابی ناشی از کاراگینین دارد. مطالعات قبلی نیز نشان داده‌اند که مهار کالمودولین باعث مهار تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن [۲۰-۱۹]، اکسید نیتریک [۲۱]، فعالیت کانال‌های آنیونی [۲۲] و هم‌چنین جلوگیری از افزایش کلسیم [۱۹] در یاخته‌های التهابی می‌شود، علاوه بر آن رهایش میانجی‌های التهابی از قبیل TNF-α نیز با مهار کالمودولین کاهش می‌یابد [۲۳].

از سوی دیگر TFP دارای اثرات مهاری بر روی سیستم دوپامینرژیک و سروتونرژیک نیز می‌باشد [۲۴]. با توجه به این که نشان داده شده است که میزان سروتونین و نور آدرنالین مغز در هنگام ایجاد التهاب توسط کاراگینین افزایش می‌یابد [۲۵]، ممکن است اثرات مهاری TFP بر روی مسیرهای فوق در اثرات ضدالتهابی این دارو نقش داشته باشد.

در بخش دیگر این مطالعه، نقش محور هیپوتالاموس-هیپوفیز- آدرنال (HPA) بر روی اثرات ضدالتهابی TFP بررسی گردید و نتایج نشان داد که در حیوان‌های فاقد آدرنال و هم‌چنین گروه دریافت کننده مهار گر CRH نه تنها اثر ضدالتهابی TFP در مهار افزایش حجم پنجه ناشی از تزریق کاراگینین وجود داشت بلکه تشدید نیز شده بود. آدرنالکتومی و تزریق مهارگر CRH باعث کاهش غلظت پلاسمایی هورمون‌های گلوکوکورتیکوییدی می‌شود. گلوکوکورتیکوییدها اثرات ضدالتهابی دارند و این اثرات را از طریق مکانیسم‌های متعددی از جمله مهار عمل هیستامین، مهار تولید پروستاگلاندین‌ها و لوکوترین‌ها وکینین‌ها اعمال می‌کنند [۲۶]. از آن جایی که مکانیسم‌های احتمالی اثر ضدالتهابی TFP از راه‌های مشابه فوق اعمال می‌شود، بنابراین شاید در سطح سلولی بین اثر ضدالتهابی این دارو و گلوکوکورتیکوییدها نوعی رقابت وجود داشته باشد به طوری که با حذف گلوکوکورتیکوییدها در حیوان فاقد آدرنال و یا دریافت کننده مهارگر CRH، TFP اثرات ضدالتهابی خود را به طورکامل بروز می‌دهد.

ساز و کار احتمالی دیگری که برای تشدید پاسخ ضدالتهابی TFP در حیوان آدرنالکتومی شده می‌تواند مطرح باشد این است که مدارک زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد TFP باعث مهار عملکرد محور HPA در سطوح مختلف می‌شود [۲۷، ۱۶-۱۵]. پس می‌توان بیان کرد که داروی مذکور هم اثرات ضدالتهابی مستقیم دارد (مهار افزایش حجم پنجه ناشی از تزریق کاراگینین) و هم اثرات التهاب زایی غیر مستقیم (مهار تولید گلوکو کورتیکوییدها از طریق مهار محور HPA). بنابراین جمع جبری پاسخ مشاهده شده در حیوان‌های فاقد آدرنال به سمت تشدید اثرات ضدالتهابی تمایل پیدا کرده است.

با توجه به این که TFP باعث مهار سیستم دوپامینرژیک و سروتونرژیک نیز می‌شود یکی از مکانیسم‌های احتمالی دیگر این است که شاید از طریق مسیرهای مذکور و مستقل از محور HPA اثرات مهاری TFP اعمال شود.

از سوی دیگر نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که داروی TFP سبب مهار ترشح ACTH می‌شود که این اثر در حیوان‌های آدرنالکتومی شده به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. از آن جا که گزارش شده است ACTH دارای اثرات التهاب‌زایی است [۲۹-۲۸]، بنابراین جلوگیری از افزایش این هورمون توسط TFP در حیوان فاقد آدرنال می‌تواند یکی از مکانیسم‌های دخیل در اثرات ضدالتهابی TFP باشد.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1386.6.3.3.9]

در مطالعات قبلی اثرات التهاب‌زایی و ضدالتهابی پرولاکتین نشان داده شده است [۳۰-۳۲]، Di Carlo و همکارانش نشان دادند که افزایش غلظت پرولاکتین خون باعث تشدید اثر التهاب‌زایی کاراگینین می‌شود [۳۰]. با توجه به اثرات مهاری TFP روی سیستم دوپامینرژیک مغز و با توجه به این که دوپامین نقش مهمی در تنظیم ترشح پرولاکتین دارد، این احتمال مطرح می‌شود که شاید اثر ضدالتهابی مشاهده شده برای TFP از طریق تغییر ترشح پرولاکتین در خون باشد. نتایج مطالعه اخیر نشان داد که TFP (با دوزهای به کار رفته در این مطالعه) اثری بر روی غلظت پرولاکتین سرم ندارد، این احتمال که اثر ضدالتهابی مشاهده شده برای TFP ممکن است از طریق تغییر پرولاکتین باشد، بعید به نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری

در مجموع پژوهش حاضر نشان داد که داروی TFP خیز التهابی ناشی از کاراگینین را در پنجه موش صحرایی مهار می‌کند و این اثر در حیوان‌های فاقد آدرنال و دریافت کننده مهارگر CRH نیز وجود دارد؛ بنابراین به نظر می‌رسد که داروی مورد نظر اثرات ضدالتهابی خود را مستقل از عملکرد محور هیپوتالاموس-هیپوفیز- آدرنال اعمال می‌کند. می‌توان در پژوهش‌های آینده، مکانیسم‌های دیگر مربوط به اثر TFP بر روی التهاب را بررسی کرد.

References

[1] **Bhoola KD, Elson CJ, Dieppe PA. Kinins--key mediators in inflammatory arthritis? *Br J Rheumatol*, 1992; 31(8): 509-18.**

[2] **Warren JB. Vascular control of inflammatory oedema. *Clin Sci (Lond)*, 1993; 84(6): 581-4.**

[3] **Scott DT, Lam FY, Ferrell WR. Acute joint inflammation--mechanisms and mediators. *Gen Pharmacol*, 1994; 25(7): 1285-96.**

[4] **Lake-Bakaar G, Lyubsky S. Dose-dependent effect of continuous subcutaneous verapamil infusion on experimental acute pancreatitis in mice. *Dig Dis Sci*, 1995; 40(11): 2349-55.**

[5] **Khaksari M, Mahani SE, Mahmoodi M. Calcium channel blockers reduce inflammatory edema in the rat: involvement of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Indian J Pharmacol*, 2004; 36: 351-4.**

[6] **Bianchi M, Rossoni G, Sacerdote P, Panerai AE, Berti F. Effects of chlomipramine and fluoxetine on subcutaneous carrageenin-induced inflammation in the rat. *Inflamm Res*, 1995; 44(11): 466-9.**

[7] **Menendez L, Perez-Vallina JR, Cantabrana B, Hidalgo A, Baamonde A. Calmodulin inhibitors induce spinal analgesia in rats. *Brain Res*, 1996; 731(1-2): 114-21.**

[8] **Beitner R, Chen-Zion M, Sofer-Bassukevitz Y, Oster Y, Ben-Porat H, Morgenstern H. Therapeutic and prophylactic treatment of skin burns with several calmodulin antagonists. *Gen Pharmacol*, 1989; 20(2): 165-73.**

[9] **Beitner R, Chen-Zion M, Sofer-Bassukevitz Y, Morgenstern H, Ben-Porat H. Treatment of frostbite with the calmodulin antagonists thioridazine and trifluoperazine. *Gen Pharmacol*, 1989; 20(5): 641-6.**

[۱۰] خاکساری م، خوش باطن ع. مهار خیز ناشی از سوختگی یا کاراگینین توسط تری‌فلوپرازین و تیودی‌فنیل‌آمیدکلراید در رت. مجله نامه دانشگاه، سال یازدهم، ۱۳۸۰، صفحات: ۷۴-۶۳

[۱۱] خاکساری م، خوش باطن ع، حاجی‌زاده س. درمان خیز پنجه ناشی ازکائولین به وسیله تری‌فلوپرازین در موش صحرایی. مجله دانشور، سال هفتم، ۱۳۷۹، صفحات: ۵۶-۴۷

[۱۲] خاکساری م، محمودی م، فردوسی ف، اسدی‌کرم غر، شریعتی م. اثر تری‌فلوپرازین بر افزایش نفوذپذیری عروق در دیابت تجربی مزمن در موش صحرایی. مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی، جلد ۹، شماره ۱، ۱۳۸۴، صفحات: ۵۵-۴۷

[13] **Webster IJ, Sternberg ME. Role of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis, glucocorticoids and glucocorticoid receptors in toxic sequelae of exposure to bacterial and viral products. *J Endocrinology*, 2004; 181: 207–21.**

[14] **Chrousos GP. The hypothalamic-pituitary- adrenal axis and immune- mediated inflammation. *N Engl J Med*, 1995; 332(20): 1351-62.**

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1386.6.3.3.9]

[15] Powell RC, Daniels M, Innes GK, Ashby MJ, Mashiter K. Effects of trifluoperazine on rat prolactin, growth hormone, thyroid stimulating hormone and adrenocorticotrophin secretion in vitro. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1983; 103(4): 492-6.

[16] Murakami K, Hashimoto K, Ota Z. Calmodulin inhibitors decrease the CRF-and AVP-induced ACTH release in vitro: interaction of calcium-calmodulin and the cyclic AMP system. *Neuroendocrinology*. 1985; 41(1): 7-12.

[17] Bianchi M, Sacerdote P, Panerai AE. Fluoxetine reduces inflammatory edema in the rat: involvement of the pituitary-adrenal axis. *Eur J Pharmacol*, 1994; 263(1-2): 81-4.

[18] Levin RM, Weiss B. Mechanism by which psychotropic drugs inhibit adenosine cyclic 3',5'-monophosphate phosphod_ iesterase of brain. *Mol Pharmacol,* 1976; 12(4): 581-9.

[19] Broeke RT, Leusink-Muis T, Hilberdink R, Van Ark I, van den Worm E, Villain M, et al. Specific modulation of calmodulin activity induces a dramatic production of superoxide by alveolar macrophages. *Lab Invest*, 2004; 84(1): 29-40.

[20] Howe CJ, LaHair MM, Maxwell JA, Lee JT, Robinson PJ, Rodriguez-Mora O, et al. Participation of the calcium/calmodulin-dependent kinases in hydrogen peroxide-induced Ikappa B phosphorylation in human T lymphocytes. *J Biol Chem*, 2002; 277(3): 30469-76.

[21] Biswas SK, Sodhi A, Paul S. Regulation of nitric oxide production by murine peritoneal macrophages treated in vitro with chemokine monocyte chemoattractant protein 1. *Nitric Oxide*, 2001; 5(6): 566-79.

[22] Li G, Liu Y, Olson JE. Calcium/calmodulin-modulated chloride and taurine conductances in cultured rat astrocytes. *Brain Res*, 2002; 925:1-8.

[23] Brown DM, Donaldson K, Borm PJ, Schins RP, Dehnhardt M, Gilmour P, et al. Calcium and ROS-mediated activation of transcription factors and TNF-alpha cytokine gene expression in macrophages exposed to ultrafine particles. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol,* 2004; 286(2): 344-53.

[24] Katzung BG. Basic and clinical pharmacology. Mexigo: Lange Medical Book. 1995; pp: 432-47.

[25] Bhattacharya SK, Das N, Rao PJ. Brain monoamines during carrageenan-induced acute paw inflammation in rats. *J Pharm Pharmacol*, 1988; 40(7): 518-20.

[26] Williams RH, Foster DW, Kronenberg H, Larsen PR. Williams Textbook of Endocrinology: Saunders WB Co. 1998; pp: 517-665.

[27] Basta-Kaim A, Budziszewska B, Jaworska-Feil L, Tetich M, Kubera M, Leskiewicz M, et al. Antipsychotic drugs inhibit the human corticotropin-releasing-hormone gene promoter activity in neuro-2A cells-an involvement of protein kinases. *Neuropsychopharmacology*. 2006; 31(4): 853-65.

[28] Berczi I, Chalmers IM, Nagy E, Warrington RJ. The immune effects of neuropeptides. *Baillieres Clin Rheumatol*, 1996; 10(2): 227-57.

[29] Berczi I. Pituitary hormones and immune function. *Acta Paediatr Suppl*, 1997; 423: 70-5.

[30] Di Carlo R, Meli R, Muccioli G. Effects of prolactin on rat paw oedema induced by different irritants. *Agents Actions*, 1992; 36(1-2): 87-92.

[31] Meli R, Gualillo O, Raso GM, Di Carlo R. Further evidence for the involvement of prolactin in the inflammatory response. *Life Sci*, 1993; 53(6): 105-10.

[32] Chikanza IC. Prolactin and neuroimmunomodulation: in vitro and in vivo observations. *Ann N Y Acad Sci*, 1999; 876: 119-30.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1386.6.3.3.9]