

بررسی اثر آمینوگوانیدین در پاسخ‌های رفتاری درد نوروپاتی مدل CCI در موش بزرگ آزمایشگاهی

محمدهادی یاریگرو (M.D)، حسینعلی صفاخواه* (M.Sc)، علی رشیدی پور (Ph.D)، مهرداد دهقانان (M.D)
دانشگاه علوم پزشکی سمنان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، آزمایشگاه درد نوروپاتی

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات مختلف نشان داده است که مکانیسم‌های مختلفی در ایجاد درد نوروپاتی دخالت دارند. افزایش نیتریک اکساید در محل آسیب با افزایش نفوذپذیری غشا سلول‌های هدف به عنوان یک عامل موثر بر درد نوروپاتی مطرح است. هدف این مطالعه، بررسی اثرات آمینوگوانیدین (AG) به عنوان یکی از مهارکننده‌های سنتز نیتریک اکساید بر علائم رفتاری درد نوروپاتی است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش از موش سفید بزرگ آزمایشگاهی نر از نژاد ویستار (۲۰۰-۳۰۰ گرم) استفاده کردید. ایجاد نوروپاتی به روش CCI با ایجاد چهار گره شل به فواصل یک میلی‌متر قبل از سه شاخه شدن عصب سیاتیک ایجاد شد. دو هفته بعد از ایجاد CCI و یک ساعت پس از تزریق آمینوگوانیدین با دوزهای ۷۵ mg/kg و ۱۵۰ و ۳۰۰، پدیده آلودینای مکانیکی و هایپرآلژزیای حرارتی بررسی گردید.

یافته‌ها: نتایج مطالعه ما نشان داد که ایجاد CCI باعث بروز نشانه‌های درد نوروپاتی در همه حیوانات شد. مقایسه دوزهای مختلف آمینوگوانیدین نشان داد که دوزهای ۷۵ mg/kg و ۱۵۰ و ۳۰۰ باعث کاهش آلودینای مکانیکی و هایپرآلژزیای حرارتی شد. هم‌چنین اثر دوز ۳۰۰ بر کاهش هایپرآلژزیای حرارتی به میزان معنی‌داری بیش‌تر از دو دوز دیگر (۷۵ و ۱۵۰) بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که آمینوگوانیدین می‌تواند نقش مهمی در کاهش درد نوروپاتی داشته باشد که این اثرات می‌تواند از طریق مهار تولید نیتریک اکساید اعمال شود. علاوه بر این، مهار دی‌آمین اکسیداز و یا اثرات آنتی‌اکسیدانی آن نیز می‌تواند در این پدیده موثر باشند که نیازمند بررسی‌های بیشتر است و با شناخت مکانیسم اثر آن می‌توان از آن جهت ساخت یک داروی جدید برای کاهش دردهای نوروپاتی در انسان بهره گرفت.

واژه‌های کلیدی: آمینوگوانیدین، نیتریک اکساید، درد نوروپاتی، تست‌های رفتاری، CCI

مقدمه

درد یکی از مشکلاتی است که انسان از دیرباز با آن روبرو بوده و برای فائق آمدن به آن تلاش بسیار نموده است. درد نوروپاتی نوعی درد مزمن است که به دنبال آسیب به اعصاب مرکزی یا محیطی به وجود می‌آید در این نوع آسیب فیبرهای حسی و حرکتی و هم‌چنین میدان دریافتی فیبرها دچار اختلال می‌شود و مهم‌ترین علامت آن افزایش درد است.

علائم درد نوروپاتی به صورت دردهای سوزشی خودبه‌خودی در محل آسیب، هایپرآلژزی (افزایش پاسخ به محرکی که در حالت طبیعی دردناک است) و آلودینیا (پاسخ به محرکی که در حالت طبیعی ایجاد درد نمی‌کند) می‌باشد [۱].
نیتریک اکساید (Nitric oxide, NO) به عنوان یک ماده میانجی و تعدیل‌کننده در بسیاری از عمل‌کردهای سیستم عصبی نقش دارد. مطالعات نشان داده این مولکول در فرایند

ساعت پس از تزریق کاهش می‌دهد. در این تحقیق آمینوگوانیدین در سه دوز ۳۰ mg/kg و ۱۰۰ و ۳۰۰ مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که به جز دوز ۳۰ mg/kg، در دو دوز دیگر آمینوگوانیدین به طور معنی‌داری آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژزیای حرارتی را به‌ویژه در یک ساعت پس از تزریق کاهش می‌دهد. همچنین این مطالعه نشان داد که دو مهارکننده نیتریک‌اکساید سنتتاز دیگر نیز، آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژزیای حرارتی را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد [۷].

در بررسی دیگری اثر هم‌زمان آمینوگوانیدین و رفککسیب (Rofecoxib) که یک مهارکننده سیکلو‌اکسیژناز-۲ (Coxe-2 inhibitor) می‌باشد مورد ارزیابی قرار گرفت. طی این بررسی نشان داده شد که آمینوگوانیدین در یکی از دو دوز ۱۰۰ و ۳۰۰ mg/kg به همراه رفککسیب در یکی از دو دوز ۱۰ و ۳۰ mg/kg بیش از استفاده از رفککسیب به تنهایی احساس درد در موش‌های سوری را کاهش می‌دهد [۸].

با توجه به پیچیدگی مکانیسم‌های موثر در درد نوروپاتی و عدم نتیجه‌گیری قطعی در مورد مکانیسم‌های دخیل در آن و گزارشات متناقضی که در جهت شناسایی عوامل ایجادکننده و افزایش‌دهنده پاسخ به محرک‌های دردوزا و غیردردوزا بیان شده است، هدف این مطالعه بررسی نقش آمینوگوانیدین در این فرآیند است.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در این مطالعه تجربی از موش‌های صحرانی (Rat) نر بالغ از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده گردید. موش‌ها از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات دانشگاه علوم پزشکی سمنان تهیه و در یک اتاق کنترل شده از نظر حرارت و رطوبت در یک سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفته و با درجه حرارت ثابت 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تشکیل حافظه، احساس جنسی، رفتار تهاجمی و تغذیه‌ای نقش دارد [۲].

هم‌چنین نقش NO، که به عنوان یک رادیکال آزاد پیام‌بر با قابلیت انتشار بالا است و توسط تعدادی از انواع سلول‌ها تولید می‌شود و در محیط از طریق افزایش نفوذپذیری غشاء عمل می‌کند در درد نوروپاتی مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات نشان داده است که به دنبال آسیب عصبی میزان NO در ناحیه آسیب‌دیده افزایش می‌یابد [۳].

NO یک رادیکال آزاد گازی است که به عنوان یک پیام‌بر فعال در ایجاد دردهای نوروپاتی دخیل می‌باشد. NO از آمینواسید L آرژنین توسط نیتریک‌اکساید سنتتاز (NOS) سنتز می‌شود. تاکنون سه نوع NOS شناسایی شده است: نوع عصبی (eNOS)، نوع اندوتلیال (eNOS) و نوع ایمونولوژیک (iNOS) [۴]. در اثر آسیب بافتی یا التهاب، ابتدا nNOS فعال شده و به دنبال آن فعالیت iNOS افزایش یافته و باعث افزایش سطح NO در محیط می‌شود [۵].

آمینوگوانیدین (AG) یکی از مولکول‌هایی است که در فرآیند تولیدرا مختل می‌کند. آمینوگوانیدین به عنوان مهارکننده سنتز نیتریک‌اکساید (NOS inhibitor) عمل می‌کند و باعث کاهش NO می‌شود. هم‌چنین نشان داده شده است که آمینوگوانیدین از رتینوپاتی و نوروپاتی دیابتی جلوگیری می‌کند و از تشکیل AGE'S (Advanced glycation end products) جلوگیری کرده و دی‌آمین‌اکسیداز را مهار می‌کند [۶].

در یک مطالعه نشان داده شد که آنالوگ‌های نیتریک‌اکساید باعث افزایش آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژزیای حرارتی می‌گردد. هم‌چنین مشخص شده است که هایپرآلژزیای حرارتی با تزریق پیش‌سازهای نیتریک‌اکساید از جمله L آرژنین افزایش می‌یابد [۷]. در همین مطالعه نشان داده شد که سه مهارکننده سنتز نیتریک‌اکساید (آمینوگوانیدین، L نیتروارژنین متیل‌استراز و ۷-نیتر و ایندازول) در دوزهای متفاوتی به طور معنی‌داری آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژزیای حرارتی را به‌ویژه در یک

دارو: داروی مورد استفاده در این مطالعه آمینوگوانیدین است، این دارو در سالین ایزوتونیک حل شده و به میزان (۷۵ و ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم) در روز چهاردهم بعد از عمل جراحی به روش داخل صفاقی (IP) ۶۰ دقیقه قبل از انجام تست‌های رفتاری بر حسب گروه مورد مطالعه تزریق گردید.

روش ایجاد نوروپاتی: جهت ایجاد نوروپاتی از مدل CCI به روش Bennett & Xie استفاده گردید [۹]. بعد از بی‌هوش نمودن (به وسیله مخلوط کتامین و رومیپان (نسبت ۸ به ۱) با دوز ۵۰ mg/kg به صورت تزریق IP حیوان، موهای بالا و پشت ران حیوان را کاملاً تراشیده و با استفاده از تیغ بیستوری شکافی به طول ۲ سانتی‌متر بر روی ران پای چپ ایجاد کرده پس از بریدن عضلات ناحیه و رویت قسمت مشترک سه شاخه عصب سیاتیک با استفاده از ۲ میلیه کوچک شیشه‌ای بافت‌های اطراف عصب را جدا کرده و به وسیله نخ بخیه کات کوت ۴/۰ چهار گره شل به فواصل یک میلی‌متر قبل از سه شاخه شدن عصب زده می‌شد گره‌ها به شکلی ایجاد می‌گردید که اختلالی در جریان خون عصب به وجود نیاید. سپس با استفاده از نخ بخیه ۴/۰ سیلک عضله و پوست به صورت جداگانه دوخته می‌شدند در گروه Sham بعد از رویت عصب سیاتیک، بدون هیچ‌گونه دست‌کاری عضله و پوست دوخته شدند.

گروه‌های آزمایش: ۴۰ عدد موش نر از نژاد ویستار در ۵ گروه ۸ تایی مطالعه گردید که ۳ گروه، گروه‌های آمینوگوانیدین (۷۵ و ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم) و یک گروه، گروه sham و یک گروه، گروه CCI بدون تزریق دارو بود.

تست‌های رفتاری: رفتارهای زیر در روز چهاردهم بعد از عمل جراحی مورد سنجش قرار گرفت:

الف- آلودینیای مکانیکی. حیوانات را بر روی یک شبکه سیمی و در داخل یک محفظه پلاستیکی گلاس به ابعاد ۲۰×۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر قرار داده و بعد از عادت کردن حیوان به محیط جدید از تارهای مختلف VonFrey

جهت سنجش آلودینیای مکانیکی استفاده شد. در این آزمایش از تارهای ۲ تا ۶۰ گرم (۶۰-۲۶-۱۵-۱۰-۸-۶-۴ گرم) ساخت شرکت Stolting استفاده گردید. از کم‌ترین شماره تار شروع کرده و به ترتیب در صورت عدم پاسخ شماره‌های بالاتر انتخاب می‌گردید. هر تار را سه بار متوالی به فاصله ۵ ثانیه و هر بار به مدت ۱ ثانیه به کف پای چپ حیوان فشار داده اگر ۲ بار متوالی پاسخ داده می‌شد (پای خود را بلند کند) به عنوان آستانه پاسخ بوده و دیگر آزمایش ادامه پیدا نمی‌کرد. در صورتی که حیوان به تار شماره ۶۰ نیز پاسخ نمی‌داد عدد ۶۰ به عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته می‌شد.

ب- هایپرآلژیای حرارتی: در این تست حیوان را در محفظه مخصوص دستگاه Plantar test ساخت شرکت Ugo Basil قرار داده و بعد از عادت کردن حیوان به محیط جدید منبع تابش اشعه مادون قرمز را در زیر پای حیوان قرار داده و تاباندن اشعه مادون قرمز با شدت ۶۰ را شروع کردیم. این آزمایش بر روی هر دو پای حیوان و سه بار متوالی به فاصله ۵ دقیقه انجام شد. زمان قطع آزمایش ۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد. اختلاف میانگین زمان تحمل پای راست از پای چپ در حیوان به عنوان پاسخ در نظر گرفته شد.

بررسی آماری: نتایج حاصل از تست‌های رفتاری توسط نرم‌افزار SPSS و با استفاده از آزمون ANOVA، در سطح $P < 0.05$ آنالیز و داده‌ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{Sem}$ گزارش شدند.

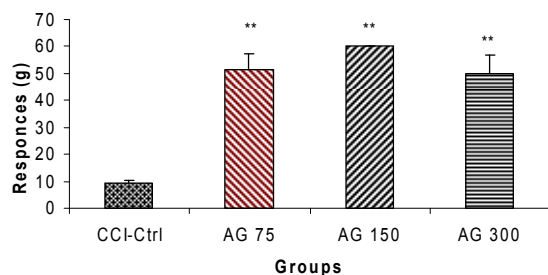
نتایج

آزمایش ۱. هدف این آزمایش بررسی ایجاد درد در نمونه‌هایی است که مدل CCI در آن‌ها ایجاد شده است و همچنین بررسی اثرات این روش بر پاسخ‌های رفتاری ناشی از آن است.

آلودینیای مکانیکی:

شکل ۱ الف، اثرات ایجاد نوروپاتی به روش CCI بر پدیده آلودینیای مکانیکی (تست Von Frey) را نشان می‌دهد.

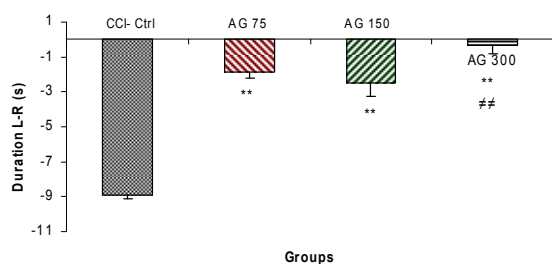
واریانس یک طرفه حاکی از وجود تفاوت بین این گروه‌ها و گروه CCI می‌باشد [$F_{۴,۳۵} = ۱۹/۱۷$ و $(P < ۰/۰۰۰۱)$]. آنالیز بعدی با تست توکی نشان داد که آمینوگوانیدین در همه دوزها مختلف قادر است به میزان معنی‌داری آلودینیای مکانیکی را در موش‌های CCI کاهش دهد ($P < ۰/۰۱$) همچنین تفاوت معنی‌داری بین دوزهای مختلف آمینوگوانیدین در کاهش آلودینیای مکانیکی وجود نداشت.



شکل ۲. بررسی اثر دوزهای مختلف آمینوگوانیدین بر آلودینیای مکانیکی (تست Vonfrey). داده‌ها به صورت $Mean \pm Sem$ برای ۸ موش می‌باشد. $P < ۰/۰۱$ ** در مقایسه با گروه CCI

هایپرآلژیای حرارتی

شکل ۳، اثرات دوزهای مختلف آمینوگوانیدین را بر پدیده هایپرآلژیای حرارتی نشان می‌دهد.

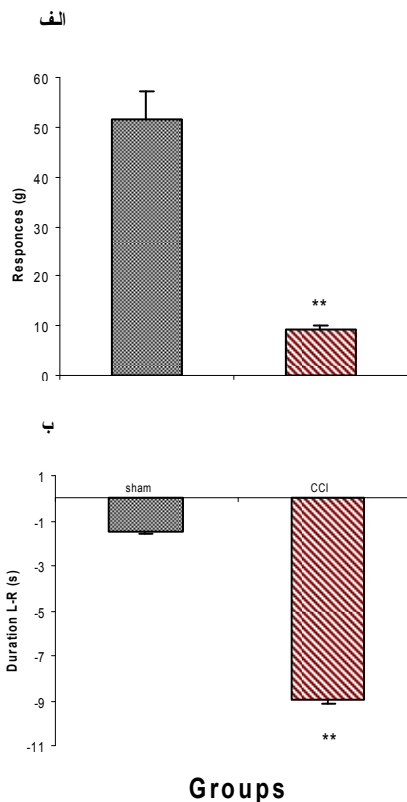


شکل ۳. اثرات دوزهای مختلف آمینوگوانیدین بر هایپرآلژیای حرارتی (پلانتار تست). داده‌ها به صورت $Mean \pm Sem$ برای ۸ موش می‌باشد. $P < ۰/۰۱$ ** درمقایسه با CCI و $P < ۰/۰۱$ ## درمقایسه با گروه‌های AG 150 و AG 75

آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از وجود تفاوت بین این گروه‌ها و گروه CCI می‌باشد [$F_{۴,۳۵} = ۵۶/۶۹$ و $(P < ۰/۰۰۰۱)$]. آنالیز بعدی با تست توکی نشان داد که آمینوگوانیدین در همه دوزها قادر است به میزان معنی‌داری هایپرآلژیای حرارتی را در موش‌های CCI کاهش دهد ($P < ۰/۰۱$).

آنالیز آماری نشان داد که پاسخ فوق در گروه CCI به میزان معنی‌داری بیش‌تر از گروه Sham می‌باشد ($P < ۰/۰۱$). هایپرآلژیای حرارتی:

شکل ۱، اثرات ایجاد نورویپاتی به روش CCI را بر روی هایپرآلژیای حرارتی (Plantar test) نشان می‌دهد. آنالیز آماری نشان داد که پاسخ فوق در گروه CCI به میزان معنی‌داری بیش‌تر از گروه Sham می‌باشد ($P < ۰/۰۱$).



شکل ۱. اثرات ایجاد نورویپاتی به روش CCI بر الف) پدیده آلودینیای مکانیکی (تست Von Frey) ب) پدیده هایپرآلژیای حرارتی (Plantar test) داده‌ها به صورت $Mean \pm Sem$ برای ۸ موش می‌باشد. $P < ۰/۰۱$ **

آزمایش ۲. هدف این آزمایش بررسی اثر دوزهای مختلف آمینوگوانیدین (۷۵ و ۱۵۰ و ۳۰۰) بر پاسخ‌های رفتاری ناشی از مدل CCI بود.

آلودینیای مکانیکی

شکل ۲، اثرات دوزهای مختلف آمینوگوانیدین را بر روی آلودینیای مکانیکی (تست von Frey) نشان می‌دهد. آنالیز

داده شد که شناخت اثرات پیش‌سازها، آنالوگ‌ها و مهارکننده‌های نیتریک‌اکساید، بر شناخت دقیق اثرات نیتریک‌اکساید در دردهای نوروپاتی بسیار مهم است. در این تحقیق نشان داده شد که آنالوگ‌های نیتریک‌اکساید از جمله سدیم نیتروپروساید باعث افزایش آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژیای حرارتی می‌گردد. هم‌چنین مشخص شده است که هایپرآلژیای حرارتی با تزریق پیش‌سازهای نیتریک‌اکساید از جمله L- آرژنین افزایش می‌یابد [۷].

در بخش دیگری از این مطالعه که بر روی مهارکننده‌های سنتز نیتریک‌اکساید انجام گرفته است، سه مهارکننده: آمینوگوانیدین، L- نیتروآرژنین متیل‌استراز و ۷- نیترو ایندازول، مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج تحقیق نشان داد که آمینوگوانیدین، مهارکننده سنتز نیتریک‌اکساید از طریق مهار نسبی آنزیم نیتریک‌اکساید سنتتاز نوع ایمونولوژیک می‌باشد. در این تحقیق آمینوگوانیدین در سه دوز ۳۰ mg/kg و ۱۰۰ و ۳۰۰ mg/kg مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که به جز دوز ۳۰۰ mg/kg، در دو دوز دیگر آمینوگوانیدین به طور معنی‌داری آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژیای حرارتی را به‌ویژه در یک ساعت پس از تزریق کاهش می‌دهد. هم‌چنین این مطالعه نشان داد که دو مهارکننده نیتریک‌اکساید سنتتاز دیگر نیز، آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژیای حرارتی را در بالاترین دوز مورد استفاده در تحقیق، به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد [۷].

این یافته‌ها با نتایج مطالعه انجام گرفته در تحقیق ما مطابقت داشت. ضمن این که در تحقیق ما نشان داده شد که آمینوگوانیدین در تمامی دوزهای مورد استفاده (۳۰۰ و ۱۵۰ و ۷۵ mg/kg) آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژیای حرارتی را به شکل معنی‌داری کاهش می‌دهد و دوز ۳۰۰ mg/kg، هایپرآلژیای حرارتی را به طور مشخصی بیش از دو دوز دیگر کاهش می‌دهد.

در مطالعه‌ای که احساس درد توسط محلول فرمالین ۲/۵٪ (فرمالین تست) مورد ارزیابی قرار گرفت، اثرات هم‌زمان آمینوگوانیدین در دوزهای ۱۰ و ۳۰ و ۱۰۰ و ۳۰۰ و

هم‌چنین تفاوت بین دوز آمینوگوانیدین ۳۰۰ mg/kg با دو دوز دیگر معنی‌دار بود، بدین معنی که اثرات کاهش‌ی این دوز بر هایپرآلژیای حرارتی بیش‌تر از دو دوز دیگر بود ($P < 0.01$).

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های اصلی این تحقیق عبارتند از:

۱- ایجاد مدل CCI در موش‌های مورد آزمایش، احساس درد و آلودینیای مکانیکی، آلودینیای حرارتی و هایپرآلژیای حرارتی را افزایش می‌دهد.

۲- تزریق آمینوگوانیدین در دوزهای ۷۵ و ۱۵۰ و ۳۰۰ mg/kg آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژیای حرارتی را کاهش می‌دهد. که این کاهش در دوز ۳۰۰ mg/kg در هایپرآلژیای حرارتی بیش از دو دوز دیگر است.

نتایج این تحقیق نشان داد که به دنبال این روش، میزان درد و هم‌چنین پاسخ به محرک‌های حرارتی و مکانیکی غیر دردناک و محرک‌های حرارتی دردناک به طور واضحی افزایش می‌یابد. این نتایج با نتایج دیگر تحقیقات انجام شده روی این مدل که از جمله آن‌ها تحقیق Bennett & Xie در سال ۱۹۸۸ بود، مطابقت داشت [۹].

تحقیقات گذشته نشان داده است که نیتریک‌اکساید به عنوان یک رادیکال آزاد گازی، به عنوان یک پیام‌بر فعال در ایجاد دردهای نوروپاتی دخیل می‌باشد. این مولکول از پیش‌ساز خود توسط سه نوع نیتریک‌اکساید سنتتاز ساخته می‌شود (nNOS و iNOS و eNOS) [۴]. هم‌چنین در مطالعات بیان شده است که هر سه نوع ایزوفرم نیتریک‌اکساید که توسط آنزیم‌های فوق سنتز می‌شود، پس از ایجاد نوروپاتی در محیط آسیب دیده افزایش یافته و موجب افزایش درد می‌گردد [۵].

در مطالعه‌ای که بر روی پیش‌سازهای نیتریک‌اکساید و آنالوگ‌های نیتریک‌اکساید و هم‌چنین مهارکننده‌های نیتریک‌اکساید سنتتاز انجام گرفت و اثرات آن‌ها بر روی نوروپاتی ناشی از مدل CCI مورد ارزیابی قرار گرفت نشان

و همچنین با توجه به گزارشات متناقض و متفاوتی که درباره مکانیسم‌های اثرگذاری آمینوگوانیدین در کاهش آسیب‌های مغزی و کاهش درد نورویاتی وجود دارد، بررسی‌های بیش‌تر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند قدردان اعضای گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان به خاطر همکاری بی‌دریغ آن‌ها باشند.

منابع

- [1] Bennett G.J. Neurophatic pain: An overview, in: Borsook D., Ed. progress in pain reserch and management. IASP press, 1997; pp:109-113.
- [2] Warembourg M, Leroy D. and Jolivet A. Nitric oxide synthase in the guinea pig preoptic area and hypothalamus: distribution, effect of estrogen, and colocalization with progesterone receptor. *J Comp Neurol* 1999; 407: 207-227.
- [3] Nilsson BO. Biological effects of aminoguanidin: an update. *Inflamm Res* 1999; 48: 509-515.
- [4] Munger BL, Bennett GJ. and Kajander KC. An experimental painful peripheral neuropathy due to nerve constriction. *Exp Neurol* 1992; 118: 204-214.
- [5] Zimmermann M. Pathobiology of neuropathic pain, *Eur J Pharmacol*. 2001; 429: 23-37.
- [6] Mc Mahan S.B. Neuropathic pain mechanism. *Pain*. 2002 An update review 155-156.
- [7] Naik AK, Tandan SK, Kumar D, and Dudhgaonkar SP. Nitric oxide and its modulators in chronic constriction injury-induced neuropathic pain in rats. *Eur J Pharmacol* 2006; 530: 59-69.
- [8] Dudhgaonkar SP, Kumar D, Naik A, Devi AR, Bawankule DU, and Tandan SK. Interaction of inducible nitric oxide synthases and cyclooxygenase-2 inhibitors in formalin-induced nociception in mice. *Eur J Pharmacol* 2004; 492: 117-122.
- [9] Bennett GJ. and Xie Yk. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988; 33: 87-107.
- [10] Wolf DJ, Lubeskie A. Aminoguanidine is an isoform-selective, mechanism-based in activator of nitric oxide synthase. *Arch Biochem Biophys* 1995; 316: 290-301.
- [11] Iadecola C, Zhang F, Casey R, Nagayama M. and Ross Me. Delayed reduction of ischemic brain injury and neurological deficits in mice. Lacking the inducible nitric oxide synthase gene. *J Neuroscience* 1997; 17: 9157-9164.
- [12] Giardino I, fard AK., Hatchell DL. and Brownlee M. Aminoguanidine inhibits reactive oxygen species formation, lipid peroxidation, and oxidant-induced apoptosis. *Diabetes* 1998; 47: 1114-1120.
- [13] Yildiz G, Demiryurek AT, Sahin-Erdemil I. and Kanzik I. Comparison of antioxidant activities of aminoguanidine, methylguanidine and guanidine by luminol-enhanced chemiluminescence. *Br J pharmacol* 1998;124: 905-910.

رفککسیب (یک مهارکننده سیکلو اکسیژناز-۲) مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه اثر آمینوگوانیدین در دو دوز ۱۰۰ mg/kg و ۳۰۰ با رفککسیب در کاهش احساس درد در موش‌های سوری مشخص گردید [۸].

در یک مطالعه دیگر نشان داده شد که آمینوگوانیدین اثر محافظتی خود را احتمالاً از طریق مهار نسبی نیتریک‌اکساید سنتتاز نوع ایمونولوژیک انجام می‌دهد [۱۰]. اما در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد که بعید به نظر می‌رسد که اثرگذاری آمینوگوانیدین بر اندازه انفارکت مغزی مرتبط با اثر مهارتی آن بر روی نیتریک‌اکساید سنتتاز نوع ایمونولوژیک باشد زیرا در این تحقیق مشخص شد که iNOS در ۲۴ ساعت اول پس از شروع ایسکمی افزایش نمی‌یابد [۱۱].

مطالعات دیگر نشان داده‌اند که آمینوگوانیدین اثرات اضافی دیگری نیز علاوه بر نقش اصلی خود ایفا می‌کند. از جمله این‌که در یک مطالعه که بر روی نقش آمینوگوانیدین در پراکسیداسیون لیپیدها و همچنین اکسیدان‌ها انجام گرفت، بیان گردید که آمینوگوانیدین از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری کرده و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی عمل می‌نماید [۱۲].

در بررسی دیگری مشخص شد که آمینوگوانیدین نقش موثری در پاک کردن رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از آپوپتوز از طریق مهار دی‌آمین‌اکسیداز دارد. همچنین در این مطالعه نشان داده شد که آمینوگوانیدین از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می‌نماید. در این مطالعه تاکید شده است که آمینوگوانیدین می‌تواند نقش محافظتی خود را از طریق این اثرات، اعمال نماید [۱۳].

اما با توجه به این‌که آمینوگوانیدین یک مهارکننده نسبی سنتز نیتریک‌اکساید ایمونولوژیک می‌باشد و نقش نیتریک‌اکساید به ویژه در تغییرات عروق کوچک مشخص شده است، احتمال این‌که تغییرات عروقی یکی از مکانیسم‌های موثر بر عمل‌کرد نیتریک‌اکساید و آمینوگوانیدین بر درد نورویاتی و کاهش آن باشد وجود دارد. با توجه به این احتمال

Effects of aminoguanidin on the neuropathic behavioral responses of chronic constriction injury model in rat

Mohammad Hadi Yarigaravesh (M.D), Hossein Ali Safakhah (M.Sc)*, Ali Rashidi-Pour (Ph.D), Mehrdad Dehghanian (M.D)

Laboratory of Neuropathic Pain, Department and Research Center of Physiology, Semnan University Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received: 31 Jan 2009 Accepted: 10 Jun 2009)

Introduction: Previous studies have shown that different mechanisms are involved in neuropathic pain. Increasing nitric oxide (NO) in the location of injury may be an effective factor in neuropathic pain which, in turn, acts through increasing membrane permeability. The aim of this study was to examine the effects of aminoguanidin, a specific inhibitor of inducible nitric oxide synthetase (iNOS) on neuropathic pain behaviors.

Materials and Methods: Male Wistar rats (200-300 gram) were used. Chronic constriction injury (CCI) in the rats were produced by four loosely ligation that the distance between them is 1 millimeter before the triple branching of sciatic nerve. Two weeks later, the animals were tested for thermal hyperalgesia and mechanical allodynia. Aminoguanidine were injected (I.P) 60 min before test in doses of 75, 150 and 300 mg/kg.

Results: Our studies showed CCI induced neuropathic pain in all rats. All doses of aminoguanidin (75, 150, 300 mg/kg) significantly reduced mechanical allodynia and thermal hyperalgesia in compared with CCI group. Moreover, the effect of aminoguanidin on thermal hyperalgesia at dose of 300 mg/kg was significantly higher than two lower doses.

Conclusion: According to findings of this and other studies, aminoguanidin has an important influence in reducing neuropathic pain. This effect, at least in part, is mediated through inhibition of iNOS. Additionally, an inhibition of di-aminoxidase or anti oxidative effects may be contributed to inhibitory effects of aminoguanidin on neuropathic pain. Thus, further investigations can determine the mechanism of aminoguanidin effects in neuropathic Pain. Findings of this study open a new window for synthesis of new drugs for management of neuropathic pain in clinic.

Key Words: Aminoguanidin, Nitric oxide, Neuropathic pain, Behavioral test, CCI

* Corresponding author: Fax: +98 231 3354186; Tel: +98 231 3354186
safakhah@yahoo.com