



اثر ضدردی سیمواستاتین پس از بستن عصب سیاتیک

مهتاب محمدزاده: دانشجوی دکتری، گروه دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
احمد اصغری: دانشیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (* نویسنده مسئول)
dr.ahmad.asghari@gmail.com
شاهین حسن پور: استادیار، گروه علوم پایه، بخش فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

سیمواستاتین،
کاهش زمان تحمل درد،
موش صحرایی

زمینه و هدف: هدف اصلی این پژوهش، مطالعه‌ی اثر سیمواستاتین روی تحمل درد و ارزیابی آنتاگونیست‌ها به دنبال آسیب عصب سیاتیک در موش صحرایی بود.

روش کار: این تحقیق طی ۲ مرحله آزمایشی بر روی ۸۵ موش صحرایی نر بالغ و محدود‌وزنی ۱۸۰-۲۰۰ گرم، استفاده شد. تمامی حیوانات قبل از جراحی از نظر سلامت حرکتی ارزیابی شده و سپس تمامی موش‌ها با تزریق داخل صفاقی داروهای کتامین هیدروکلراید (۶۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بی‌هوش شدند و پس از اسکراب و آماده‌سازی اولیه پای راست حیوانات، آن‌ها را به پهلو چپ حالت گماری کرده و بر روی در پوست خلفی-خارجی ناحیه رانی پای چپ داده شد. عضلات و فاسیا را به آرامی کنار زده و پس از در معرض دید قرار گرفتن عصب سیاتیک، با استفاده از هموستات ریز عصب سیاتیک تحت فشار به مدت ۶۰ ثانیه قرار گرفت. به منظور ردیابی، محل آسیب را با بخیه زدن نزدیک‌ترین عضله به محل لیدگی با استفاده از نخ بخیه (-) ۵ سیلیک غیرقابل جذب نشانه‌گذاری کرده و سپس عضلات را کنار هم گذاشته و بافت زیرجلد و پوست به ترتیب با استفاده از نخ ویکریل (۴-۰) و نایلون (۳-۰) به روش ساده سرتاسری و تکی ساده بخیه شد. در آزمون فرمالین، سیمواستاتین، (۲ mg/kg) و (۴ mg/kg) یا سپروهیتادین (۴ mg/kg)، سایمیتیدین (۱۲.۵ mg/kg)، انجام شد. سپس تست فرمالین صورت گرفت و زمان لیسیدن اندازه‌گیری شد. حیوانات به ۴ گروه تقسیم شدند: گروه ۱: آسیب عصبی بدون درمان، گروه ۲ و ۳ و ۴ گروه‌های درمان با سیمواستاتین بود. موش‌های گروه ۲ (با دوز ۲ mg/kg) و گروه ۳ (با دوز ۴ mg/kg) و گروه ۴ (با دوز ۸ mg/kg) تحت درمان با سیمواستاتین قرار گرفتند. در هر گروه ۵ سر موش قرار گرفت که در دو بازه‌ی زمانی ۲ و ۴ هفته مورد ارزیابی قرار گرفتند. تحلیل آماری داده‌های حاصله با استفاده از نرم‌افزار IBM SPSS Statistics 26 (SPSS₂₅)، انجام شد.

یافته‌ها: یافته‌های توصیفی متغیرهای مورد مطالعه، شامل شاخص‌هایی از قبیل میانگین، انحراف معیار، خطای استاندارد و ... محاسبه و گزارش گردید.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که سیمواستاتین با دز ۸ mg/kg در کاهش زمان عکس‌العمل درد در گروه تحت درمان تاثیر دارد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Mohammadzadeh M, Asghari A, Hasanpour S. Analgesic Effect of Simvastatin after Sciatic Nerve Ligation. Razi J Med Sci. 2023;30(6): 106-115.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

Analgesic Effect of Simvastatin after Sciatic Nerve Ligation

Mahtab Mohammadzadeh: DVM student, Department of Veterinary Medicine, Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Ahmad Asghari: Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (* Corresponding Author) dr.ahmad.asghari@gmail.com

Shahin Hassanpour: Assistant Professor, Division of Physiology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background & Aims: Pain is divided into two main types, fast and slow. Pain receptors are composed of free nerve endings and use two separate pathways to transmit pain signals to the CNS. Sharp pain signals are produced by mechanical and thermal pain stimuli. These signals are transmitted to the spinal cord by peripheral nerves through A δ fibers at a speed of 3-15 m/s. On the contrary, slow and chronic pain signals are mainly produced by chemical pain stimuli, but sometimes stable mechanical or thermal stimuli can also produce these signals. These signals are transmitted to the spinal cord by C-type fibers at a speed of 0.5 to 2 m/s (1). The mechanisms of neuropathic pain are not fully known, but the mechanisms proposed in the pathogenesis of this pain include the role of glial cells as supporting cells of the central nervous system, changes in sodium and potassium voltage-dependent channels, afferents adjacent to the neuron. It is damaged. Different neural pathways are affected differently. Therefore, identification of these pathways is important in determining the analgesic and medicinal mechanisms from physiological aspects. Although there are many studies in this field, one of the existing problems is the rate of recovery and return of nerve activity after injury. The results of researchers' research have brought relatively acceptable results, which were not without problems. In the present research, due to the high incidence of peripheral nerve injuries caused by blows and fractures in humans and animals, efforts will be made to find a drug or drug combination to accelerate the healing process of damaged nerves following experimental sciatic nerve injury in the rat animal model. Therefore, the present study will be conducted in order to investigate the analgesic effects of simvastatin and its neurophysiological interaction with the involved systems following experimental sciatic nerve ligation in rats.

Methods: This research was used in 2 experimental phases on 85 adult male rats weighing 180-200 grams. These animals were transferred to the laboratory animal breeding and maintenance center of the veterinary school and were kept in standard mouse cages under standard conditions. All animals were evaluated for motor health before surgery, and then all mice were anesthetized by intraperitoneal injection of ketamine hydrochloride (60 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg), and after scrubbing and initial leg preparation The animals were placed on their left side and an incision was made in the posterior-external skin of the thigh area of the left leg. The muscles and fascia were gently removed and after exposing the sciatic nerve, the sciatic nerve was compressed for 60 seconds using a micro hemostat. In order to trace, the injury site is marked by suturing the muscle closest to the crush site using non-absorbable silk suture (0-5) and then the muscles are placed together and the subcutaneous tissue and skin are The sequence was stitched using vicryl thread (0-4) and nylon (0-3) in a simple all round and single stitch method. Then formalin test was done and licking time was measured. The animals were divided into 4 groups: group 1: nerve damage without treatment, group 2, 3 and 4 were treated with simvastatin. Mice in group 2 (with a dose of 2 mg/kg), group 3 (with a dose of 4 mg/kg) and group 4 (with a dose of 8 mg/kg) were treated with Sivastatin. There were 5 mice in each group and they were evaluated in two time intervals of 2 and 4 weeks.

Results: As seen in Figure 1, the injection of morphine (5 mg/kg) significantly reduced the pain time caused by the formalin test compared to the control group ($P<0.05$). The level of 4

Keywords

Simvastatin,
Reduction of Pain
Tolerance Time,
Rats

Received: 08/07/2023

Published: 09/09/2023

and 8 mg/kg simvastatin significantly decreased the pain time caused by the formalin test compared to the control group ($P<0.05$).

According to the results of the statistical analysis of repeated measurements of one factor, the summary of the analysis of variance of the changes in the duration of the animal's response to the stimulating effects of formalin affected by the effective dose (8 mg/kg) of simvastatin compared to naloxone during the acute and chronic phases is presented in Figure 2. Naloxone injection (2 mg/kg) had no effect on pain time caused by formalin test compared to the control group ($P>0.05$). The level of 8 mg/kg simvastatin significantly decreased the pain time caused by the formalin test compared to the control group ($P<0.05$). The combined injection of naloxone plus simvastatin significantly reduced the analgesic effects of simvastatin compared to the simvastatin alone group ($P<0.05$).

According to the results of the statistical analysis of the repeated measurements of one factor, the summary of the analysis of variance of the changes in the duration of the animal's response to the stimulating effects of formalin affected by the effective dose (8 mg/kg) of simvastatin compared to spiroheptadine during the acute and chronic phases is presented in Figure 3.

According to the results of the statistical analysis of the repeated measurements of one factor, the summary of the analysis of variance of the changes in the duration of the animal's response to the stimulating effects of formalin affected by the effective dose (8 mg/kg) of simvastatin compared to cimetidine during the acute and chronic phases is presented in graph No. 4 .

Conclusion: The aim of this study is the analgesic effects of simvastatin following experimental sciatic nerve ligation in rats. According to the obtained results, it was determined that the analgesic effects of simvastatin are dose-dependent and the findings of this test show that the effective dose (8 mg/kg) of simvastatin alone has been able to create a significant effect in reducing the painful effects of formalin in animals. It has also caused a significant decrease in the response time to formalin pain stimulus in animals. Antagonists naloxone, cyproheptadine and cimetidine were able to inhibit the analgesic effects in acute and chronic phase. Simvastatin activates the PI3K/Akt pathway and increases neurogenesis through BDNF and (Vascular endothelial growth factor) (12). Simvastatin increases the phosphorylation and expression of BDNF and VEGF gene in (Dentate gyrus) DG. As a result, cell proliferation increases and differentiation occurs in the DG area and brain recovery increases (14). Therefore, simvastatin may cause gene expression of growth factors, production of protein kinases, and subsequent induction of neurogenesis in the DG of the hippocampus, increasing dendritic branches through the activation of Akt through the signaling pathway (15). The effects of simvastatin on ischemia-reperfusion injury of the sciatic nerve in adult rats, as a result, administration of simvastatin before ischemia shows protective properties in nerve re-injury and improves blood supply again (16).

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Mohammadzadeh M, Asghari A, Hasanpour S. Analgesic Effect of Simvastatin after Sciatic Nerve Ligation. Razi J Med Sci. 2023;30(6): 106-115.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

مقدمه

درد به دو نوع اصلی تند و کند تقسیم می شود. گیرنده‌های درد از انتهای آزاد عصبی تشکیل شده‌اند و دو مسیر جداگانه (مسیر درد تیز و تند و مسیر درد مزمن و کند) را برای انتقال سیگنال‌های درد به CNS به کار می‌برند. سیگنال‌های درد تیز و تند به وسیله محرک‌های درد مکانیکی و حرارتی تولید می‌شوند. این سیگنال‌ها به وسیله اعصاب محیطی از طریق فیبرهای نوع A δ با سرعت ۳-۱۵ متر بر ثانیه به نخاع منتقل می‌شوند. برعکس سیگنال‌های درد مزمن و کند عمدتاً به وسیله محرک‌های درد شیمیایی تولید می‌شوند ولی گاهی محرک‌های پایدار مکانیکی یا حرارتی نیز می‌توانند این سیگنال‌ها را تولید کنند. این سیگنال‌ها توسط فیبرهای نوع C با سرعت ۰/۵ تا ۲ متر بر ثانیه به نخاع منتقل می‌شوند (۱). در علوم پزشکی و دامپزشکی، آسیب‌های ناشی از ضربه و پارگی اعصاب محیطی از درجه خفیف تا شدید دسته بندی می‌شود، این آسیب‌ها بسته به شدت و حدت آن از نقص حسی تا حرکتی را به دنبال خواهند داشت، پس از رخداد چنین آسیب‌هایی در اعصاب محیطی به خصوص در اندام‌های حرکتی باعث عدم حرکت (فلجی) و متعاقب آن خشکی و سفتی مفاصل، تحلیل رفتن عضلات و از کارافتادگی کامل اندام حرکتی رخ می‌دهد. محققان و پزشکان از دیر باز تاکنون روش‌های متعددی نظیر در مان‌های دارویی، استفاده از تکنیک‌ها و روش‌های فیزیوتراپی و همچنین انجام جراحی‌های اعصاب را به منظور درمان این اختلالات یا کم کردن از شدت آسیب وارده ارائه داده‌اند (۲). درد نوروپاتیکی حاصل از قطع یا تحت فشار قرارگرفتن عصب، یکی از دردهای رایج کلینیکی محسوب می‌شود که اغلب به ضد دردهای رایج از قبیل داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی و اپیوئیدها مقاوم می‌باشد. درد نوروپاتیکی نوعی درد مزمن است که از طریق آسیب به عصب محیطی ایجاد می‌شود. از طرفی بستن عصب محیطی و آسیب به آن باعث تشدید پاسخ به محرک‌های دردزا و غیردردزا (۳). سیمواستاتین داروی مهار کننده 3-هیدروکسی-3-متیل گلو تاریل کوآنزیم-آر دوکتاز است که در کاهش سطح کلاسترول و درمان ضربه مغزی کاربرد وسیعی دارد. این دارو لیپوفیلیک بوده و قادر است از سد خونی-مغزی عبور

کند. نشان داده شده است داروی سیمواستاتین دارای خاصیت ضد التهابی و تعدیل کننده سیستم ایمنی است. رادیکال‌های آزاد مولکول‌های فعال شده‌ای هستند که ممکن است منشا داخلی یا خارجی داشته باشند. یکی از مهمترین اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد شروع پراکسیداسیون لیپید می‌باشد که به تخریب غشای سلول منجر می‌شود. پراکسیداسیون لیپید باعث اختلال در سازمان‌بندی غشا و تغییر فعالیت آنزیم‌های وابسته به آن و پروتئین‌های دیگر می‌شود که همراه با آزاد کردن رادیکال‌های هیدروپراکسیل و آلکوپراکسیل به صورت بالقوه برای سلول مضر می‌باشد (۴). سیمواستاتین موجب افزایش بیان ژن پروتئین کیناز و نیتریک اکساید سنتتاز در مغز موش می‌شود. سیمواستاتین باعث افزایش نورون زایی در ناحیه شکنج دندان‌های شده و یادگیری را افزایش می‌دهد (۵). در مطالعه ای که Dunnyue Lu و همکارانش سال 2007 انجام دادند به بررسی تاثیرات استاتین‌ها بر حافظه، بقای نورونی و تراکم عروق موش‌ها پس از ضربه مغزی پرداختند. آنها نشان دادند که استاتین‌ها تراکم سلول‌های نورونی را به طرز چشمگیری افزایش می‌دهند و در نتیجه از مرگ نورون‌های آسیب دیده در منطقه جراحت و نواحی هیپوکامپ بر اثر ضربه مغزی جلوگیری می‌کنند (۶).

مکانیسم‌های ایجاد درد نوروپاتی به طور کامل شناخته شده نیست ولیکن مکانیسم‌های مطرح شده در پاتوژنز این درد شامل نقش سلول‌های گلیال به عنوان سلول پشتیبان سیستم عصبی مرکزی، تغییرات کانال‌های وابسته به ولتاژ سدیم و پتاسیم، آورانهای مجاور نورون‌های آسیب دیده می‌باشد. مسیرهای عصبی مختلف بطور متفاوتی تحت تأثیر قرار می‌گیرند. لذا شناسایی این مسیرها در تعیین مکانیسم‌های ضددردی و دارویی از جنبه‌های فیزیولوژی یک دارای اهمیت می‌باشد. اگرچه مطالعات بسیاری در این زمینه وجود دارد اما همچنان یکی از مشکلات موجود میزان بهبود و بازگشت فعالیت اعصاب پس از آسیب دیدگی است. نتایج حاصل از تحقیقات محققان، نتایج قابل قبول نسبی را به همراه داشته است که این نتایج عاری از مشکل نبوده است. در تحقیق حاضر به علت رخداد بالای آسیب‌های اعصاب محیطی ناشی از ضربات و

کرده و بر شی در پوست خلفی-خارجی ناحیه رانی پای چپ داده می‌شود. عضلات و فاسیا را به آرامی کنار زده و پس از در معرض دید قرار گرفتن عصب سیاتیک، با استفاده از نخ جراحی ۴-۰ بصورتی که ۵۰ درصد از عصب را تحت فشار قرار دهد بسته خواهد شد تا آسیب ایجاد شده برای همیشه باقی بماند. به منظور ردیابی، محل آسیب را با بخیه زدن نزدیک‌ترین عضله به محل له شدگی با استفاده از نخ بخیه (۵-۰) سیلک غیرقابل جذب نشانه‌گذاری کرده و سپس عضلات را کنار هم گذاشته و بافت زیرجلد و پوست به ترتیب با استفاده از نخ ویکریل (۴-۰) و نایلون (۳-۰) به روش ساده سرتاسری و تکی ساده بخیه می‌شوند.

پس از ایجاد آسیب عصب سیاتیک، حیوانات به مدت ۱۴ روز ریکاوری شده و سپس به مدت ۷ روز داروی مذکور را بصورت خوراکی دریافت خواهند کرد. مطالعه طی ۲ مرحله انجام شد.

در مرحله اول اثرات ضد درد دوز موثر دارو مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت که شامل ۵ گروه آزمایشی بود.

گروه اول به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد و آب مقطر به آن‌ها تزریق شد.

گروه دوم استفاده از دوز 2 mg/kg داروی سیمواستاتین به صورت گاوژ طی ۷ روز

گروه سوم استفاده از دوز 4 mg/kg داروی سیمواستاتین به صورت گاوژ طی ۷ روز

گروه چهارم استفاده از دوز 8 mg/kg داروی سیمواستاتین به صورت گاوژ طی ۷ روز

گروه پنجم تزریق دوز ۵ میلی گرم مورفین در مرحله دوم پس از مشخص شدن موثرترین دوز دارو، تقابل عمل اثرات ضد درد سطح موثر دارو با مسیرهای عصبی مورد ارزیابی قرار گرفت

این مرحله از آزمایش در ۳ مرحله انجام شد:

مرحله اول: گروه اول به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شده و درمانی صورت نگرفت و آب مقطر تزریق شد.

گروه دوم استفاده از دوز موثر 8mg/kg داروی سیمواستاتین به صورت گاوژ طی ۷ روز

شکستگی‌ها در انسان و حیوانات، تلاش بر یافتن دارو یا ترکیب دارویی به منظور تسریع روند التیام اعصاب آسیب دیده متعاقب آسیب تجربی عصب سیاتیک در الگوی حیوانی موش خواهد شد.

لذا مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات ضد درد سیمواستاتین و تداخل نوروفیزیولوژی یک آن با سیستم‌های دخیل متعاقب بستن تجربی عصب سیاتیک در موش صحرایی انجام خواهد شد.

روش کار

این تحقیق طی ۲ مرحله آزمایشی بر روی موش صحرایی نر بالغ و در محدوده وزنی ۱۸۰-۲۰۰ گرم انجام خواهد شد. موشها از بخش تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور تهیه و در قفس‌های مخصوص نگهداری خواهند شد. به منظور پرهیز از استرس و سازگار شدن حیوانات با محیط، هیچگونه آزمایشی به مدت یک هفته روی موشها صورت نخواهد گرفت و تمامی حیوانات تحت شرایط محیطی و تغذیه‌ای یکسان (دما، رطوبت، نور، نوع جیره غذایی و تعداد دفعات غذای یکسان) نگهداری خواهند شد و در چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعت نگهداری خواهند شدند. تغذیه موشها با استفاده از پلت آماده مخصوص حیوانات آزمایشگاهی صورت خواهد گرفت و آب نیز بصورت آزاد در اختیار حیوانات قرار خواهد گرفت. گروه‌های آزمایشی به مدت ۷ روز داروی مورد نظر را به صورت گاوژ دریافت خواهند کرد. پس از دریافت آخرین دوز دارویی تست‌های ضد درد طبق روش ذکر شده در ادامه متن، ارزیابی خواهند شد. پروتکل این مطالعه مطابق اصول اخلاقی مورد تأیید کمیته‌های بین‌المللی حمایت از حقوق حیوانات آزمایشگاهی انجام خواهد شد.

نحوه انجام جراحی: تمامی حیوانات قبل از جراحی از نظر سلامت حرکتی ارزیابی شده و سپس تمامی موشها با تزریق داخل صفاقی داروهای کتامین هیدروکلراید (60mg/kg) و زایلازین (10mg/kg) بیهوش شده و پس از اسکراب و آماده‌سازی اولیه پای راست حیوانات، آنها را به پهلو چپ حالت گماری

مدت زمانی (بر حسب ثانیه) که صرف لیسیدن، جویدن و گاز گرفتن پای تزریقی می شود (Licking Time)، در دوره‌های زمانی ۵-۰ دقیقه و سپس ۳۰-۱۵ دقیقه به عنوان شاخص درد اندازه‌گیری می‌شود (۷). در آزمایشاتی که در آنها تقابل عمل مسیره‌های ضد دردی بررسی خواهد شد، تزریق آنتاگونیست ۱۵ دقیقه قبل از خوراندن آخرین دوز دارو انجام خواهد شد و ۱۵ دقیقه پس از خوراندن آخرین دوز دارو، تزریق آنتاگونیست انجام خواهد شد و تست درد مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت. محفظه آزمون فرمالین از یک جعبه شفاف از جنس پلکسی گلاس با ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر تشکیل شده است که در زیر آن آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه نسبت به سطح افقی قرار دارد تا وضعیت کف پای حیوان کاملاً مشخص باشد و مشاهدات را آسان‌تر کند. در روز آزمایش، هر حیوان ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش، درون جعبه شیشه‌ای قرار داده می‌شود تا به محیط عادت کند.

تجزیه و تحلیل آماری: تحلیل آماری داده‌های حاصله با استفاده از نرم‌افزار IBM SPSS Statistics 26 (SPSS²⁵)، انجام شد. یافته‌های توصیفی متغیرهای مورد مطالعه، شامل شاخص‌هایی از قبیل میانگین، انحراف معیار، خطای استاندارد و ... محاسبه و گزارش گردید.

برای تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها، قبل از اجرای آزمون‌های آماری، آزمون نا پارامتری کولموگراف-اسمیرنوف (Z) بر روی داده‌ها در ۲ مرحله حاد و مزمن اجرا شد.

به منظور بررسی اثر هم‌زمان گروه‌های درمانی مورد مطالعه و زمان روی روند تغییرات مدت زمان عکس‌العمل حیوان به محرک درد حاصل از صفحه داغ و تزریق فرمالین از آنالیز آماری اندازه‌گیری‌های مکرر یک عاملی One-way repeated measures ANOVA استفاده شد. همچنین مقایسه درون‌گروهی در آنالیز واریانس یک‌طرفه توسط پس‌آزمون Tukey انجام شد.

نمودارها نیز در نرم‌افزار Excel 2016 رسم و نتایج به صورت Mean±STD گزارش شدند. $P < 0/05$ کمترین سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

گروه سوم تزریق داخل صفاقی دوز ۲ میلی گرم بر کیلوگرم نالوکسان
گروه چهارم استفاده توام از سیمواستاتین و تزریق داخل صفاقی نالوکسان
مرحله دوم:

گروه اول به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شده و درمانی صورت نگرفت و آب مقطر تزریق شد.
گروه دوم استفاده از دوز موثر 8mg/kg داروی سیمواستاتین به صورت گاوژ طی ۷ روز
گروه سوم تزریق داخل صفاقی دوز ۴ میلی گرم بر کیلوگرم سپروهپتادین
گروه چهارم استفاده توام از سیمواستاتین و تزریق داخل صفاقی سپروهپتادین
مرحله سوم:

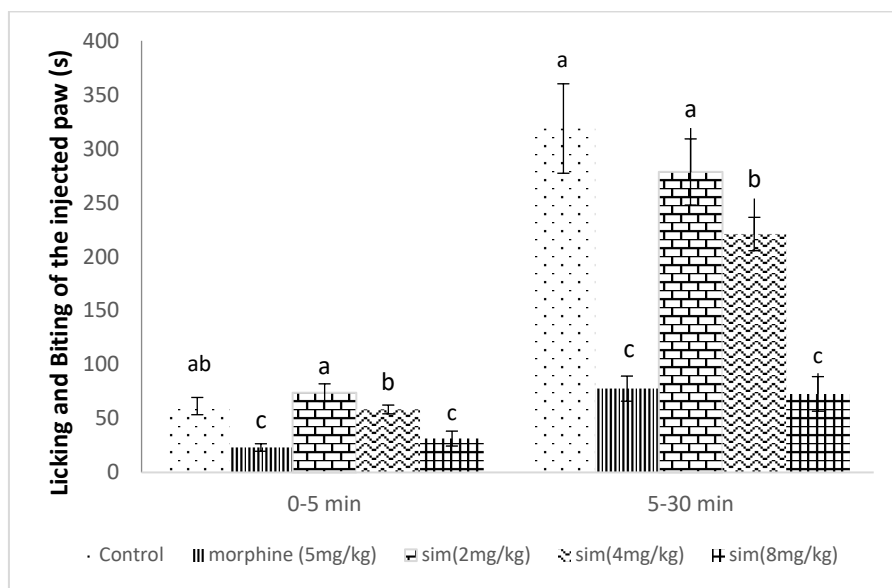
گروه اول به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شده و درمانی صورت نگرفت و آب مقطر تزریق شد.
گروه دوم استفاده از دوز موثر 8mg/kg داروی سیمواستاتین به صورت گاوژ طی ۷ روز
گروه سوم تزریق داخل صفاقی دوز 12.5 میلی گرم بر کیلوگرم سایمیتیدین
گروه چهارم استفاده توام از داروی سیمواستاتین و تزریق داخل صفاقی سایمیتیدین

نحوه انجام تست‌های ضد دردی: فرمالین به حجم ۵۰ μl و غلظت ۱٪ استفاده می‌شود. تزریق فرمالین در زیر پوست کف پای راست حیوان به صورت زیر جلدی (SC) انجام می‌گیرد. پس از تزریق فرمالین حیوان بلافاصله به جایگاه مشاهده برگردانده شده و به مدت ۶۰ دقیقه پاسخ‌های حیوان به محرک درزا ثبت می‌گردد. مهم‌ترین ویژگی آزمون فرمالین این است که جوندگان دو پاسخ به درد را نشان می‌دهند که ظاهراً دو مکانیسم مختلف دارد. مرحله اول بلافاصله بعد از تزریق فرمالین ظاهر می‌شود که به مدت ۵ دقیقه طول می‌کشد (۵-۰ دقیقه) و به عنوان فاز حاد در نظر گرفته می‌شود. بعد از ۵ دقیقه اول، به مدت ۱۰ دقیقه حیوان رفتار خاصی نشان نمی‌دهد. پس از ۱۵ دقیقه فاز دوم درد شروع شده و تا دقیقه ۶۰ طول می‌کشد (۳۰-۱۵ دقیقه) و به عنوان فاز مزمن در نظر گرفته می‌شود.

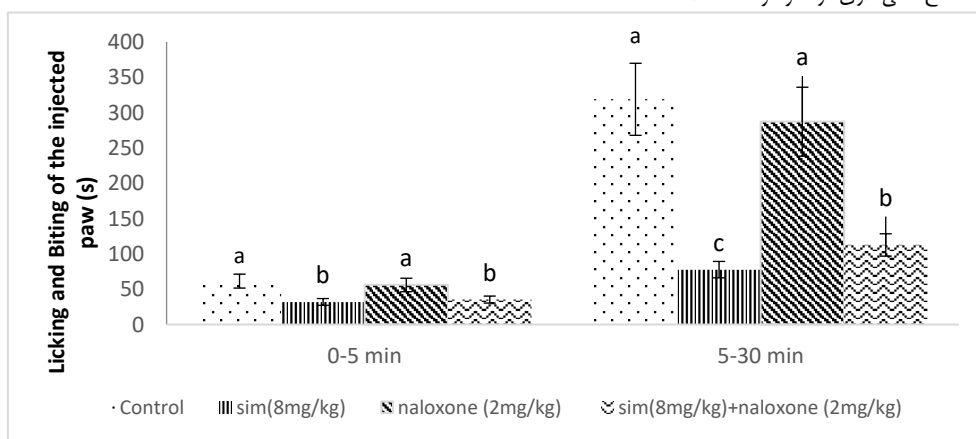
یافته‌ها

بررسی اثر تزریق سطوح مختلف سیمواستاتین در درد ناشی از تست فرمالین: همانطور که در نمودار ۱ دیده می‌شود، تزریق مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بطور معنی داری موجب کاهش زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل شد ($P < 0.05$). سطح ۴ و ۸ میلی گرم بر کیلوگرم سیمواستاتین بطور معنی داری موجب کاهش زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل شد ($P < 0.05$).

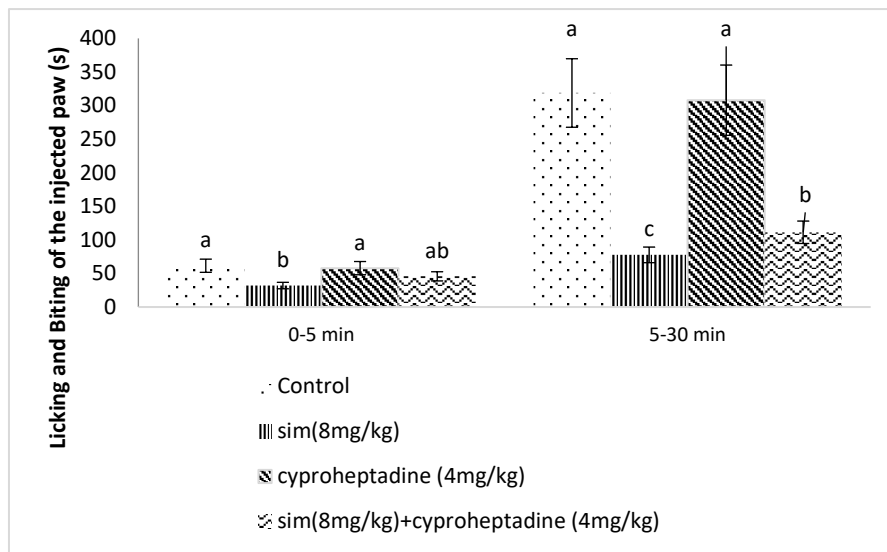
مقایسه اثر ضدردی سیمواستاتین با آنتاگونیست نالوکسان در مدل تست فرمالین: طبق نتایج آنالیز آماری اندازه‌گیری‌های مکرر یک عاملی، خلاصه تحلیل واریانس تغییرات مدت زمان پاسخ حیوان به اثرات تحریک‌کننده فرمالین متأثر از دوز مؤثر (8mg/kg) سیمواستاتین نسبت به نالوکسان در طول فاز حاد و مزمن در نمودار ۲ ارائه شده است. تزریق نالوکسان (۲ میلی گرم بر کیلوگرم) اثری بر زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل نداشت ($P > 0.05$). سطح ۸ میلی گرم بر کیلوگرم سیمواستاتین



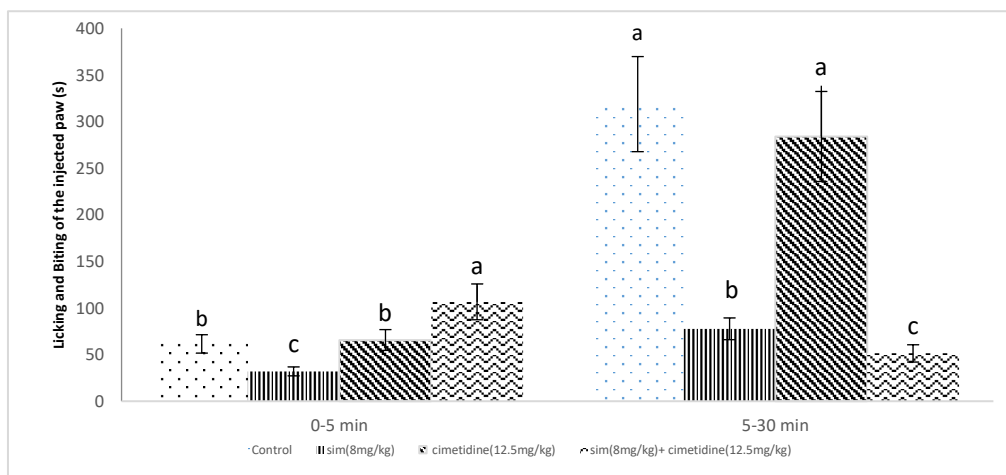
نمودار ۱- بررسی اثر تزریق سطوح مختلف سیمواستاتین در درد ناشی از تست فرمالین. حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی است. $P < 0.05$ سطح معنی داری در نظر گرفته شده است.



نمودار ۲- مقایسه مدت زمان عکس‌العمل به درد فرمالین در گروه دوز مؤثر سیمواستاتین با آنتاگونیست نالوکسان. نتایج به صورت $\text{Mean} \pm \text{STD}$ گزارش شده است و مقایسه میانگین‌ها با پس‌آزمون Tukey انجام شد.



نمودار ۳- مقایسه مدت زمان عکس العمل به درد فرمالین در گروه دوز مؤثر سیمواستاتین با آنتاگونیست سپروهپتادین. نتایج به صورت Mean±STD گزارش شده است و مقایسه میانگین‌ها با پس آزمون Tukey انجام شد.



نمودار ۴- مقایسه مدت زمان عکس العمل به درد فرمالین در گروه دوز مؤثر سیمواستاتین با آنتاگونیست سایمیتیدین. نتایج به صورت Mean±STD گزارش شده است و مقایسه میانگین‌ها با پس آزمون Tukey انجام شد.

بطور معنی داری موجب کاهش زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل شد ($P < 0/05$). تزریق توام نالوکسان به علاوه سیمواستاتین بطور معنی داری موجب کاهش اثرات ضد دردی سیمواستاتین در مقایسه با گروه سیمواستاتین به تنهایی شد ($P < 0/05$).

مقایسه اثر ضد دردی سیمواستاتین با آنتاگونیست سایمیتیدین در مدل تست فرمالین: طبق نتایج آنالیز آماری اندازه‌گیری‌های مکرر یک عاملی، خلاصه تحلیل واریانس تغییرات مدت زمان پاسخ حیوان به اثرات تحریک‌کننده فرمالین متأثر از دوز مؤثر سیمواستاتین نسبت به سایمیتیدین در طول فاز حاد و مزمن در نمودار شماره ۴ ارائه شده است. نتایج به صورت Mean±STD گزارش شده است و

مقایسه اثر ضد دردی سیمواستاتین با آنتاگونیست سپروهپتادین در مدل تست فرمالین: طبق نتایج آنالیز آماری اندازه‌گیری‌های مکرر یک عاملی، خلاصه تحلیل واریانس تغییرات مدت زمان پاسخ حیوان به اثرات تحریک‌کننده فرمالین متأثر از دوز مؤثر

مقایسه میانگین‌ها با پس‌آزمون Tukey انجام شد.

بحث

هدف از این مطالعه اثرات ضد درد سیمواستاتین متعاقب بستن تجربی عصب سیاتیک در موش صحرائی می‌باشد. در ارتباط با اثرات ضد درد سیمواستاتین در ایران و سایر کشورها تحقیقات کمی صورت گرفته است. با توجه به نتایج به دست آمده مشخص گردید که اثرات ضد درد سیمواستاتین وابسته به دوز است و یافته‌های این آزمون نشان می‌دهد که دوز مؤثر (8 mg/kg) سیمواستاتین به‌تنهایی توانسته است اثر قابل توجهی در کاهش آثار دردناک فرمالین در حیوان ایجاد نماید و همچنین سبب کاهش معنی‌دار مدت‌زمان پاسخ دهی به محرک دردزای فرمالین در حیوانات نیز گردیده است. آنتاگونیست‌های نالوکسان، سیپروهپتادین و سایمتیدین توانستند اثرات ضد درد را در فاز حاد و مزمن مهار کنند. سیمواستاتین با واسطه BDNF و (Vascular endothelial growth factor) باعث فعال شدن مسیر PI3K/Akt و افزایش نورونز می‌شود (۸). سیمواستاتین افزایش دهنده فسفوریلاسیون و بیان ژن BDNF و VEGF در DG (Dentate gyrus) می‌باشد. در نتیجه پرولیفراسیون سلولی افزایش یافته و تمایز در ناحیه DG و افزایش بهبودی مغز رخ می‌دهد (۹). بنابراین سیمواستاتین ممکن است از طریق فعال شدن Akt به واسطه مسیر سیگنالیک باعث بیان ژن فاکتورهای رشد، تولید پروتئین کینازها و به دنبال آن القای نورونز در DG هیپوکامپ، افزایش انشعابات دندریتی شود (۱۰). Wang و همکاران اثرات سیمواستاتین و آتورواستاتین را بر روی کاهش دژنره شدن هیپوکامپ و بهبود جریان نخاعی مطرح نمودند (۱۱). در مطالعه ای که Corso CR و همکارانش سال ۲۰۱۸ انجام دادند به بررسی اثرات ضد درد و ضد التهابی تجویز خوراکی سیمواستاتین در رت پرداختند و نشان دادند که باعث حفظ مورفولوژی آسیب عصب سیاتیک می‌گردد (۱۲). در مطالعه ای که de Souza LG و همکارانش سال ۲۰۲۱ انجام دادند نشان دادند اثرات PBM با استفاده از سیمواستاتین باعث بهبود عملکردی آسیب

عصب سیاتیک در موش گردید (۱۳). در مطالعه ای که Li AP و همکارانش که در سال ۲۰۰۷ انجام دادند به بررسی تاثیر سیمواستاتین در بازسازی عصب سیاتیک له شده پرداختند که تجزیه و تحلیل بافت شناسی نشان داد که تعداد آکسون‌های میلین‌دار و ضخامت غلاف میلین در حیواناتی که با سیمواستاتین در هفته ۴ پس از جراحی درمان شده اند بهتر از بقیه است (۱۴). اثرات سیمواستاتین بر آسیب ایسکمی-پرفیوژن مجدد عصب سیاتیک در موش‌های صحرائی بالغ که در نتیجه، تجویز سیمواستاتین قبل از ایسکمی انجام شده، خواص محافظت‌کننده ای را در آسیب مجدد عصب نشان می‌دهد و باعث بهبود خون‌رسانی مجدد می‌گردد (۱۵). نشان داده شده استاتین می‌تواند از طریق اصلاح محیط‌های درون سلولی یا خارج سلولی در برابر آسیب له شدگی عصب سیاتیک محافظت ایجاد کرده و آن را برای بازسازی مطلوب کند (۱۷). تجویز استاتین‌ها پس از عمل جراحی منجر به تسریع روند بازسازی و بهبود عملکرد حرکتی عصب له شده می‌گردد. این اثر ممکن است به دلیل خواص ضد التهابی، تعدیل‌کننده ایمنی یا ضد اکسیداتیو استاتین‌ها باشد (۱۸). نشان داده شده که سیمواستاتین باعث بهبود عملکردی و مورفولوژیکی عصب سیاتیک آسیب دیده در موش‌های صحرائی می‌گردد (۱۹). تغییرات میکروسکوپی و الکتروفیزیولوژیکی در بازسازی اعصاب سیاتیک موش‌های تحت درمان با سیمواستاتین و اندازه‌گیری‌های الکتروفیزیولوژیک نشان داده که سیمواستاتین بر بازسازی عصب تأثیر نمی‌گذارد، اما مشخص شد که باعث واکنش شدن شدید غلاف میلین عصب سیاتیک می‌شود. بیان شده است که این دارو به دلیل ایجاد تغییرات میلین، نوعی اختلال عملکرد ساختاری را القا می‌کند که باعث به تاخیر انداختن بازسازی می‌شود، اما تأثیری بر بازسازی عصبی ندارد (۲۰).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده مشخص گردید که اثرات ضد درد سیمواستاتین وابسته به دوز می‌باشد و یافته‌های این آزمون نشان می‌دهد که دوز مؤثر

10. Nelson R. Modeling microcircuits of realistic hippocampal neurons. 2004.

Arancio O, Chao MV. Neurotrophins, synaptic plasticity and dementia. *Curr Opin Neurobiol.* 2007;17(3):325-30.

11. Wang J-H, Ko GY, Kelly PT. Cellular and molecular bases of memory: synaptic and neuronal plasticity. *J Clin Neurophysiol.* 1997;14(4):264-93.

12. Corso CR, Martins DF, Borges SC, Beltrame OC, Telles JEQ, Buttow NC, et al. Effect of simvastatin on sensorial, motor, and morphological parameters in sciatic nerve crush induced-neuropathic pain in rats. *Inflammopharmacology.* 2018;26(3):793-804.

13. de Souza LG, Hendler KG, Marcolino AM, Kuriki HU, Cardoso RB, de Cássia Registro Fonseca M, et al. Photobiomodulation promotes neural regeneration when compared to simvastatin treatment in a sciatic nerve crush model. *Lasers Med Sci.* 2021;36(8):1591-7.

14. Li A, Zhao H, Zhao Z, Liu H, Guo Q, Li B, et al. The effect of simvastatin on the regeneration of sciatic nerve with crush injury in rats. *Chin J Appl Physiol.* 2007;23(2):246-51.

15. Gholami MR, Abolhassani F, Pasbakhsh P, Akbari M, Sobhani A, Eshraghian MR, et al. The effects of simvastatin on ischemia-reperfusion injury of sciatic nerve in adult rats. *Eur J Pharmacol.* 2008;590(1-3):111-4.

16. Gholami MR, Abolhassani F, Pasbakhsh P, Akbari M, Sobhani A, Sohrabi D, et al. The effects of simvastatin on functional recovery of rat reperfused sciatic nerve. *Pakistan J Biol Sci.* 2007;10(23):4256-60.

17. Pan HC, Yang DY, Ou YC, Ho SP, Cheng FC, Chen C-J. Neuroprotective effect of atorvastatin in an experimental model of nerve crush injury. *Neurosurgery.* 2010;67(2):376-89.

18. Ghayour MB, Abdolmaleki A, Rassouli MB. Neuroprotective effect of Lovastatin on motor deficit induced by sciatic nerve crush in the rat. *Eur J Pharmacol.* 2017;812:121-7.

19. Xavier A, Serafim K, Higashi D, Vanat N, Flauban KdC, Siqueira C, et al. Simvastatin improves morphological and functional recovery of sciatic nerve injury in Wistar rats. *Injury.* 2012;43(3):284-9.

20. Daglioglu E, Berker M, Demirci M, Tuncel M, Karabulut E, Erbeni A. Microscopic and electrophysiological changes on regenerating sciatic nerves of rats treated with simvastatin. *Folia Neuropathol.* 2010;48(1):49-56.

سیمواستاتین به میزان ۸ mg/kg توانسته است سبب کاهش معنی دار مدت زمان پاسخ‌دهی به محرک دردزا در حیوانات گردد. در راستای تعیین اثر ضد دردی سیمواستاتین پیشنهاد می‌شود عملکرد این دارو در سایر مسیرهای عصبی مورد بررسی قرار گرفته تا بتوان نتیجه‌ای جامع در این زمینه به دست آورد.

References

1. Stanger O. Physiology of folic acid in health and disease. *Curr Drug Metab.* 2002 Apr 1;3(2):211-23.

2. Guven M, Gölge UH, Aslan E, Sehitoglu MH, Aras AB, Akman T, Cosar M. The effect of Aloe vera on ischemia—Reperfusion injury of sciatic nerve in rats. *Biomed Pharmacother.* 2016 Apr 1;79:201-7.

3. Haghparast A, Ekhlaspour L, Navadeh KS, Ashraf GN. Role of gonadectomy in development of hyperalgesia induced by partial sciatic nerve ligation in male mice. *J Zahedan Univ Med Sci Health Serv.* 2006;8(1):37-45.

4. Dombrecht EJ, De Tollenaere CB, Aerts K, Cos P, Schuerwegh AJ, Bridts CH, Van Offel JF, Ebo DG, Stevens WJ, De Clerck LS. Antioxidant effect of bisphosphonates and simvastatin on chondrocyte lipid peroxidation. *Biochemical and biophysical research communications.* 2006 Sep 22;348(2):459-64.

5. Liao JK, Laufs U. Pleiotropic effects of statins. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 2005 Feb 10;45:89-118.

6. Zajac M, Pang T, Wong N, Weinrich B, Leang L, Craig JM, et al. Wheel running and environmental enrichment differentially modify exon-specific BDNF expression in the hippocampus of wild-type and pre-motor symptomatic male and female Huntington's disease mice. *Hippocampus.* 2010;20(5):621-36.

7. Cameron AA, Vansant G, Wu W, Carlo DJ, ILL CR. Identification of reciprocally regulated gene modules in regenerating dorsal root ganglion neurons and activated peripheral or central nervous system glia. *J Cell Biochem.* 2003;88(5):970-85.

8. Wu H, Jiang C, Gan D, Liao Y, Ren H, Sun Z, et al. Different effects of low-and high-dose insulin on ROS production and VEGF expression in bovine retinal microvascular endothelial cells in the presence of high glucose. *Graefes Arch Clin Experim Ophthalmol.* 2011;249(9):1303-10.

9. Xiu MH, Hui L, Dang YF, De Hou T, Zhang CX, Zheng YL, et al. Decreased serum BDNF levels in chronic institutionalized schizophrenia on long-term treatment with typical and atypical antipsychotics. *Progress Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry.* 2009;33(8):1508-12.