اثر ملاتونین بر درد ناشی از فرمالین در موش های سفید صحرایی نر

نعمت اله غیبی[۱]، محمد صوفی آبادی[۲*]، حمیده رسول پور[۳]، سودابه دهقان نژاد[۳]

۱) گروه بیوفیزیک و نانوتکنولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

۲) گروه فیزیو لوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

۳) دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

تاریخ دریافت: ۹۱/٤/۵ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱/۲۸

چکیده

مقدمه: ملاتونین از ترشحات اصلی غده پینه آل یا صنوبری بوده که نقش مهمی در تنظیم ریتم های فیزیولوژیک بدن دارد شواهد جدید از اثر آن بر سیستم درد حکایت می کند، برای مثال مشاهده شده که تجویز توام محیطی ملاتونین و مرفین سبب هم افزای بی دردی می گردد. هدف از این مطالعه بررسی اثر تزریق مرکزی ملاتونین بر درد ناشی از تجویز فرمالین در موش های سفید صحرایی نر می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه موش های سفید صحرایی نژاد NMRI به چهار گروه مساوی ده تایی شامل: کنترل، شم(داشتن کانول بدون دریافت ملاتونین) و دو گروه کانول دار دریافت کننده ملاتونین با غلظت های ug/kg ۰/۱ و ۰/۵ تقسیم شدند. سپس در بطن راست مغز سه گروه با روش استریوتاکسی کانول راهنما جاگذاری شد و بعد از ۷ روز استراحت و بازگشت به شرایط طبیعی، جهت بررسی درد ابتدا ملاتونین تزریق و نیم ساعت پس ازآن فرمالین(۲/۵ درصد) به مقدار۵۰ میکرولیتر در کف پای راست حیوانات تزریق گردید، سپس داده های مورد نظر از طریق شمارش تعداد دفعات لیسیدن پای مورد تزریق(Licking) و جمع کردن پوست پشت(Flinching) به مدت یک ساعت جمع آوری و مورد ارزیابی و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته های پژوهش: تجویز ملاتونین در فاز حاد علامت لیسیدن محل تزریق درد را در هر دو گروه ملاتونین نسبت به گروه کنترل کاهش داد.($P<0.05, 0.01$) در فاز مزمن نیز در گروه ملاتونین با دوز ۰/۵ میکروگرم، تعداد دفعات لیسیدن پای محل تزریق کاهش چشم گیری نسبت به گروه کنترل به ویژه در دقایق ۴۰- ۱۵ و ۶۰ آزمون داشت.($P<0.01$) هم چنین علامت جمع کردن پوست پشت در فاز حاد و در ابتدای مرحله مزمن آزمون، در گروه ملاتونین با دوز ۰/۵ میکروگرم کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل یافت.($P<0.05$) این رفتار در انتهای مرحله مزمن آزمون فرمالین به ویژه در دقایق ۶۰ و ۵۵ در هر دو گروه دریافت کننده ملاتونین تشدید شد.($P<0.01, 0.001$)

بحث و نتیجه گیری: نتایج مطالعه ما نشان داد که تزریق مرکزی ملاتونین اثر ضد دردی معنی داری را ایجاد می کند ولی الگوی ضد دردی آن ممکن است وابسته به زمان متفاوت باشد.

واژه های کلیدی: ملاتونین، آزمون فرمالین، موش سفید صحرایی، بطن مغز

* **نویسنده مسئول:** گروه فیزیو لوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

Email: Mohasofi@yahoo.com

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-05]

مقدمه

غده پینال دستگاهی نوراندوکرینی بوده که مهمترین محصول ترشحی آن، ملاتونین می باشد،(۱،۲). ملاتونین طی چندین مرحله آنزیمی از اسید امینه تریپتوفان سنتز شده و این هورمون به عنوان پاک کننده(Scavenger) رادیکال های آزاد سمی عمل نموده و دارای اثرات آنتی اکسیدان، ضد پیری و استرس بوده و تنظیم کننده سیستم ایمنی بدن نیز می باشد،(۳،۴). هم چنین نقش مهمی در سیستم خواب- بیداری و فعالیت غدد جنسی دارد،(۵). موثر بودن در درمان افسردگی و عفونت با HIV و انواع سرطان نیز به آن نسبت داده شده است،(۶). ترشح این هورمون تابع ریتم های سیرکادین بوده و اثرات خود را از طریق گیرنده های غشایی به انجام می رساند، که حضور آن ها در نواحی مختلف مغز پستانداران به اثبات رسیده است،(۷). نتایج تحقیقات دانشمندان حاکی از موثر بودن ملاتونین بر فعالیت و نیز شکل پذیری سیناپسی نورون های نواحی مختلف سیستم عصبی مرکزی است،(۸). درد از جمله تجاربی است که هر انسانی در طول عمر خود با آن مواجه می شود. ابتلا به برخی از دردها در دراز مدت اثرات نامطلوب روحی و روانی بر فرد تحمیل می کند به همین دلیل بشر همیشه به دنبال یافتن راه حلی برای از بین بردن و یا کاهش درد بوده و تاکنون تلاش های موثر زیادی در زمینه شناخت مکانیسم های درد و درمان انواع آن صورت گرفته است،(۹). در مطالعات رفتاری و الکتروفیزیولوژی از فرمالین رقیق شده به عنوان یک محرک دردزا به طور وسیعی استفاده می شود و این آزمون به عنوان مدل معتبری از درد کلینیکی شناخته شده است. این محرک اثر خود را در دو فاز نشان می دهد. فاز اول یا فاز حاد بلافاصله بعد از تزریق فرمالین شروع شده و به مدت ۵ دقیقه ادامه می یابد. دومین فاز ۱۵-۱۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین آغاز و تا حدود یک ساعت تداوم پیدا می کند. فاز اول نتیجه تحریک گیرنده های حس درد در پا بوده و دومین فاز هم به فرایندهای التهابی و تشدید درد بر اثر حساس شدن نورون های سیستم مرکزی درد مربوط می شود،(۱۰،۱۱). در مورد اثر تزریق محیطی ملاتونین بر درد مطالعاتی بر روی حیوانات صورت گرفته است. برای مثال مشاهده شده که تجویز توام ملاتونین و مرفین اثر بی دردی مرفین را تشدید می کند از سوی دیگر، اثبات شده که ملاتونین بر گیرنده های اوپیوییدی و گابا و گلوتاماتی در سیستم عصبی مرکزی اثرگذار است که این گیرنده ها در مسیرهای انتقال و یا تعدیل درد یافت می شوند،(۱۲،۱۳). بنا بر این احتمال می رود که تجویز مرکزی آن نیز واجد آثار بی دردی بوده که الگوی آن متفاوت از اثر تزریق محیطی باشد. لذا به منظور شناسایی دقیق تر مکانیسم اثر ضد دردی ملاتونین، در این مطالعه اثر تزریق مرکزی(درون بطن جانبی مغز) آن در شرایط القاء درد ناشی از فرمالین در موش های سفید نر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی از تعداد ۴۰ سر موش سفید صحرایی، نژاد NMRI (شرکت رازی ایران) با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. رت ها در شرایط روشنائی و تاریکی ۱۲ ساعته در قفس و در درجه حرارت و رطوبت مناسب نگه داری شده و آب و غذا به صورت آزادانه دریافت کردند. حیوانات در ۴ گروه ده تایی شامل: ۱-گروه کنترل ۲- گروه شم(دریافت حلال ملاتونین=اتانول ۲ درصد+سالین) ۳- گروه کانول دار(دریافت ملاتونین با غلظت ug/kg ۰/۱) و ۴- گروه کانول دار(دریافت ملاتونین با غلظت ug/kg ۰/۵) مورد بررسی قرار گرفتند.

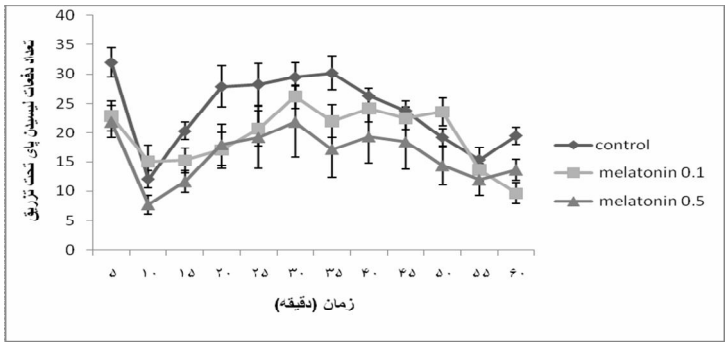
در ابتدا موش ها با تزریق گزیلازین و کتامین بی هوش و کانول استریل شماره ۲۷G، با استفاده از استریوتاکسی در بطن راست آن ها با مشخصات(AP=-0.92, ML=1.6, DV=3.5) قرار داده شد. آن گاه موش ها پس از ۷ روز استراحت وارد مرحله آزمون شدند. کلیه داروها از شرکت سیگما تهیه شد. به منظور سازگار شدن با محیط ۳۰ دقیقه قبل از تزریق، حیوانات به محیط آزمایشگاه منتقل شدند، سپس ملاتونین(در گروه شم حلال ملاتونین) به حجم ۵ میکرولیتر در داخل بطن مغز(با سرعت ۰/۲ میکرولیتر در دقیقه از طریق سوزن ۳۰G) تزریق شده و نیم ساعت بعد از آن مقدار ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد در کف پنجه پای عقبی راست موش ها تزریق

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-05]

گردید. بلافاصله بعد از تزریق فرمالین حیوانات تک تک در محفظه شیشه ای قرار گرفته و امتیازهای درد از طریق شمارش تعداد لیسیدن محل تزریق(Licking) و جمع کردن پوست پشت کمر(Flinching) به مدت یک ساعت و با فواصل زمانی ۵ دقیقه ثبت شدند. در انتها مغز حیوانات پس از بی هوشی جدا و پس از برش گیری محل تزریق تایید گردید. داده های جمع آوری شده در گروه های مختلف آزمون توسط ANOVA یک طرفه و به دنبال آن تست توکی مقایسه و تحلیل آماری شدند و مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان حد معنی دار تفاوت ها در نظر گرفته شد.

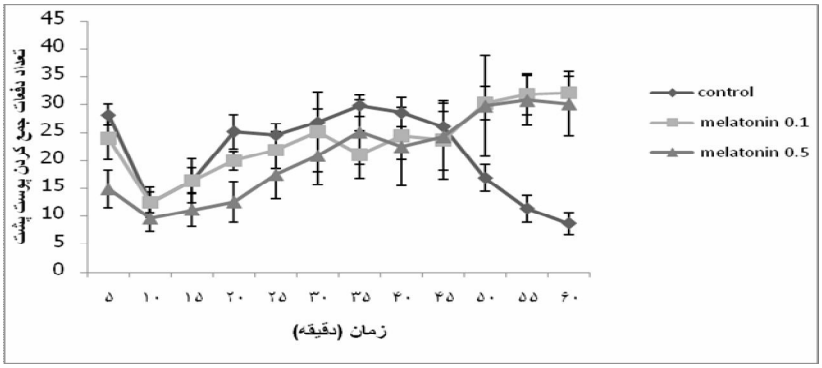
یافته های پژوهش

در این مطالعه هر دو فاز حاد و مزمن درد ناشی از تزریق فرمالین در تمام گروه ها مشاهده گردید. نتایج نشان داد که تفاوت آماری بین گروه شاهد با گروه شم وجود نداشت. تجویز ملاتونین در فاز حاد علامت لیسیدن محل تزریق درد(Licking) را در هر دو گروه ملاتونین نسبت به گروه کنترل کاهش داد($P<0.05$, 0.01) که اثر ضد دردی دوز ۰/۵ میکروگرم آن قوی تر بود. در فاز مزمن نیز در گروه ملاتونین با دوز ۰/۵ میکروگرم، تعداد دفعات لیسیدن پای محل تزریق کاهش چشمگیری نسبت به گروه کنترل به ویژه در دقایق ۴۰- ۱۵ و ۶۰ آزمون داشت.($P<0.01$) هم چنین این علامت در گروه ملاتونین با دوز ۰/۱ میکروگرم، کاهش معنی داری در مقایسه با گروه کنترل در دقایق ۲۰-۱۵ و ۶۰ ($P<0.01$) و دقایق ۲۵ و ۳۵ ($P<0.05$) آزمون یافت.(شکل شماره ۱)



شکل شماره ۱. مقایسه میانگین عمل لیسیدن محل تزریق در دو گروه ملاتونین با گروه کنترل

هم چنین در فاز حاد آزمون، تجویز ملاتونین فقط در گروه ملاتونین با دوز ۰/۵ میکروگرم، علامت جمع کردن پوست پشت(Flinching) را نسبت به گروه کنترل کم کرد.($P<0.05$) ولی تجویز ملاتونین در فاز مزمن در گروه ملاتونین با دوز ۰/۵ میکروگرم، علامت جمع کردن پوست پشت را در ابتدای مرحله به ویژه در دقایق ۲۵-۲۰ آزمون($P<0.05$) کاهش چشمگیری داد اما این رفتار درد در انتهای مرحله درد مزمن ناشی از فرمالین به ویژه در دقایق ۶۰ و ۵۵ آزمون در هر دو گروه دریافت کننده ملاتونین تشدید یافت.($P<0.01,0.001$)(شکل شماره ۲)



شکل شماره ۲. مقایسه میانگین عمل جمع کردن پوست پشت در در دو گروه ملاتونین با گروه کنترل

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-05]

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر تاثیر تزریق مرکزی ملاتونین بر درد ناشی از فرمالین برای اولین بار بررسی شد. نتایج ما نشان داد که در هر دو فاز حاد و مزمن درد، ملاتونین در هر دو دوز موجب کاهش علایم درد می شود. این اثر وابسته به دوز بوده و کاهش درد با دوز ۰/۵ میکروگرم/کیلو وزن برجسته تر می باشد. یکی از پارامترهای مطالعه ما، رفتار جمع کردن پوست پشت بود که ملاتونین آن را در ابتدا کم ولی در انتهای مرحله مزمن(حدود ۴۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین) تشدید کرد. این پدیده بیانگر آن است که بی دردی حاصل از ملاتونین واجد الگوی خاصی می باشد یعنی در رابطه با تأثیر ملاتونین بر درد عامل وابستگی به زمان نقش دارد که ممکن است ناشی از نیمه عمرکوتاه این هورمون باشد. طبق گزارشات جدید ملاتونین نقش مهمی در تنظیم حساسیت به درد ایفا می کند،(۱۴،۱۵،۱۶). به عنوان مثال، در مطالعه ای که با تزریق هم زمان مرفین و ملاتونین به صورت درون صفاقی انجام شد، تجویز هم زمان این دو اثر سینرژیک بی دردی را سبب گردید،(۱۷). در تحقیق دیگری ملاتونین با روش های مختلف محیطی و در مدل های متنوع درد مثل صفحه داغ و از جمله آزمون فرمالین مورد ارزیابی قرار گرفت و اثر ضد دردی مناسبی از خود نشان داد،(۱۳). در همین رابطه از ملاتونین برای درمان التهاب مفصلی در موش که با تزریق آب اکسیژنه القا می شد استفاده گردید و مشاهده گردید که این هورمون از طریق کاهش فاکتورهای پیش التهابی و سیتوکین های التهابی موجب کاهش استئو ارتریت می شود،(۴). در مطالعه دیگری از دکسترومتورفان و ملاتونین استفاده و نشان داده شد که تجویز توام این دو به حیوانات پردردی حرارتی و آلودینی مکانیکی و نیز رفتار درد را به طور معنی داری کم می کند،(۱۸). نتایج این تحقیقات همگی با یافته های مطالعه ما هم خوانی دارد، البته در مطالعات ذکر شده ملاتونین به صورت محیطی تزریق شده است ولی از آن جایی که ملاتونین می تواند از سد خونی مغزی بگذرد احتمالاً بخشی از اثر ضد دردی آن نیز در تزریق محیطی می بایست ناشی از اثر مرکزی آن بر روی و مسیرهای عصبی مرتبط با انتقال و مراکز درک درد باشد.(۱۹)

ملاتونین یا ۵-متوکسیN-استیل تریپتامین از خانواده متوکسی اندول ها بوده و نیمه عمر آن در پلاسما حدود ۵۰-۲۰ دقیقه و غلظت پلاسمایی آن نیزحدود ۵۰-۱۰ پیکوگرم/میلی لیتر می باشد. در مورد ساز و کار ملاتونین باید گفت که تاکنون سه نوع زیرمجموعه از گیرنده های ملاتونین شامل ML1,ML2,ML3 شناسایی شده اند،(۱۹،۷). در ایجاد اثر بی دردی ملاتونین سیستم های گلوتامات، گابا و به ویژه اوپیوئیدی نقش دارند. برای مثال، ملاتونین می تواند گیرنده های اوپیوئیدی را فعال و تشکیل cAMP را در نورون ها کاهش دهد و نیز از طریق تاثیر گذاری برگیرنده های اوپیوئیدی کانال های پتاسیمی نورون ها را باز نموده و با مکانیسم هیپر پلاریزاسیون موجب فعال سازی سیستم ضد درد در نخاع شده و سبب مهار فیبرهای انتقال درد در این بخش شود،(۱۲،۲۰). از سوی دیگر ملاتونین می تواند بیان آنزیم های لیپواکسیژناز و سیکلواکسیژناز را کاهش بخشیده و از تشکیل پیش سازهای التهابی ممانعت کند که این اثر توجیه گر علت توانایی آن در کاهش درد مزمن ناشی از تزریق فرمالین است،(۴،۲۱،۲۲). به علاوه ملاتونین می تواند با حذف رادیکال های آزاد بخشی از اثرات خود را بروز دهد.(۲۳)

به طور خلاصه نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که ملاتونین تزریق شده بدرون بطن جانبی مغز در حضور محرک دردزای شیمیایی فرمالین، کاهش قابل توجه درد را در هر دو فاز حاد و مزمن به دنبال دارد و احتمالاً بتوان از این خاصیت برای التیام دردهای التهابی بهره جست.

سپاسگزاری

این طرح پژوهشی با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین و دانشکده های پزشکی و پیراپزشکی انجام گردیده است. مجریان طرح از زحمات و همکاری این واحدها تشکر می نمایند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-05]

References

1-Ambriz-Tututi M, Rocha-González HI, Cruz SL, Granados-Soto V. Melatonin: A hormone that modulates pain. Life Sci 2009;84:489-98.

2-Webb SM, Puig-Domingo M. Role of melatonin in health and disease. Clin Endocrinol 1995;42:221-34.

3-Cagnoti CM, Atabay C, Kharlamova E, Mancv H. Melatonin protects neurons from singlens oxygen-induced apoptosis. J Pineal Res 1995;18:222-6.

4-Lim HD, Kim YS, Ko SH, Yoon IJ, Cho SG, Chun YH, et al. Cytoprotective and anti-inflammatory effects of melatonin in hydrogen peroxide-stimulated CHON-001 human chondrocyte cell line and rabbit model of osteoarthritis via the SIRT1 pathway. J Pineal Res 2012;53:225-37.

5-Joel R, Ehrenkranz L, Comite F, David E, Bybbe D, Gordon B. Daily rhythm of plasma melatonin in normal and precocious puberty. J Clin Endocrinol Metab 1982; 55:307-10.

6-Samini M, Dehpour A, Babazadeh KA. Effect of melatonin on stress-induced gastric ulcers in rats. J Tehran Uni Med Sci 2003;3:181-78.

7-Vanecek J. Cellular mechanisms of melatonin action. Physiol Rev 1998;78:687-721.

8-Ozcan M, Yilmaz B, Carpenter DO. Effects of melatonin on synaptic transmission and long-term potentiating in two areas of mouse hippocampus. Brian Res 2006;11: 90-4.

9-Drag A, Urban L. New pharmacological strategies for pain relief. Rev pharmacol Toxicol 1996;36:253-80.

10-Porro CA, Cavazzuti M. Spatial and temporal aspects of spinal cord and brainstem activation in the formalin pain model. Prog Neurobiol 1993;41:565-607.

11-Puig S, Rivot J, Benson JM. Effect of subcutaneous administration of the chem.-ical halogen formalin, on 5-HT metabolism in the nucleus raphe Magnus and freely moving rats. Brain Res 1992;36:112-24.

12-Ray M, Medira PK, Mahajan P, Sharma KK. Evaluation of the role melatonin in formalin-induced pain response in mice. Indian J Med Sci 2004;58:122-30.

13-Srinivasan V, Pandi-Perumal SR, Spence DW, Moscovitch A, Trakht I, Brown GM, et al. Potential use of melatonergic drugs in analgesia: Mechanisms of action. Brain Res Bull 2009;22:47-52.

14-Weiner RS. Pain management.6th ed. American academy of pain management; 2001.P.3-9.

15-Capone F, Aloisi AM. Refinement of pain evaluation techniques: The formalin test. Annuli dell'Istituto superiore di sanità 2004;40:223-9.

16-Coderre TJ, Fundytus ME, McKenna JE, Dalal S, Melzack R. The formalin test: a validation of the weighted-scores method of behavioral pain rating. Pain 1993;54:43-50.

17-Pang CS, Tsang SF, Yang JC. Effects of melatonin, morphine and diazepam on formalin-induced Nociception in mice. Life Sci 2001;12:68:943-51.

18-Wang S, Zhang L, Lim G, Sung B, Tian Y, Chou CW, et al. A combined effect of dextromethorphan and melatonin on neuropathic pain behavior in rats. Brain Res 2009;12:42-9.

19-Forsling ML. Melatonin: Current Opinion. Endocrinol Diabetes 2001;8:147-53.

20-Ambriz-Tututi M, Rocha-Gon, Lez HI, Cruz SL, Granados-Soto V. Melatonin: a hormone that modulates pain. Life Sci 2009;84:489-98.

21-Ismail SA, Mowafi HA. Melatonin provides anxiolysis, enhances analgesia, decreases intraocular pressure, and promotes better operating conditions during cataract surgery under topical anesthesia. Anesth Analg 2009;108:1146-51.

22-Gitto E, Aversa S, Salpietro CD, Barberi I, Arrigo T, Trimarchi G, et al. Pain in neonatal intensive care: role of melatonin as an analgesic antioxidant. J Pineal Res 2012; 52:291-5.

23-Odaci E, Kaplan S. Melatonin and nerve regeneration. Int Rev Neurobiol 2009;87: 317-35.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-05]

Effect of Melatonin on the Formalin-Induced Pain in White Male Rats

Gheibi N[1], Sofiabadi M[2], Rasolpour H[3], Dehghannejad S[3]*

(Received: 25 Jan. 2012 Accepted: 17 Aprl. 2013)

Abstract

Introduction: Melatonin is the main product of pineal gland that has been associated with body's physiologic rhythms. New evidence suggests that melatonin plays a role in pain system. For example, the peripheral co-administration of melatonin and morphine produce additive analgesic effect. The purpose of this study was to evaluate the effect of central injection of melatonin on the formalin-induced pain in white male rats.

Materials & Methods: In this study, 40 NMRI white rats were divided into four equal groups (each group=10 rats) including: control, sham (having canola without melatonin injection) and 2 melatonin group that received melatonin 0.5 and 0.1µg /kg, respectively. The canola was implemented in the right brain ventricle of the rats via sterotaxic method. After 7 days of resting and then returning to normal condition, first dose of melatonin was injected and a half hour after it 50 microliter formalin (2.5 %) was injected at the floor of right foot to evaluate the acute and chronic pain. Data acquisitions were done through counting the number of licking the injected foot and accumulation of dorsal area skin (flinching) for 1 hour. Then, the acquired data were statistically analyzed.

Findings: Administration of melatonin at the acute phase, reduced licking of the injected site in both treatment groups compared to the control group ($P<0.05$, 0.01). In the chronic phase, the administration of 0.5 µg melatonin, significantly decreased the number of the foot licking compared to the control group, especially at 15-40 and 60 minutes of test ($P<0.01$). The sign of behind skin flinching significantly decreased with using of 0.5µg of melatonin compared to the control group, particularly at the acute phase and beginning time of the chronic phase ($P<0.05$). This behavior was increased in both groups receiving melatonin at the end of chronic phase, mainly at 55 and 60 minutes of formalin test ($P<0.01$, 0.001).

Discussion & Conclusion: Our study showed that the central injection of melato-nin has a significant analgesic effect; how-ever, the analgesic pattern may vary depen-ding on time.

Keywords: melatonin, formalin test, rats, brain ventricle

1. Dept of Nanotechnology and Biophysics, Faculty of Health, Qazvin University of Medical Science, Qazvin, Iran
2. Dept of Physiology, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Science, Qazvin, Iran
3. Faculty of Paramedical Science, Qazvin University of Medical Science, Qazvin, Iran
**(corresponding author)*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-05]