

مقدمه

درد پدیده‌ای مشترک در حیوانات بوده که بدلیل شباهت الگوی انسانی آن با سایر مهره‌داران، اثرات ضددردی آنها نیز قابل مقایسه باهم می‌باشد. درد با تحریک مستقیم اعصاب حسی آوران یا تحریک گیرنده‌های درد با فشار یا گرما ایجاد می‌شود. درد به وسیله التهاب نیز ایجاد می‌شود که مواد درونزا نظیر پروستاگلاندین‌ها و پپتیدها در این پدیده نقش دارند. اکثر داروهای ضدالتهاب غیر استروئیدی، با مهار بعضی از این مواد، فعالیت ضددردی اعمال می‌کنند. بطور مثال دسته داروئی ضددردهای محیطی و ضد تب با توقف تولید ایمپالس در گیرنده‌های محیطی درد عمل می‌نمایند و ضد دردهای مخدر (ضد دردهای مرکزی) انتقال سیناپسی ایمپالس درد را در سیستم اعصاب مرکزی متوقف می‌نمایند.

آزمون های ضد دردی درون تنی (*In vivo*) بر روی جوندگانی نظیر موش کوچک و رت انجام می‌شود. این آزمون ها شامل روشهای تابش گرما یا پرش دم، صفحه داغ، تحریک الکتریکی، گره زدن عصب سیاتیک و آزمون فرمالین و غیره می‌باشد.

آزمون فرمالین

التهاب یکی از عوامل ایجاد کننده درد می‌باشد و داروهای ضد التهاب غالبا "اثرات ضد دردی نیز از خود اعمال می‌نمایند. در آزمون فرمالین، این ماده، در فاز دوم آزمون، همزمان با رهایش مدیاتورهای التهابی و ایجاد التهاب، دردزا نیز هست. این فاز از آزمون، مدلی برای ایجاد درد مزمن در نظر گرفته می‌شود. ضددردهای مرکزی در هر دو فاز این آزمون و ضد دردهای محیطی فقط در فاز دوم تاثیر گذارند ولی پاسخدهی این آزمون به ضد دردهای مرکزی در فاز اول بیشتر از فاز دوم است.

اساس کار

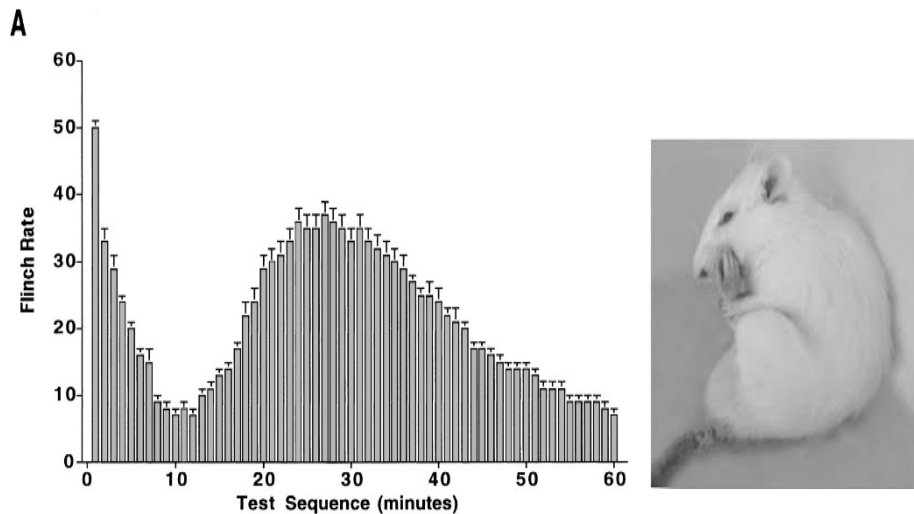
در این روش بعد از تزریق موضعی فرمالین در کف پای حیوان، درد ایجاد می‌گردد و پاسخ دردناک حیوان که با بلند کردن پا یا لیسیدن و گازگرفتن مشخص می‌شود، اندازه‌گیری می‌گردد (شکل ۱۹). تعداد این پاسخ ها در زمان مشخص ثبت گردیده و سپس با گروه کنترل مقایسه می‌گردد.

مواد و وسایل لازم

- فرمالین با غلظت ۵٪ در بافر فسفات (۱/۴ سی سی فرمالین ۴۰٪ در ۱۰۰ سی سی بافر فسفات)
- آمپول دیکلوفناک: دوز ۵ mg/kg را شبیه آزمون قبل تهیه نمایید.
- محلول مرفین: دوز ۱۰ mg/kg را شبیه آزمون قبل تهیه نمایید.
- موش سفید: وزن ۲۲-۲۷ گرم
- دستکش و سرنگ انسولین

روش کار

سه گروه موش انتخاب کنید. به گروه اول نرمال سالین، به گروه دوم دیکلوفناک با دوز ۵ mg/kg و به گروه سوم مرفین با دوز ۱۰ mg/kg تزریق نمائید. نیم ساعت بعد ۲۵ میکرولیتر از فرمالین را به زیر سطح پنجه پا تزریق نمائید و موش را فوراً در یک جعبه که قابل دید می‌باشد منتقل کنید و لیسیدن پای تزریق شده را در ۵ دقیقه اول (فاز اول) و ۳۰-۱۵ دقیقه بعد از تزریق (فاز دوم) ثبت نمایید. بعد از اتمام ۳۰ دقیقه نتایج گروه کنترل را با گروههای نمونه مقایسه نمایید (شکل ۲۰).



شکل ۲۰: فازهای ۱ و ۲ در تست فرمالین

شکل ۱۹: تست فرمالین

نمونه گزارش کار تست فرمالین

فاز اول:

One-way Analysis of Variance (ANOVA)

The P value is 0.0003, considered extremely significant.

Variation among column means is significantly greater than expected by chance.

Tukey-Kramer Multiple Comparisons Test

If the value of q is greater than 3.674 then the P value is less than 0.05.

mparison	Mean Difference	q	P value
Normal saline vs Diclofenac	20.000	5.886	** P<0.01
Normal saline vs morphine	25.000	7.357	*** P<0.001
Diclofenac vs morphine	5.000	1.471	ns P>0.05

فاز دوم:

One-way Analysis of Variance (ANOVA)

The P value is 0.0208, considered significant.

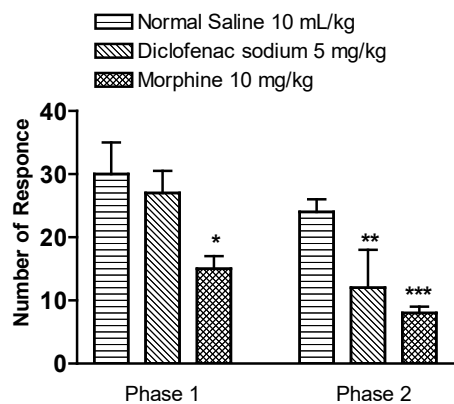
Variation among column means is significantly greater than expected by chance.

Tukey-Kramer Multiple Comparisons Test

If the value of q is greater than 3.674 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Mean Difference	q	P value
Normal saline vs Diclofenac	12.000	3.246	ns P>0.05
Normal saline vs morphine	16.000	4.328	* P<0.05
Diclofenac vs morphine	10.000	1.082	* P<0.05

توضیح: در هر دو فاز تست Bartlett اختلاف بین انحراف معیارها را معنی دار نمی داند، پس می توان به نتایج استناد نمود و نیازی به تغییر تست آماری و یا تغییر نتایج نیست. بین گروهی که مورفین دریافت کرده است با گروه دیکلوفناک در فاز دوم اختلاف معنی داری وجود ندارد، اما در فاز اول با $P<0.05$ اختلاف دارند. اختلاف داروها با کنترل در شکل ۱ قابل مشاهده است.



شکل ۱. بررسی اثر دارو در دو فاز ۱ و ۲ بر تعداد پاسخ حیوان به ماده محرک در آزمون فرمالین بر ۶ موش سفید کوچک. نتایج بصورت میانگین $\pm$ انحراف معیار داروها نسبت به گروه کنترل با استفاده از تست آماری Tukey-kramer گزارش شده اند (**: $P<0.01$, ***: $P<0.001$).

تکلیف آزمون ضد درد (تست فرمالین)

با اعداد تحویلی:

- ۱- انجام تست آماری بین ۳ گروه در تست فرمالین Tukey-kramer ---- ANOVA
- ۲- رسم نمودار ستونی برای تست فرمالین و جاگذاری ستاره های مربوطه باتوجه به تست آماری
- ۳- رسم نمودار ستونی با نتایج هر گروه
- ۴- مقایسه نمودارها با یکدیگر و مقایسه نتایج با توجه به تاثیر آنها بر درد و مکانیسم مربوطه
- ۵- انجام تست آماری بین ۳ گروه در تست رایتینگ

با اعداد گروهی:

- ۶- رسم نمودار ستونی با نتایج هر گروه برای تست رایتینگ
- ۷- مقایسه نمودارها با یکدیگر و مقایسه نتایج با توجه به تاثیر آنها بر درد
- ۸- محاسبه درصد مهار دارو در تست رایتینگ (مهم)

درصد مهار = ۱ تعداد رایت در گرو دارو - تعداد رایت در گروه کنترل ۱ ÷ تعداد رایت در گروه کنترل × ۱۰۰

۱- بررسی اثر کنترل کننده داروها بر محرکهای درد ناشی از التهاب محیطی								
فرمالین						پیمایش		نام
فاز دوم			فاز اول					آزمون
۳۹	۲۴	۲۵	۳۰	۳۴	۲۶	۳۹	۳۲	۳۰
۳۵	۳۲	۲۲	۲۸	۳۱	۲۵	۲۵	۳۵	۲۶
۱۳	۱۲	۱۱	۳۱	۲۷	۲۵	۱۵	۱۲	۱۰
۹	۱۰	۱۴	۲۹	۲۳	۳۰	۹	۱۰	۱۳
۱۹	۱۷	۱۵	۱۱	۱۳	۱۰	۷	۸	۹
۲۰	۱۶	۱۴	۱۰	۹	۱۲	۶	۷	۵

-۲- بررسی اثر کنترل کننده داروها بر محرکهای درد ناشی از التهاب محیطی									
فرمالین						پیچش			نام آزمون
فاز دوم			فاز اول						
۵۹	۵۳	۵۵	۶۰	۵۶	۵۰	۴۲	۴۵	۴۰	نرمال سالین
۶۵	۶۱	۶۲	۵۸	۵۲	۵۱	۳۸	۴۷	۴۸	10mL/kg
۲۰	۲۵	۲۷	۶۶	۴۰	۴۹	۲۰	۲۲	۲۵	دیکلوفناک
۲۳	۲۲	۲۱	۶۰	۵۵	۵۹	۲۱	۲۳	۲۷	5mg/kg
۲۱	۱۹	۱۷	۱۷	۱۸	۲۱	۱۳	۱۵	۱۲	مورفین
۱۶	۲۵	۲۳	۲۵	۲۹	۲۲	۱۴	۱۷	۱۱	20mg/kg

-۳- بررسی اثر کنترل کننده داروها بر محرکهای درد ناشی از التهاب محیطی									
فرمالین						پیچش			نام
فاز دوم			فاز اول						آزمون
۲۸	۳۰	۳۳	۳۲	۴۰	۳۵	۲۲	۲۵	۲۰	نرمال سالین
۳۵	۲۷	۳۲	۳۳	۴۲	۳۹	۲۰	۲۳	۲۷	10mL/kg
۱۹	۱۷	۱۵	۳۰	۲۸	۳۳	۱۶	۱۵	۱۲	دیکلوفناک
۱۶	۱۸	۲۰	۲۹	۳۵	۲۷	۱۳	۱۴	۱۷	5mg/kg
۱۹	۱۵	۱۷	۱۸	۱۶	۱۵	۱۲	۱۱	۱۰	مورفین
۲۰	۱۶	۱۴	۱۷	۱۹	۱۴	۱۳	۱۲	۱۳	20mg/kg

۴- بررسی اثر کنترل کننده داروها بر محرکهای درد ناشی از التهاب محیطی									
فرمالین						پیچش			نام آزمون
فاز دوم			فاز اول						
۱۵	۱۷	۱۸	۱۷	۱۹	۲۰	۱۳	۱۴	۱۵	نرمال سالین
۱۶	۱۹	۱۶	۱۸	۲۱	۲۲	۱۱	۱۰	۱۲	10mL/kg
۱۳	۱۱	۱۰	۲۱	۲۲	۱۹	۵	۶	۷	دیکلوفناک
۱۲	۱۴	۱۰	۱۸	۲۰	۲۱	۶	۵	۴	5mg/kg
۹	۱۳	۱۰	۱۴	۱۶	۱۵	۴	۳	۵	مورفین
۱۰	۱۱	۱۲	۱۵	۱۳	۱۲	۵	۶	۴	20mg/kg