

بررسی اثرات ضد درد آدالیموماب در مدل درد تجربی (CCI) Chronic constriction Injury در موش صحرایی

امین حسنوندا^۱، عارفه غیاثوند^۲، محمدجواد نورمحمدی^۲، فاطمه حاتمی^۳، زهرا حقیقتیان^۳، یاسر مخیری^۴، مجتبی خاکساریان^{*۱}

- ۱- دانشیار، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران
- ۲- دانشجو، کمیته تحقیقات دانشجویی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران
- ۳- استادیار، گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران
- ۴- استادیار، گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

یافته / دوره ۲۶ / شماره ۳ / پاییز ۱۴۰۳ / مسلسل ۱۰۱

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۴/۵ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۷/۱۴

مقدمه: دردهای نوروپاتی که از مهمترین مشکلات مزمن و پاتولوژیک است، با افزایش فعالیت سایتوکین‌های التهابی و افزایش فعالیت اکسیداتیو همراه است، که می‌تواند باعث افزایش آسیب عصب شوند. داروی آدالیموماب یک داروی آنتی مونوکلونال انسانی با اثرات درمانی در بیماری‌های مختلف است. هدف از این پژوهش، بررسی اثرات ضددردی آدالیموماب در مدل درد تجربی Chronic Constriction Injury (CCI) در موش صحرایی است.

مواد و روش‌ها: ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار استفاده و به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند. گروه اول: کنترل، گروه دوم: موش‌های صحرایی القا شده درد تجربی (CCI)، گروه سوم: CCI + آدالیموماب (۵mg/kg)، گروه چهارم: CCI + آدالیموماب (۱۰mg/kg)، گروه‌های مورد بررسی در این آزمایش بودند. تست‌های رفتاری در حیوانات در زمان‌های ۴، ۷ و ۱۴ روز بعد از القاء CCI انجام گرفت، و در نهایت با جداسازی نخاع، از سوپرناتانت آن جهت تجزیه و تحلیل آنزیم‌های التهابی و اکسیداتیو استفاده گردید. جهت تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از نرم افزار آماری Prism Graphpad استفاده گردید.

یافته‌ها: تحلیل داده‌های به دست آمده نشان داد که تزریق آدالیموماب در گروه‌های سوم و چهارم، باعث کاهش فعالیت سایتوکین‌های التهابی از جمله IL-6، TNF- α و CRP شد، و همچنین فعالیت MDA کاهش یافت و فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT افزایش یافت. همچنین آدالیموماب موجب بهبود تست‌های آلودینیای حرارتی، آلودینیای مکانیکی و هیپرآلژی حرارتی گروه‌های سوم و چهارم گردید. بحث و نتیجه‌گیری: تجویز داروی آدالیموماب می‌تواند با فعالیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیداتیو خود، ضمن داشتن اثرات نوروپروتکتیو، جهت درمان و با کاهش دردهای نوروپاتی مورد استفاده قرار گیرد. واژه‌های کلیدی: آدالیموماب، درد نوروپاتی، CCI، موش صحرایی.

*آدرس مکاتبه: خرم آباد، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی..

پست الکترونیک: mojkhaksar@yahoo.com

مقدمه

دردهای نوروپاتیکی یکی از مهمترین دردهایی است که می‌تواند با آسیب بالقوه بافتی همراه باشد و باعث اختلال عملکردی و عصبی شوند (۱). بررسی‌ها نشان داده است که تغییر انتقال حسی به مغز و نخاع بوسیله آسیب اعصاب نواحی مختلف از جمله مفاصل، ماهیچه‌ها و ... می‌تواند یکی از مهمترین علل بروز دردهای نوروپاتیکی باشد (۲). مطالعات نشان داده‌اند که علائم دیستیزی، پارستیزی، آلودینیا و دردهای خودبه‌خودی و همچنین گزگز و سوزش می‌تواند در دردهای نوروپاتیکی مشخص گردد (۳). همچنین، مشخص شده است که آزادسازی سایتوکین‌های التهابی (۴)، بیان گیرنده‌های متابوتروپیک گلوتامات (۵) و افزایش حساسیت در گیرنده‌های درد (۶) می‌توانند نقش بسیار مهمی را در دردهای نوروپاتیکی داشته باشند. پس از آسیب بافتی، سایتوکین‌های پیش التهابی از جمله فاکتور نکروز تومور آلفا ($TNF-\alpha$)، اینترلوکین‌های یک بتا ($IL-1\beta$)، اینترلوکین ۶ ($IL-6$)، اینترلوکین ۱۷ ($IL-17$) و پروستاگلاندین‌ها می‌توانند باعث افزایش حساسیت گیرنده‌های درد شوند (۵،۷). بررسی‌های بیشتر نشان داده است که آزادسازی سایتوکین‌های التهابی توسط ماکروفاژها صورت گرفته، و این ماکروفاژها طی مدت سه روز پس از آسیب، به محل آسیب رسیده و ضمن آزادسازی سایتوکین‌های التهابی، باعث افزایش حساسیت گیرنده‌های درد می‌شوند و همچنین، می‌توانند نقش مؤثری را هم در دردهای التهابی و هم غیرالتهابی بازی کنند (۸). آدالیموماب یک داروی آنتی مونوکلونال انسانی است که با اتصال به سایتوکین التهابی $TNF-\alpha$ ، باعث مهار فعالیت آن می‌شود و می‌تواند در درمان بیماری‌های مختلفی از جمله بیماری کرون، آرتریت و ... مورد استفاده قرار گیرد (۹). مطالعات مختلفی مشخص کرده‌اند که داروی آدالیموماب دارای اثرات ضدالتهابی (۱۰)، نوروپروتکتیو (۱۱) و ضددردی (۱۲)

است. همچنین مشخص شده است که این دارو می‌تواند باعث بهبود زخم (۱۳)، بهبود اختلالات شناختی ناشی از آلزایمر (۱۱) و بهبود آسیب نخاعی از طریق مهار آپوپتوز عصبی (۱۴) شود. مدل آزمایشگاهی درد نوروپاتیکی آسیب انقباضی مزمن (CCI) یک مدل استاندارد جهت بررسی داروهای مختلف بر روی دردهای نوروپاتیکی است (۱۵،۱۶). با توجه به اینکه تاکنون هیچ مطالعه‌ای اثر مصرف آدالیموماب را بر روی درد نوروپاتیکی ناشی از CCI بررسی نکرده است، در این مطالعه اثر مصرف این دارو را در کاهش درد نوروپاتیکی و اثر آن بر تست‌های رفتاری مختلف در این مدل آزمایشگاهی درد نوروپاتیکی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

جهت انجام مطالعه حاضر، تعداد ۲۰ سر موش صحرایی از مرکز حیوانات علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان خریداری گردید، و مطابق دستورالعمل‌های کمیته اخلاق نگهداری شدند. موش‌های صحرایی مورد استفاده، در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، با درجه حرارت استاندارد و همچنین دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. قبل از شروع مطالعه، حیوانات به صورت تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند که در هر گروه ۵ سر موش صحرایی قرار گرفت. گروه اول، گروهی بودند که پوست و عضله ناحیه بالای ران در پای چپ آن‌ها برش داده شد، و پس از نمایان شدن عصب سیاتیک، پوست و عضله بدون دست‌کاری و تحت فشار قرار دادن عصب، با نخ بخیه ۴/۰ سیلک بخیه زده شدند (گروه کنترل). در گروه دوم، جهت القاء درد نوروپاتیکی با مدل CCI، بعد از نمایان شدن عصب سیاتیک پای چپ حیوان، عصب مربوطه را با نخ بخیه کرومیک به صورت چهار گره شل و با فواصل یک میلی‌متر تحت فشار قرار داده شد. گروه سوم و چهارم، موش‌های صحرایی بودند که علاوه بر انجام CCI، آدالیموماب را به ترتیب با

Von Frey، تست آلودینیای مکانیکی انجام گرفت. تارهای Von Frey شامل تارهای ۲ تا ۶۰ گرم (۲،۴،۶،۸،۱۵،۲۶،۶۰) بودند، و جهت بررسی تحریک مکانیکی غیر دردناک، به تعداد ۵ بار و با فواصل ۳۰ ثانیه‌ای، از کم‌ترین شماره تار شروع نموده و چنانچه حیوانات پاسخ نمی‌دادند، از تارهای بالاتر استفاده می‌گردید. نهایتاً، در هر مرتبه استفاده از تار مربوطه، چنانچه سه مرتبه حیوان پاسخ مثبت می‌داد، تار مربوطه مثبت تلقی می‌شد و ثبت می‌گردید. پاسخ مثبت شامل احساس درد توسط حیوان و انجام واکنش‌هایی از جمله جیغ زدن، لیسیدن و گاز گرفتن پا و یا کشیدن و بلند کردن پا است (۱۹).

تست هیپرآلژزی حرارتی (Hot plate Test):

برای انجام این تست از دستگاه Hot plate استفاده گردید. دستگاه Hot plate در واقع یک صفحه گرد است که به وسیله جریان الکتریسیته داغ می‌شود. جهت انجام این آزمایش، دمای صفحه دستگاه را بین $52/5 \pm 1$ درجه سانتی‌گراد قرار داده، و بعد از قرار دادن حیوانات بر روی صفحه داغ، میزان تحمل پایه حیوان را با ثبت زمان شروع لیسیدن پاها یا تغییر خاص در قدم‌گذاری موش‌های صحرایی، ثبت گردید. جهت انجام این تست، حداکثر زمان در نظر گرفته شده برای سطح تحمل موش‌های صحرایی، ۱۰ ثانیه در نظر گرفته شده بود (۲۰).

اندازه‌گیری آنزیم‌های التهابی و اکسیداتیو

در پایان روز چهاردهم و بعد از انجام تست‌های رفتاری، حیوانات را بیهوش کرده و روی شکم قرار داده شدند. جهت خارج کردن نخاع حیوانات، ابتدا در ناحیه بین دو دست، و با استفاده از قیچی، نخاع و ستون مهره‌ها را از ناحیه گردنی جدا کرده و در مرحله بعد، در ناحیه بالای لگن، ستون مهره‌ها نیز را قطع نموده و به آرامی ستون مهره‌ها را از بافت‌های اطراف جدا نموده و آن را خارج نمودیم. در مرحله بعدی و با اطمینان از باز بودن دو سر کانال نخاعی، با استفاده از سرنگ حاوی نرمال سالین،

دوزهای 5 mg/kg و 10 mg/kg به صورت IP دریافت نمودند. در گروه‌های دریافت‌کننده آدالیموماب، مصرف دارو از روز القاء CCI، به صورت روزانه تا ۱۴ روز پس از القاء CCI بود. جهت القاء مدل CCI، بعد از بی‌هوش کردن حیوانات و تراشیدن موهای بالا و پشت ران حیوان، با استفاده از تیغ بیستوری شکافی به طول ۲ سانتیمتر بر روی ران پای چپ ایجاد گردید. پس از مشخص نمودن عصب سیاتیک، قبل از سه شاخه شدن عصب سیاتیک، به وسیله نخ بخیه کات ۴/۰ چهار گره شل به فواصل یک میلی‌متر بر روی عصب سیاتیک انجام گرفت. گره‌های فوق به گونه‌ای انجام شد که در جریان خون عصب اختلالی ایجاد نکنند (۱۷). در انتها، با استفاده از نخ بخیه ۴/۰ سیلک عضله و پوست به صورت جداگانه دوخته شدند. جهت بررسی اثرات نوروپروتکتیو داروی آدالیموماب، تست‌های رفتاری در روزهای ۴، ۷ و ۱۴ روز پس از القای CCI انجام گرفت و نهایتاً در روز آخر، بعد از انجام تست‌های رفتاری، جهت بررسی سطح سایتوکین‌های التهابی و استرس اکسیداتیو، نخاع حیوانات جدا گردید و به وسیله تکنیک الایزا مورد ارزیابی قرار گرفتند.

تست آلودینیای حرارتی (Acetone Test)

جهت انجام این تست، حیوانات را بر روی یک شبکه سیمی قرار داده و سپس به وسیله سرنگ انسولین، یک قطره استون به کف پای چپ حیوان پاشیده شد. در هر حیوان، آزمایش فوق پنج مرتبه و هر مرتبه با فاصله سه دقیقه، تکرار گردید. در این تست، با نشان داده واکنش در پای حیوان بعد از اسپری استون، پاسخ مثبت ثبت گردید و چنانچه حیوان واکنشی بعد از اسپری استون از خود نشان نمی‌داد، پاسخ منفی ثبت می‌گردید (۱۸).

تست آلودینیای مکانیکی (Von Frey Test)

این تست جهت بررسی تحریک مکانیکی غیر دردناک در حیوانات انجام گرفت. جهت انجام این تست، حیوانات را بر روی یک شبکه سیمی قرار داده و با استفاده از تارهای

های تست آلودینیای حرارتی نشان داد که در روز چهارم پس از القای CCI در بین هر چهار گروه موش‌های صحرایی هیچ تفاوت معناداری بین Allodynia score مشاهده نشده است، اما در روز هفتم پس از القای CCI، نتایج نشان می‌دهد که Allodynia score گروه دوم افزایش قابل ملاحظه‌ای نسبت به موش‌های صحرایی سالم (گروه اول) داشته است ($P < 0/01$)؛ اما تفاوت معناداری میان گروه‌های سوم و چهارم نسبت به گروه دوم و گروه اول مشاهده نشده است. در روز چهاردهم بعد از القای CCI، تفاوت معناداری بین Allodynia score گروه‌های اول، سوم و چهارم با گروه دوم مشاهده می‌شود. مطابق با نتایج به دست آمده، افزایش قابل ملاحظه Allodynia score گروه دوم موش‌های صحرایی نسبت به موش‌های صحرایی سالم (گروه اول) مشهود است ($P < 0/01$)، و در گروه‌های دریافت‌کننده آدالیموماب (گروه‌های سوم و چهارم) این تفاوت معنادار با ($P < 0/05$) نسبت به گروه دوم دیده می‌شود. همچنین، تفاوت معناداری بین گروه‌های سوم و چهارم در هیچ‌یک از روزها گزارش نشده است (نمودار ۱).

از ناحیه بالایی (گردنی) با فشار آب را تزریق نموده که در نهایت موجب خروج نخاع از ناحیه کمری گردید. در نهایت، بعد از خارج نمودن نخاع، و آماده‌سازی سوپرناتانت آن، با استفاده از تست الایزا، سطح آنزیم‌های التهابی و اکسیداتیو (CAT، MDA، SOD، IL-6، TNF- α) و CRP) مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۱).

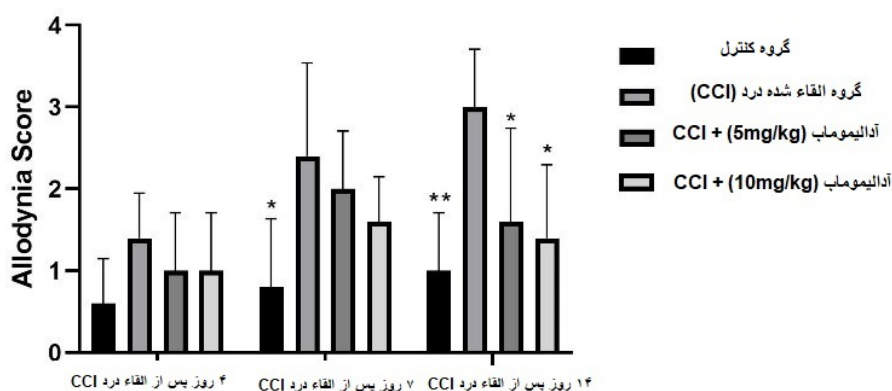
روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

نرم‌افزار آماری Prism Graphpad نسخه ۹ و SPSS نسخه ۲۴ جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شده است. جهت مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و طرح اندازه‌گیری تکراری استفاده شده و سطح معنی دار بودن ($P < 0/05$) در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

بررسی تأثیر آدالیموماب بر تست آلودینیای حرارتی (Acetone Test)

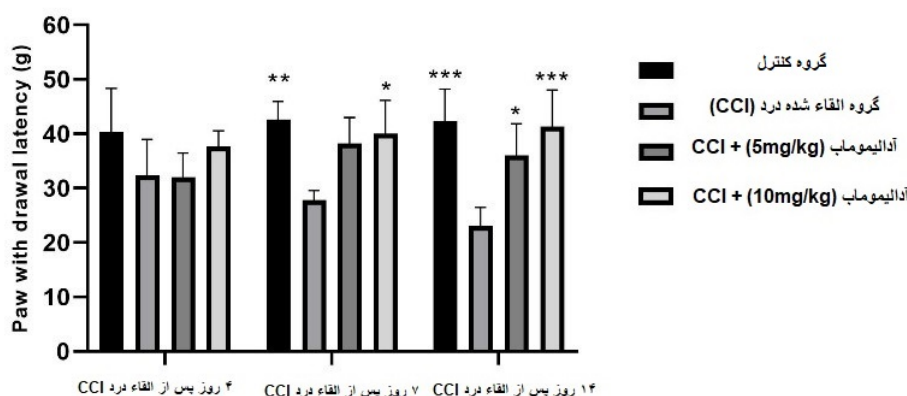
بر اساس طرح اندازه‌گیری مکرر مشاهده شد که اثر گروه، زمان و نیز اثر متقابل این دو معنادار بوده است ($P < 0/05$)؛ با توجه به معناداری اثر متقابل، به مقایسه گروه‌ها با استفاده از تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی دانکن در هر زمان پرداخته شده است. آنالیز داده-



نمودار ۱. مقایسه تأثیر درمانی آدالیموماب در گروه‌های مختلف بر میزان Allodynia score در روزهای ۴ و ۷ و ۱۴ پس از القای CCI

*= $P < 0/05$, ** = $P < 0/01$, *** = $P < 0/001$ در مقایسه با گروه CCI

موش‌های صحرایی که آدالیموماب را با دوز ۱۰ میلی‌گرم دریافت کرده‌اند، افزایش معناداری نسبت به گروه دوم داشته‌اند ($P < 0/01$). اما تفاوت معناداری میان گروه سوم و دوم، در این روز مشاهده نگردید. در روز چهاردهم بعد از القای CCI، PWD در گروه دوم کاهش قابل‌ملاحظه‌ای نسبت به موش‌های صحرایی سالم داشته‌اند ($P < 0/01$). PWD در گروه سوم که ۵ میلی‌گرم آدالیموماب دریافت کرده‌اند، نسبت به گروه دوم، نیز افزایش معناداری داشته و همچنین، آنالیز داده‌ها نشان‌دهنده افزایش قابل‌ملاحظه PWD در گروه چهارم، که ۱۰ میلی‌گرم آدالیموماب دریافت کرده‌اند، است، که در مقایسه با گروه دوم این اختلاف از نظر آماری معنادار بوده است ($P < 0/001$). مطابق با نتایج، تفاوت معناداری بین گروه‌های سوم و چهارم در هیچ‌یک از روزها گزارش نشده است (نمودار ۲).



نمودار ۲. مقایسه تأثیر درمانی آدالیموماب در گروه‌های مختلف بر میزان PWD در روزهای ۴ و ۷ و ۱۴ پس از القای CCI.

CCI در مقایسه با گروه CCI $P < 0/05$, ** = $P < 0/01$, *** = $P < 0/001$

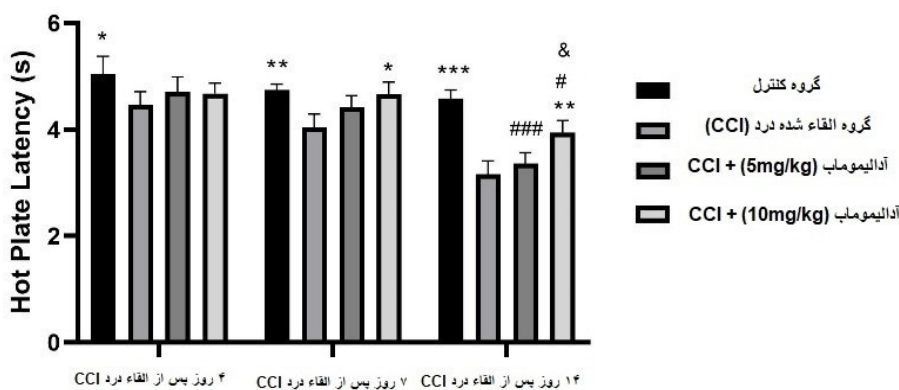
نمودار ۳، طبق نتایج به‌دست‌آمده در روز چهارم پس از القای CCI، نشان می‌دهد که در Hot plate latency، گروه دوم کاهش معناداری نسبت به گروه اول داشته است ($P < 0/05$). اما بین گروه‌های دیگر، Hot plate latency در روز چهارم تفاوت معناداری دیده نمی‌شود. در روز هفتم پس از القای CCI، Hot plate latency گروه دوم کاهش قابل‌ملاحظه‌ای نسبت به موش‌های

بررسی تأثیر آدالیموماب بر تست هیپرالژزی حرارتی (Hot plate Test)

بر اساس طرح اندازه‌گیری مکرر مشاهده شد که اثر گروه، زمان و نیز اثر متقابل این دو معنادار بوده است ($P < 0/05$)؛ با توجه به معناداری اثر متقابل، به مقایسه گروه‌ها با استفاده از تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی دانکن در هر زمان پرداخته شده است. با توجه به

شود. در این روز تفاوت معناداری بین گروه دوم و سوم مشاهده نگردید. در بررسی آنالیز داده‌ها مشخص گردید که بین گروه سوم و چهارم با گروه اول تفاوت معناداری وجود دارد، که نشان می‌دهد سطح Hot plate latency در گروه سوم ($P < 0/01$) و گروه چهارم ($P < 0/01$) کاهش قابل‌ملاحظه‌ای نسبت به گروه اول داشته‌اند. همچنین بررسی‌ها نشان می‌دهد که افزایش سطح Hot plate latency در گروه چهارم نسبت به گروه سوم دارای اختلاف معناداری از نظر آماری است ($P < 0/05$).

صحرائی سالم (گروه اول) دارد ($P < 0/01$). همچنین گروه چهارم که دریافت‌کننده ۱۰ میلی‌گرم آدالیموماب بوده است، در سطح Hot plate latency، افزایش معناداری نسبت به گروه دوم دارد ($P < 0/05$). اما بین گروه دوم و سوم در سطح Hot plate latency تفاوت معناداری وجود نداشته است. در روز چهاردهم پس از القای CCI، سطح Hot plate latency در گروه دوم کاهش معناداری نسبت به گروه اول داشته است ($P < 0/01$) و همچنین افزایش قابل‌ملاحظه‌ای در میزان Hot plate latency در گروه چهارم نسبت به گروه دوم دیده می‌

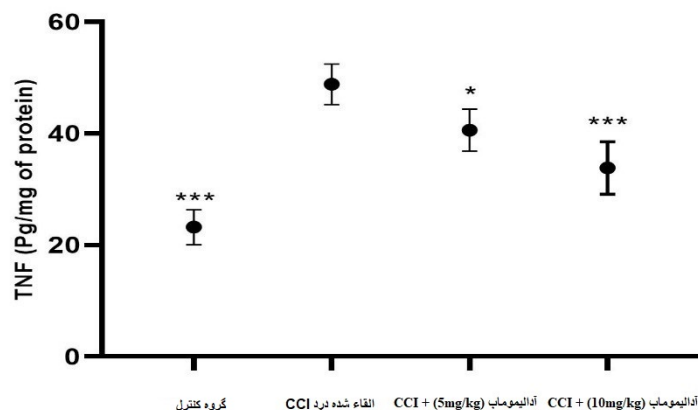


نمودار ۳. مقایسه تأثیر درمانی آدالیموماب در گروه‌های مختلف بر میزان Hot plate latency در روزهای ۴ و ۷ و ۱۴ پس از القای CCI. $\# = P < 0/05$ ، $### = P < 0/001$ ، $** = P < 0/01$ ، $* = P < 0/05$ در مقایسه با گروه CCI و $\& = P < 0/05$ مقایسه گروه CCI + آدالیموماب (5mg/kg) با گروه CCI + آدالیموماب (10mg/kg)

دریافت‌کننده ۵ میلی‌گرم آدالیموماب) نشان می‌دهد که تجویز آدالیموماب به طور معناداری باعث کاهش سطح TNF- α نسبت به گروه دوم می‌شود ($P < 0/05$). همچنین، نتایج گروه چهارم نشان می‌دهد که با افزایش دوز دریافتی آدالیموماب، این دارو به‌صورت وابسته به دوز، کاهش معناداری در سطح TNF- α نسبت به گروه دوم داشته است ($P < 0/001$).

بررسی تأثیر آدالیموماب بر سطح TNF- α

نتایج آنالیز، در شکل ۴، نشان می‌دهد که بین میانگین سطح TNF- α در گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معناداری وجود دارد. مشخص شده است که در گروه دوم (موش‌های صحرائی که تحت CCI قرار گرفته‌اند، اما دارو دریافت نکرده‌اند) سطح TNF- α نسبت به گروه اول (موش‌های صحرائی سالم) به طور معناداری افزایش یافته است ($P < 0/001$). ولی داده‌های گروه سوم (گروه CCI

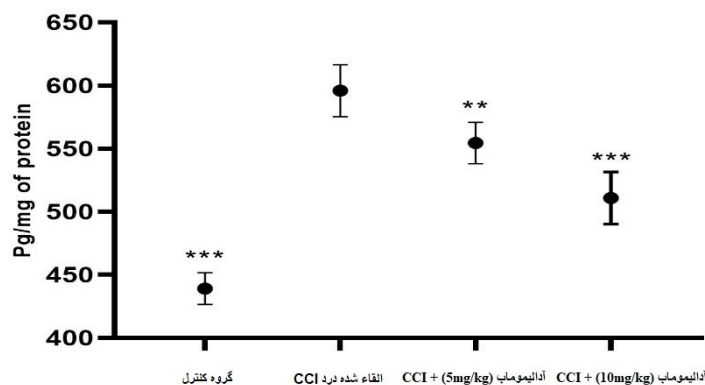


نمودار ۴. مقایسه تأثیر درمانی آدالیموماب در گروه‌های مختلف بر سطح TNF- α . ***= $P < 0/001$, **= $P < 0/05$ در مقایسه با گروه CCI

اول داشته است ($P < 0/001$). پس از تجویز آدالیموماب و به صورت وابسته به دوز، سطح این فاکتور التهابی به طور معناداری نسبت به گروه دوم کاهش یافته است (به ترتیب نسبت به گروه سوم و چهارم، $P < 0/001$ و $P < 0/01$ (نمودار ۵)).

بررسی تأثیر آدالیموماب بر سطح IL-6

آنالیز داده‌ها نشان می‌دهد که بین میانگین سطح IL-6 در گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معناداری وجود دارد. مقایسه آنها نشان می‌دهد که در گروه دوم، به دنبال القای CCI، افزایش معناداری در سطح IL-6 نسبت به گروه

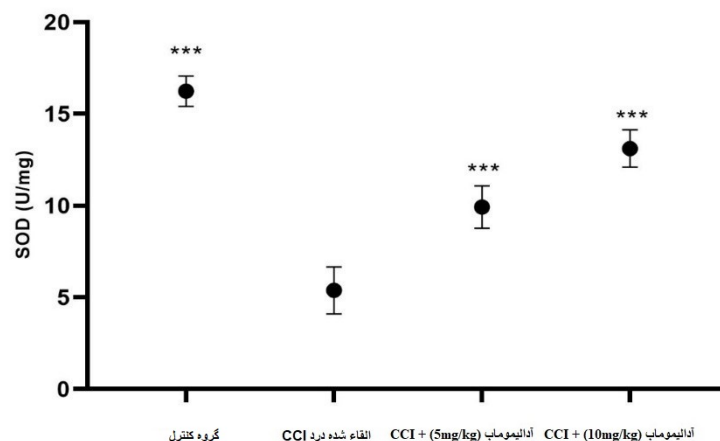


نمودار ۵. مقایسه تأثیر درمانی آدالیموماب در گروه‌های مختلف بر میزان IL-6. ***= $P < 0/001$, **= $P < 0/01$ در مقایسه با گروه CCI

در موش‌های صحرائی تحت درمان با ۵ میلی‌گرم آدالیموماب، افزایش معناداری در میزان فعالیت آنزیم SOD مشاهده شده است ($p < 0/001$)، و با افزایش دوز آدالیموماب در گروه چهارم، میزان فعالیت آنزیم به میزان بیشتری افزایش یافته است ($p < 0/001$).

بررسی تأثیر آدالیموماب بر سطح سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

در نمودار ۶، آنالیز داده‌ها نشان می‌دهد که سطح قابل ملاحظه‌ای از فعالیت SOD در موش‌های صحرائی گروه دوم، در مقایسه با موش‌های صحرائی گروه اول کاهش یافته است و این اختلاف از نظر آماری معنادار است

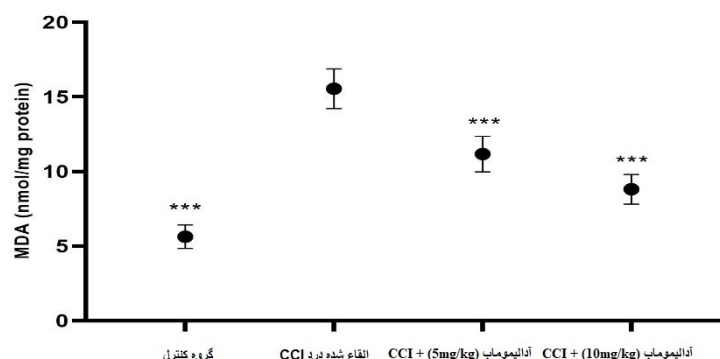


نمودار ۶. مقایسه تأثیر درمانی آدالیموماب در گروه‌های مختلف بر سطح SOD. $p < 0/001$ *** در مقایسه با گروه CCI

نمودار ۷ نشان می‌دهد که در گروه سوم و چهارم که آدالیموماب را به ترتیب با دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم دریافت کرده‌اند، در مقایسه با گروه دوم، کاهش معناداری در سطح MDA دیده می‌شود ($P < 0/001$).

بررسی تأثیر آدالیموماب بر سطح MDA

مطابق با نتایج به دست آمده از آنالیز سطح آنزیم MDA، به دنبال القای CCI در گروه دوم، افزایش معناداری در این گروه نسبت به گروه موش‌های صحرایی سالم وجود دارد ($P < 0/001$). همچنین بررسی

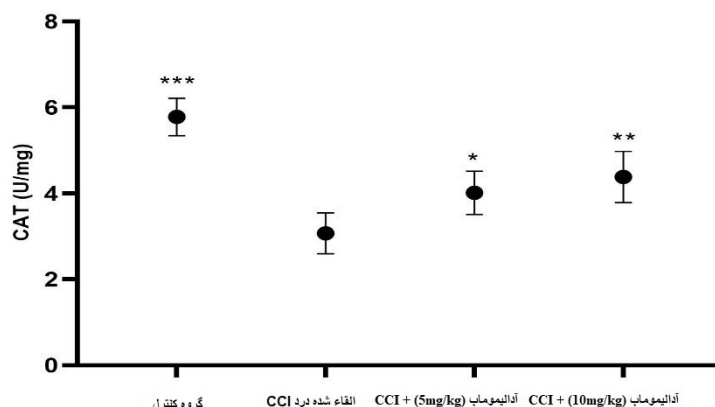


نمودار ۷. مقایسه تأثیر درمانی آدالیموماب در گروه‌های مختلف بر سطح MDA. $p < 0/001$ *** در مقایسه با گروه CCI

صحرایی گروه سالم، به صورت معناداری کاهش یافته است ($P < 0/001$). با این اوصاف، در گروه‌های سوم و چهارم، به صورت وابسته به دوز، سطح آنزیم کاتالاز نسبت به گروه دوم به طور قابل ملاحظه‌ای و به صورت معنادار افزایش یافته است (به ترتیب نسبت به گروه سوم و چهارم $P < 0/05$ و $P < 0/01$).

بررسی تأثیر آدالیموماب بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

آنزیم کاتالاز یک آنزیم آنتی اکسیدان است که مطابق نتایج آنالیز بین میانگین سطح آنزیم CAT در گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معناداری وجود دارد (نمودار ۸). در این مطالعه مشخص شده است که سطح آنزیم کاتالاز در موش‌های صحرایی گروه دوم نسبت به موش‌های

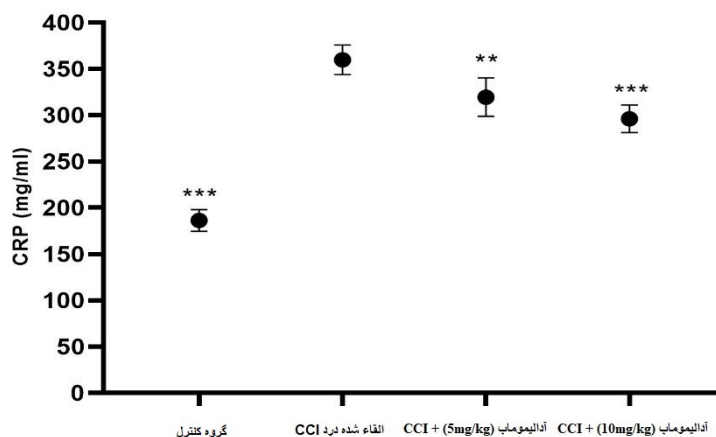


نمودار ۸. مقایسه تأثیر درمانی آدالیموماب در گروه‌های مختلف بر سطح CAT. $P < 0/001$ = ***, $P < 0/01$ = **, $P < 0/05$ = * در مقایسه با گروه CCI

بررسی تأثیر آدالیموماب بر سطح CRP

بررسی آنالیز داده‌ها، مشخص نموده است که افزایش قابل ملاحظه‌ای، و به‌صورت معنادار، در سطح فعالیت CRP در گروه دوم نسبت به موش‌های صحرایی گروه اول دیده می‌شود ($P < 0/001$). با این حال، با دریافت آدالیموماب در گروه سوم، سطح فعالیت CRP به‌صورت

معناداری، نسبت به گروه دوم، کاهش یافته است ($P < 0/01$). همچنین، در گروه چهارم، که موش‌های صحرایی این گروه دوز بیشتری از داروی آدالیموماب را دریافت کرده‌اند، سطح فعالیت CRP نسبت به گروه دوم کاهش قابل ملاحظه‌ای را نشان داده است ($P < 0/001$). (نمودار ۹).



نمودار ۹. مقایسه تأثیر درمانی آدالیموماب در گروه‌های مختلف بر سطح CRP. $P < 0/001$ = ***, $P < 0/01$ = ** در مقایسه با گروه CCI

بحث و نتیجه‌گیری

داده‌های بدست آمده در این مطالعه تحقیقاتی، نشان داد که القاء CCI باعث درد نوروپاتیک و همچنین افزایش میزان فعالیت فاکتورهای التهابی و استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی می‌شود. با این اوصاف، تزریق داروی آدالیموماب، به‌صورت وابسته به دوز، مشخص نمود که

بهبود شاخص پاسخ‌های رفتاری تست‌های آلودینیای حرارتی، آلودینیای مکانیکی و هیپرآلژزی حرارتی در گروه‌های سوم و چهارم، نسبت به گروه دوم افزایش می‌یابد. همچنین، بررسی نتایج مشخص کرد که تجویز این دارو با تعدیل شدن پاسخ‌های التهابی و استرس اکسیداتیو در این نوع درد همراه است.

مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که داروی آدالیموماب می‌تواند در درمان بیماری آلزایمر (۲۲،۲۳)، ایسکمی-رپر فیوژن (۲۴،۲۵) و آسیب‌های نخاعی اثرات مفیدی داشته باشد (۲۶). Jing-Jing Xu و همکاران در سال ۲۰۲۱ نشان دادند که آدالیموماب می‌تواند با غیرفعال کردن ماکروفاژها و کاهش سطح سایتوکین‌های التهابی از جمله $TNF-\alpha$ ، $IL-12$ ، $IL-6$ ، $IFN\gamma$ و $IL-1\beta$ ، نقش مهمی را کاهش التهاب و آسیب عصبی داشته باشد (۲۷). در مطالعه‌ای دیگر که توسط Yasar Karatas و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام شد، محققین نشان دادند که در مدل آسیب ایسکمی-رپر فیوژن نخاعی، سطح فاکتورهای التهابی از جمله $TNF-\alpha$ و $IL-6$ به صورت قابل توجهی افزایش می‌یابد و در نتیجه تجویز داروی آدالیموماب، علاوه بر کاهش سطح سایتوکین‌های التهابی، میزان آسیب عصبی در نخاع و نیز تعداد سلول‌های آپوپتوز شده نیز کاهش می‌یابد (۲۸). در مطالعه‌ای دیگر که در سال ۲۰۲۴ انجام شده است، مشخص شده است که آدالیموماب با مهار التهاب و تنظیم آزادسازی BDNF، از اختلال شناختی ناشی از لیپوپلی ساکارید جلوگیری نماید (۲۹). در میکروگلیای مغز، لیپوپلی ساکارید با اتصال به گیرنده‌های Toll-Like Receptor 4، می‌تواند باعث ایجاد التهاب در عصب شود (۲۹). همچنین مشخص شده است که در آسیب قلبی ناشی از لیپوپلی ساکارید، آدالیموماب با کاهش فعالیت سایتوکین‌های التهابی، موجب کاهش آسیب‌های میوکارد می‌شود (۳۰). همچنین مشخص شده است که آدالیموماب، ضمن توانایی اثر بر روی سطح آنزیم MDA، می‌تواند باعث کاهش دژنراسیون اکسیداتیو چربی‌ها (پراکسیداسیون لیپید) و آپوپتوز گردد (۳۱). بررسی‌ها نشان داده است که دوز بالای آدالیموماب (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم/روز)، تأثیر بر سطوح MPO و $TNF-\alpha$ نداشته، ولی در دوز پایین (۵

میلی‌گرم/کیلوگرم/روز) می‌تواند به صورت معناداری سطح آنزیم‌های $TNF\alpha$ و MDA را کاهش دهد (۳۲). در این پژوهش مشخص شد که آدالیموماب می‌تواند باعث کاهش فعالیت سایتوکین‌های التهابی از جمله $TNF-\alpha$ ، $IL-6$ و CRP شود، و همچنین با کاهش فعالیت MDA و افزایش آنزیم‌های SOD و CAT اثرات آنتی‌اکسیداتیو داشته باشد. در مجموع، فعالیت‌های ضدالتهابی و آنتی‌اکسیداتیو آدالیموماب، با بهبود شاخص‌های درد نوروپاتی، باعث اثرات محافظتی در برابر مدل درد تجربی Chronic Constriction Injury گردید. پیشنهاد می‌شود که از آدالیموماب می‌توان به عنوان یک داروی موثر در برابر دردهای نوروپاتی استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله کلیه نویسندگان از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی لرستان جهت تامین منابع مالی، و همچنین پرسنل مرکز حیوانات علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان جهت فراهم نمودن فضای مطالعه در آن مرکز، کمال تشکر را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام میدارند که هیچگونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

مشارکت نویسندگان

طراحی مطالعه و ایده اولیه: امین حسنوند، مجتبی خاکساریان؛ جمع‌آوری داده‌ها: امین حسنوند، مجتبی خاکساریان، عارفه غیاثوند، محمدجواد نورمحمدی، فاطمه حاتمی، زهرا حقیقتیان؛ آنالیز و آماری: یاسر مخیری و امین حسنوند.

حمایت مالی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی لرستان انجام شده است.

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش بعد از اخذ کد اخلاق به شماره IR.LUMS.REC.1401.141 مطابق با دستورالعمل-های وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، و مدنظر قرار دادن کلیه نکات اخلاقی، به انجام رسیده است.

References

1. Finnerup NB, Kuner R, Jensen TS. Neuropathic pain: from mechanisms to treatment. *Physiological reviews*. 2021;101(1):259-301.
2. Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, Baron R, Dickenson AH, Yarnitsky D, et al. Neuropathic pain. *Nature reviews Disease primers*. 2017;3(1):1-19.
3. Shinu P, Morsy MA, Nair AB, Mouslem AKA, Venugopala KN, Goyal M, et al. Novel therapies for the treatment of neuropathic pain: potential and pitfalls. *Journal of Clinical Medicine*. 2022;11(11):3002.
4. Hung AL, Lim M, Doshi TL. Targeting cytokines for treatment of neuropathic pain. *Scandinavian journal of pain*. 2017;17:287-93.
5. Vanderwall AG, Milligan ED. Cytokines in Pain: Harnessing Endogenous Anti-Inflammatory Signaling for Improved Pain Management. *Frontiers in immunology*. 201.10:3009;9.
6. Huang C, Zou W, Lee K, Wang E, Zhu X, Guo Q. Different symptoms of neuropathic pain can be induced by different degrees of compressive force on the C7 dorsal root of rats. *The Spine Journal*. 2012;12(12):1154-60.
7. Zelenka M, Schäfers M, Sommer C. Intraneural injection of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha into rat sciatic nerve at physiological doses induces signs of neuropathic pain. *Pain*. 2005;116(3):257-63.
8. Totsch SK, Sorge RE. Immune System Involvement in Specific Pain Conditions. *Molecular pain*. 2017;13:1744806917724559.
9. Francois F, Naimi L, Roblin X, Berger AE, Paul S. Adalimumab and anti-adalimumab LISA-TRACKER immunoassays performance criteria for therapeutic drug monitoring of adalimumab-amgen biosimilar (ABP50). *BMC immunology*. 2021;22(1):81.
10. Sarioğlu N, Sunay FB, Yay AH, Korkut O, Erel F, Hişmioğullari AA, et al. Antiinflammatory effects of adalimumab, tocilizumab, and steroid on lipopolysaccharide-induced lung injury. *Turkish journal of medical sciences*. 51-2741(5)51;2021.
11. Park J, Lee S-Y, Shon J, Kim K, Lee HJ, Kim KA, et al. Adalimumab improves cognitive impairment, exerts neuroprotective effects and attenuates neuroinflammation in an Aβ1-40-injected mouse model of Alzheimer's disease. *Cytotherapy*. 82-671:(6)21;2019.
12. Öz M, Şimşek H. The antinociceptive effect of adalimumab, a TNF-alpha inhibitor, in a mice model of inflammatory pain. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*. 2020;11(3):89-93.
13. Cao Y, Harvey BP, Hong F, Ruzek M, Wang J, Murphy ER, et al. Adalimumab Induces a Wound Healing Profile in Patients with Hidradenitis Suppurativa by Regulating Macrophage Differentiation and Matrix Metalloproteinase Expression.

- Journal of Investigative Dermatology. 2021;141(11):2730-40.e9.
14. Liu Y, Zhang F, Sun Q, Liang L. Adalimumab combined with erythropoietin improves recovery from spinal cord injury by suppressing microglial M1 polarization-mediated neural inflammation and apoptosis. *Inflammopharmacology*. 2023;31(2):887-97.
 15. Fonseca-Rodrigues D, Amorim D, Almeida A, Pinto-Ribeiro F. Emotional and cognitive impairments in the peripheral nerve chronic constriction injury model (CCI) of neuropathic pain: A systematic review. *Behavioural brain research*. 2021;399:113008.
 16. Chen S-M, Wang M-H, Soung H-S, Tseng H-C, Fang C-H, Lin Y-W, et al. Neuroprotective effect of l-theanine in a rat model of chronic constriction injury of sciatic nerve-induced neuropathic pain. *Journal of the Formosan Medical Association*. 2022;121(4):802-14.
 17. Bennett GJ, Xie Y-K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*. 1988;33(1):87-107.
 18. Kukkar A, Singh N, Jaggi AS. Neuropathic pain-attenuating potential of aliskiren in chronic constriction injury model in rats. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*. 2013;14(2):116-23.
 19. Safakhah HA, Bazargani A, Ghanbari A. Effects of forced exercise on neuropathic pain induced by chronic constriction injury of sciatic nerve in male rat. 2016.
 20. Hasanvand A, Ahmadizar F, Abbaszadeh A, Amini-Khoei H, Goudarzi M, Abbasnezhad A, et al. The Antinociceptive Effects of Rosuvastatin in Chronic Constriction Injury Model of Male Rats. *Basic and clinical neuroscience*. 2018;9(4):251-60.
 21. Darabi S, Hasanvand A, Nourollahi A. Assessment of the effects of anti-inflammatory of garlic; nettle leaves and olives extracts in STZ-induced diabetic rat. 2016.
 22. Torres-Acosta N, O'Keefe JH, O'Keefe EL, Isaacson R, Small G. Therapeutic potential of TNF- α inhibition for Alzheimer's disease prevention. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2020;78(2):619-26.
 23. Zhou M, Xu R, Kaelber DC, Gurney ME. Tumor Necrosis Factor (TNF) blocking agents are associated with lower risk for Alzheimer's disease in patients with rheumatoid arthritis and psoriasis. *PloS one*. 2020;15(3):e0229819.
 24. Beyazit F, Büyük B, Turkon H, Elmas S, Uzun M. Adalimumab mitigates ovarian ischemia-reperfusion injury in rats by regulating oxidative stress, apoptosis and resolution of inflammation. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2019;45(2):358-67.
 25. Cüre MC, Cüre E, Kalkan Y, Tümkaya L, Aydın İ, Kırbaş A, et al. The protective effect of adalimumab on renal injury in a

- model of abdominal aorta cross-clamping. 2016.
26. Börcek A, Çivi S, Öcal Ö, Gülbahar Ö. Effects of tumor necrosis factor alpha blocker adalimumab in experimental spinal cord injury. *Journal of Korean Neurosurgical Society*. 2015;57(2):73-6.
 27. Xu JJ, Guo S, Xue R, Xiao L, Kou JN, Liu YQ, et al. Adalimumab ameliorates memory impairments and neuroinflammation in chronic cerebral hypoperfusion rats. *Aging*. 2021;13(10):14001-14.
 28. Karatas Y, Erdi MF, Kaya B, Keskin F, Kılınç İ, Uyar M, et al. The efficacy of adalimumab on experimentally induced spinal cord ischemia-reperfusion injury. *Romanian Neurosurgery*. 2020:254-60.
 29. Öz M, Erdal H. A TNF- α inhibitor abolishes sepsis-induced cognitive impairment in mice by modulating acetylcholine and nitric oxide homeostasis, BDNF release, and neuroinflammation. *Behavioural Brain Research*. 2024;466:114995.
 30. Durmaz S, Kurtoğlu T, Barbarus E, Eliyatkin N, Yılmaz M. TNF-alpha inhibitor adalimumab attenuates endotoxin induced cardiac damage in rats. *Acta chirurgica brasileira*. 2020;35:e202000202.
 31. Pergel A, Tümkaya L, Demiral G, Çolakoğlu MK, Kalcan S, Özdemir A, et al. The protective effects of adalimumab on intestinal injury induced with infrarenal aortic occlusion. 2020.
 32. Kocamaz H, Özdemir Ö M, Türk N, Enli Y, Şahin B, Ergin H. Dose-dependent effects of adalimumab in neonatal rats with hypoxia/reoxygenation-induced intestinal damage. *Bosnian journal of basic medical sciences*. 2021;21(1):33-8.

Investigating the analgesic effects of Adalimumab in chronic constriction injury (CCI) experimental pain model in rats

Hasanvand A¹, Ghiasvand A², Nourmohammadi Mj², Hatami F², Haghghatian³, Mokhayeri Y⁴, Khaksarian M^{1*}

1. Associate Professor, Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran, mojkhaksar@yahoo.com

2. Student, Student Research Committee, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

3. Assistant professor, Department of Pathology, School of Medicine, Lorestan University of Medical Science, Khorramabad, Iran

4. Assistant professor, Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Health and Nutrition, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

Received: 2024/6/25 Accepted: 2024/10/5

Abstract

Background: Neuropathic pain is one of the most important chronic and pathological problems that can cause disruptions in human life. Some studies indicated that the release of inflammatory cytokines and increased oxidative activity can increase nerve damage. Adalimumab is a human anti-monoclonal drug that can cause therapeutic effects in different diseases. The present study aimed to investigate the analgesic effects of adalimumab in the chronic constriction injury (CCI) experimental pain model in rats.

Materials and Methods: A total of 20 male Wistar rats were utilized in this study and were randomly assigned to four groups: the first group served as the control, the second group underwent CCI, the third group received CCI in conjunction with adalimumab (5 mg/kg), and the fourth group received CCI with adalimumab (10 mg/kg). Behavioral assessments were conducted 4, 7, and 14 days post-CCI induction. The spinal cords were extracted after these assessments, and the supernatants were analyzed for inflammatory and oxidative enzymes. Data analysis was performed using Prism GraphPad statistical software.

Results: The analysis of the obtained data indicated that the injection of adalimumab in the third and fourth groups decreased the activity of inflammatory cytokines, such as TNF- α , IL-6, and CRP. In addition, it decreased the activity of MDA and increased the SOD and CAT enzymes. Moreover, adalimumab significantly improved the outcomes of thermal allodynia, mechanical allodynia, and thermal hyperalgesia in the CCI rats treated with this medication.

Conclusion: The administration of adalimumab can be used to treat or reduce neuropathic pain with its anti-inflammatory and antioxidant activity, along with neuroprotective effects.

Keywords: Adalimumab, Neuropathic pain, Chronic constriction injury (CCI), Rat.

***Citation:** Hasanvand A, Ghiasvand A, Nourmohammadi Mj, Hatami F, Haghghatian, Mokhayeri Y, Khaksarian M. Investigating the analgesic effects of Adalimumab in chronic constriction injury (CCI) experimental pain model in rats. *Yafte*. 2024; 26(3):45-59.