

تداخل عمل بین انسولین و سیستم اپیوئیدی در آزمون فرمالین موشهای سوری

اسماعیل تمدنفر^{۱*} مجتبی گلی^۲ صنونسیدنژاد^۳

(۱) گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.

(۲) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.

(۳) کارشناس آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.

(دریافت مقاله: ۱۶ شهریور ماه ۱۳۸۵، پذیرش نهایی: ۱۲ اسفند ماه ۱۳۸۶)

چکیده

اثرات انسولین (۱ و ۲ و ۳ واحد به کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی)، مرفین (۵ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی)، نالوکسان (۵ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن بدن، زیرجلدی) و انسولین قبل از مرفین و پس از نالوکسان در آزمون فرمالین موشهای سوری مطالعه شده است. آزمون فرمالین با تزریق کف پای فرمالین (۵ درصد، ۲۰ میکرولیتر) ایجاد شد. مرفین به تنهایی و انسولین به همراه مرفین مرحله اول (دقایق ۵-۰) درد را کاهش دادند. نالوکسان محدوده بین دوم مرحله (دقایق ۲۰-۶) درد را افزایش داد. انسولین و مرفین مرحله دوم (دقایق ۴۰-۲۱) را کاهش دادند. انسولین کاهش درد ناشی از مرفین را افزایش داد. نالوکسان اثر تضعیف کننده انسولین را تخفیف داد. به نظر می‌رسد که در آزمون درد فرمالین، اثر کاهش دهنده درد توسط انسولین ممکن است وابسته به فعال شدن سیستم اپیوئیدی باشد.

واژه‌های کلیدی: انسولین، مرفین، نالوکسان، درد فرمالینی، موش‌های سوری.

مکانیسم اثر کاهش درد توسط انسولین هنوز مشخص نشده است ولی با به کارگیری آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های واسطه‌های عصبی شیمیایی نظیر سروتونین، دوپامین، اپیوئیدها و غیره مطرح کرده‌اند که انسولین سیستم‌های نوروترنسیتمتری مغز را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲، ۱۵). در مطالعه حاضر اثر تزریق داخل صفاقی انسولین بر مراحل اول، اینترفاز و دوم پاسخ درد ناشی از تزریق کف پای فرمالین و پی بردن به وجود تداخل عمل بین انسولین و سیستم اپیوئیدی در درد با استفاده از آگونیست (مرفین) و آنتاگونیست (نالوکسان) سیستم اپیوئیدی بررسی شده است.

مواد و روش کار

در این تجربه از تعداد ۷۲ عدد موش سوری نر سالم نژاد NMRI با وزن ۲۷-۲۳ گرم استفاده شد. حیوانات پس از تهیه در گروه‌های هشت تایی در قفس‌های پرورشی در آزمایشگاه با درجه حرارت ۲۳-۲۰ درجه سانتیگراد و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعت (شروع روشنایی ساعت ۷ و شروع تاریکی ساعت ۱۹) نگهداری شدند. غذای پلتی استاندارد و آب به طور آزاد در اختیار حیوانات قرار داشت. گروه بندی حیوانات، زمان بندی، روش‌های تزریق و مواد تزریق شده براساس جدول شماره یک انجام شد. گروه اول به عنوان شاهد گروه دوم و ارزیابی کاهش احتمالی درد توسط محلول‌های دارویی تا حد شاهد و گروه‌های هشتم و نهم جهت بررسی تداخل اثر بین سیستم اپیوئیدی و انسولین طرح ریزی شدند. در هر گروه هشت سرموش سوری قرار داده شد.

تزریق داخل صفاقی با سرسوزن شماره ۲۵ و به حجم یک میلی لیتر به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن، تزریق زیرجلدی با سرسوزن شماره ۲۷ و به حجم

مقدمه

انسولین به عنوان یک هورمون در سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس لوزالمعده تولید می‌شود و اثرات فیزیولوژیک آن شامل سه نوع سریع، بینابینی و تأخیری است. اثر سریع آن شامل انتقال گلوکز، اسیدهای آمینه و یون‌های پتاسیم به داخل سلول‌های حساس به انسولین است که در عرض چند ثانیه انجام می‌گیرد. اثر بینابینی در چندین دقیقه انجام می‌گیرد و در این نوع اثر انسولین با فعال و یا مهار کردن آنزیم‌های مسئول کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها سروکار دارد. مهمترین اثر تأخیری انسولین افزایش mRNAهای مسئول سنتز آنزیم‌های لیپوژنیک می‌باشد که چند ساعت به طول می‌کشد (۵). براساس مطالعات انجام شده، اعمال دیگری نیز برای انسولین مشخص شده است از جمله شرکت در فرآیندهای تولید مثل و توسعه بیماری‌های نورودژنراتیو (۱۷)، تنظیم فرآیندهای یادگیری و حافظه (۲۱)، اثر محافظتی در ضایعات ناشی از ایسکمی در کلیه‌ها (۱۳) و قلب (۱)، اثر پیش‌برنده در التیام زخم (۱۲) و اثر ضد التهابی (۷، ۱۴).

در سال‌های اخیر با استفاده از آزمون‌های درد در موش‌های سوری ورت مشخص کرده‌اند که انسولین اثر کاهش دهنده درد دارد. تزریق زیرجلدی انسولین برای مدت هفت روز موجب کاهش پاسخ درد در موش‌های سوری شده است (۹). در موش‌های رت دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، تزریق انسولین موجب کاهش آلودینی مکانیکی شده است (۴). در آزمون تلنگردمی (tail flick) موش‌های سوری، تزریق زیرجلدی انسولین موجب افزایش آستانه پاسخ درد شده است (۲). تزریق زیرجلدی انسولین موجب کاهش پاسخ درد مرحله دوم در آزمون درد فرمالینی شده است (۱۵).



جدول ۱- گروه بندی حیوانات، زمان بندی، روشهای تزریق و مواد تزریق شده در مطالعه حاضر.

گروه	زمان بندی، روشهای تزریق و مواد تزریق شده
اول	تزریق داخل صفاقی سالیین نرمال، ۱۵ دقیقه بعد تزریق کف پایي سالیین نرمال
دوم	تزریق داخل صفاقی سالیین نرمال، ۱۵ دقیقه بعد تزریق کف پایي فرمالین ۵ درصد
سوم	تزریق داخل صفاقی انسولین (۱ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ۳۰ دقیقه بعد تزریق کف پایي فرمالین ۵ درصد
چهارم	تزریق داخل صفاقی انسولین (۲ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ۳۰ دقیقه بعد تزریق کف پایي فرمالین ۵ درصد
پنجم	تزریق داخل صفاقی انسولین (۳ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ۳۰ دقیقه بعد تزریق کف پایي فرمالین ۵ درصد
ششم	تزریق داخل صفاقی مرفین (۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ۳۰ دقیقه بعد تزریق کف پایي فرمالین ۵ درصد
هفتم	تزریق زیر جلدی نالوکسان (۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ۲۵ دقیقه بعد تزریق کف پایي فرمالین ۵ درصد
هشتم	تزریق داخل صفاقی انسولین (۲ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ۱۵ دقیقه بعد تزریق داخل صفاقی مرفین (۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ۱۵ دقیقه بعد تزریق کف پایي فرمالین ۵ درصد
نهم	تزریق زیر جلدی نالوکسان (۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ۲۰ دقیقه بعد تزریق داخل صفاقی انسولین (۲ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ۱۵ دقیقه بعد تزریق کف پایي فرمالین ۵ درصد

یک دهم میلی لیتر در ناحیه پشت گردن و تزریق کف پایي با سر سوزن شماره ۲۹ و به حجم ۲۰ میکرو لیتر انجام شد. برای ثبت رفتار حاصل از تزریق کف پایي فرمالین، حیوانات نیم ساعت قبل از هر نوع تزریق در داخل جعبه آزمون فرمالین قرار داده شدند. پس از تزریق کف پایي فرمالین به رفتارهای زیر در

انتهای هر ۱۵ ثانیه، در فواصل زمانی ۵ دقیقه ای و برای مدت یک ساعت توسط افرادی اطلاع از نوع تزریقات نمره داده شد (تصویری یک): تحمل وزن بدن بر روی هر دو پا (نمره صفر)، گذاشتن نوک و یا کناره پنجه پا بر کف و برداشتن آن (نمره یک)، بلند کردن و در نزدیکی بدن نگهداشتن پای تزریق شده (نمره دو) و لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده (نمره ۳). میانگین رفتارهای درد در فواصل زمانی ۵-۲۰ (مرحله اول)، ۲۰-۶۰ (اینترفاز)، ۴۰-۲۱ (مرحله دوم) پس از تزریق فرمالین با توجه به تحقیقات انجام شده در زمینه مراحل درد فرمالین (۲۵، ۲۴، ۲۳)، توسط آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه و سپس آزمون دانکن تجزیه و تحلیل شدند (۱۶). در نمودارها، داده ها به صورت $Mean \pm SEM$ آورده شده اند و در سطح معنی دار $p < 0.05$ ارزیابی شده اند.

نتایج مربوط به اثر مواد و محلول های تزریق شده بر شدت درد مرحله دوم (دقایق ۴۰-۲۱ پس از تزریق) درد فرمالینی در نمودار سه آورده شده است. شدت درد ناشی از تزریق کف پایي سالیین نرمال و فرمالین به ترتیب 0.1 ± 0.1 و 0.4 ± 0.1 با اختلاف معنی دار ($p < 0.05$) بدست آمد. انسولین در مقادیر ۲ و ۳ واحد و مرفین پاسخ درد فرمالین را بطور معنی دار ($p < 0.05$) کاهش دادند. انسولین (۲ واحد) قبل از مرفین موجب کاهش معنی دار ($p < 0.05$) شدت درد در مقایسه با انسولین و مرفین به تنهایی شد. نالوکسان شدت درد را تغییر نداد و تزریق آن قبل از انسولین موجب افزایش معنی دار ($p < 0.05$) شدت درد در مقایسه با انسولین شد.

بحث

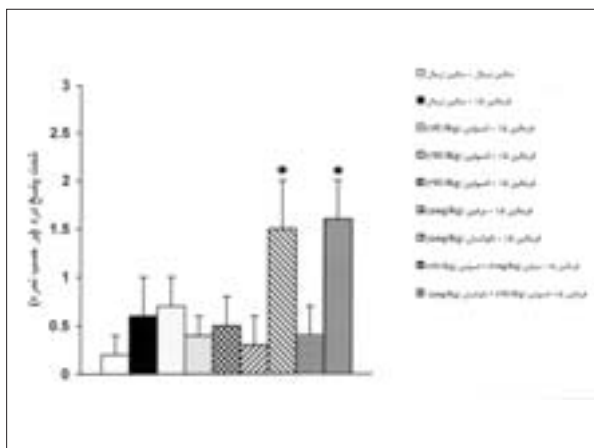
نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که انسولین بدون اثر بر پاسخ مرحله اول و اینترفاز، پاسخ درد را در مرحله دوم پس از تزریق فرمالین کاهش داد. مرحله اول درد فرمالینی که به مرحله فاز یک و درد نورونژیک معروف است به علت تحریک مستقیم گیرنده های درد توسط فرمالین، بعنوان یک ماده دردزا، ایجاد می شود (۱۸، ۲۶). تزریق زیر جلدی انسولین در مقادیر ۰/۲۴، ۰/۷۵، ۰/۴ و ۲/۷ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پا در مرحله اول متعاقب تزریق کف پایي فرمالین یک درصد تغییری ایجاد نکرده است (۱۵). نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر با به کار بردن داخل صفاقی انسولین در مقادیر ۱ و ۲ و ۳ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن با یافته تحقیق مذکور کاملاً هم خوانی دارد و نشان می دهد که انسولین احتمالاً بر درد نورونژیک اثر نمی گذارد. مرحله بین دو مرحله درد فرمالینی، مرحله اینترفاز، نام گرفته و در آن کاهش شدید واکنش های درد مشاهده شده است و بر اساس دلایل الکتروفیزیولوژی با ثبت فعالیت

نتایج

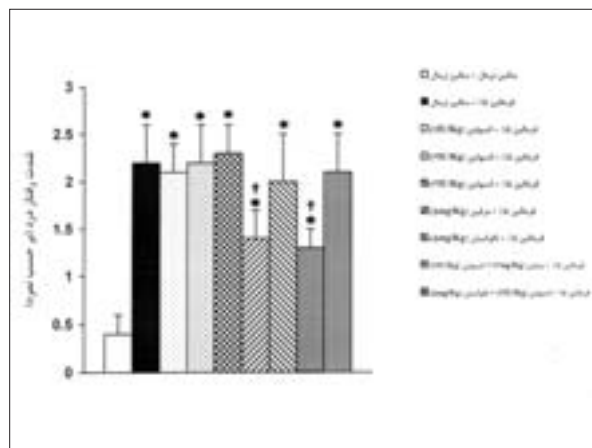
نتایج مربوط به اثر مواد و محلول های تزریق شده بر شدت درد مرحله اول (دقایق ۵-۰ پس از تزریق) درد فرمالینی در نمودار یک آورده شده است. شدت درد متعاقب تزریق کف پایي سالیین نرمال و فرمالین به ترتیب 0.2 ± 0.4 و 0.4 ± 0.2 با اختلاف معنی دار ($p < 0.05$) بدست آمد. انسولین در شدت مرحله اول درد فرمالینی تغییری ایجاد نکرد ولی مرفین آن را بطور معنی دار ($p < 0.05$) کاهش داد. انسولین بر کاهش درد مرفین اثر نگذاشت. نالوکسان شدت درد ناشی از فرمالین را تغییری نداد و انسولین پس از نالوکسان بر پاسخ درد نالوکسان اثر نگذاشت.

نتایج مربوط به اثر مواد و محلول های تزریق شده بر شدت درد مرحله اینترفاز (دقایق ۲۰-۶ پس از تزریق) درد فرمالینی در نمودار دو آورده شده است. شدت درد ناشی از تزریق کف پایي سالیین نرمال و فرمالین به ترتیب

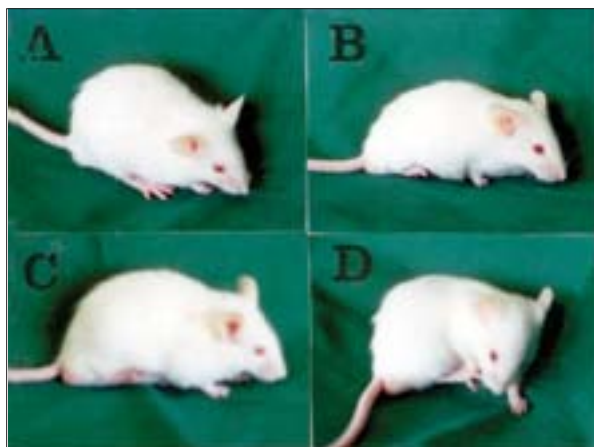




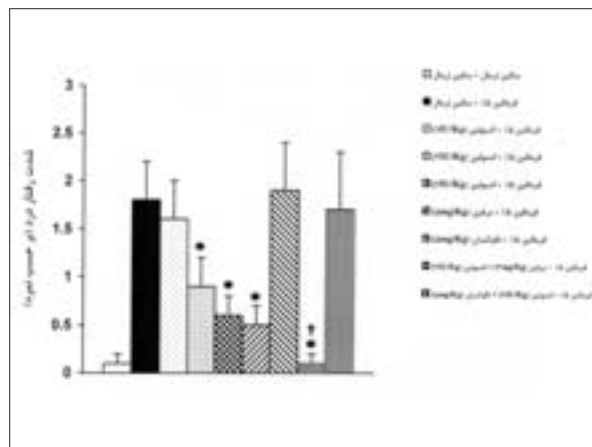
نمودار ۲ - اثرات تزریق داخل صفاقی انسولین، مرفین و زیرجلدی نالوکسان بر پاسخ اینترفاز اول (دقایق ۲۰-۶) درد (بر حسب نمره) ناشی از تزریق کف پای فرمالین در موشهای سوری. (* در مقایسه با سایر گروهها، تفاوت معنی دار است ($p < 0.05$)). تعداد حیوان در هر گروه هشت سر می باشد.



نمودار ۱ - اثرات تزریق داخل صفاقی انسولین و مرفین و زیرجلدی نالوکسان بر پاسخ مرحله اول (دقایق ۵-۱۰) درد (بر حسب نمره) ناشی از تزریق کف پای فرمالین ۵ درصد در موشهای سوری. (* در مقایسه با گروه سالیین نرمال + سالیین نرمال، تفاوت معنی دار است ($p < 0.05$)). († در مقایسه با بقیه گروهها، تفاوت معنی دار است ($p < 0.05$)). تعداد حیوان در هر گروه هشت سر می باشد.



تصویر ۱، پاسخ های درد در موشهای سوری بر حسب نمره پس از تزریق کف پای فرمالین.
A: نمره ۰: در حالت عادی و تحمل وزن بر روی هر دو پا.
B: نمره ۱: گذاشتن نوک و یا پاشنه پا بر کف و بلند کردن آن.
C: نمره ۲: بلند کردن و بالا نگهداشتن پای تزریق شده.
D: نمره ۳: لیسیدن و گاز گرفتن پنجه پای تزریق شده.



نمودار ۳ - اثرات تزریق داخل صفاقی انسولین، مرفین و زیرجلدی نالوکسان بر پاسخ مرحله دوم (دقایق ۴۰-۲۱) درد (بر حسب نمره) ناشی از تزریق کف پای فرمالین ۵ درصد در موشهای سوری. (* در مقایسه با سایر گروهها، تفاوت معنی دار است ($p < 0.05$)). († در مقایسه با بقیه گروهها منهای سالیین نرمال + سالیین نرمال، تفاوت معنی دار است ($p < 0.05$)). تعداد حیوان در هر گروه هشت سر می باشد.

مطالعه حاضر اثر انسولین بر پاسخ های درد فرمالین ۵ درصد بررسی شده است در حالی که در مطالعه Nobuaki و Isamue (۱۸) اثر انسولین بر درد ناشی از تزریق کف پای فرمالین یک درصد تحقیق شده است. بطور کامل مشخص شده است که افزایش غلظت فرمالین، شدت واکنش های درد را افزایش می دهد (۱۹).

نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که مرفین بدون اثر بر مرحله اینترفاز، پاسخ درد را در مراحل اول و دوم درد فرمالینی کاهش داد و نالوکسان بدون تغییر دادن پاسخ درد مرحله اول و دوم، آنرا در مرحله اینترفاز تشدید نمود. سال هاست که از مرفین به عنوان ماده مهار کننده درد استفاده می شود (۱۱). مطالعات انجام شده مشخص کرده اند که اثر ضد درد مرفین در سطوح موضعی، محیطی، نخاعی و مغزی ایجاد می شود. تزریق کف پای مرفین

الکتریکی نورون های نوسی سیتیبوشاخ حسی نخاع مطرح کرده اند که این مرحله به علت فعال شدن مکانیسم های مهار کننده داخلی درد در سطح نخاع ایجاد می شود (۶). در مطالعه حاضر اثر قابل توجهی از انسولین بر اینترفاز مشاهده نشد. مرحله دوم درد فرمالینی که به مرحله تأخیری، درد تونیک و درد التهابی معروف است به علت تحریک گیرنده های درد توسط انواع مختلف واسطه های پیش التهابی و التهابی موضعی و یا فراخوان شده ایجاد می شود (۱۸، ۲۶). متعاقب تزریق زیرجلدی انسولین در مقادیر ۰/۷۵، ۰/۲۴ و ۷/۵ و نه، واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، کاهش پاسخ درد مرحله دوم مشاهده شده است (۱۵۸) که با یافته های مطالعه حاضر پس از به کار بردن ۲ و ۳ و نه یک واحد انسولین کاملاً هم خوانی دارد. علت عدم اثر انسولین در مقدار یک واحد در مطالعه حاضر می تواند به این دلیل باشد که در



References

1. Abel, E. D. (2004) Insulin signaling in heart muscle: lessons from genetically engineered mouse models. *Curr. Hypertens. Rep.* 6: 416-423.
2. Anuradha, K., Hota, D., Pandhi, P. (2004) Possible mechanisms of insulin antinociception. *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.* 26: 5-8.
3. Baamonde, A., Alvarez, V. M., Hidalgo, A., Menendez, L. (2000) Effects of intraplantar morphine in the mouse formalin test. *Jpn. J. Pharmacol.* 83: 154-156.
4. Calcutt, N. A., Jorge, M. C., Yaksh, T. L., Chaplan, S. R. (1996) Tactile allodynia and formalin hyperalgesia in streptozotocin - diabetic rats: effects of insulin, aldose reductase inhibition and lidocaine. *Pain.* 68: 293-299.
5. Ganong, W. F. (1991) Review of medical physiology, 15th ed., a LANGE medical book, Prentice - Hall International Inc. USA. pp. 313-317.
6. Henry, J. L., Yashpal, K., Pitcher, G. M., Coderre, T. J. (1999) Physiological evidence that the interphase in the formalin test is due to active inhibition. *Pain.* 82: 57-63.
7. Jeschke, M. G., Einspanier, R., Klein, D., Jauch, K. W. (2002) Insulin attenuates the systemic inflammatory response to thermal trauma. *Mol. Med.* 8: 443-450.
8. Kjaer, A., Knigge, U., Madsen, E. L., Bach, F., Warberg, J. (1993) Insulin/hypoglycemia - induced adrenocorticotropin and β -endorphine release: involvement of hypothalamin histaminergic neurons. *Endocrinol.* 132: 2213-2220.
9. Kleinrok, Z., Sieklucka, D. M., Sek, A., Rodziewicz, E., Latus, E. (1987) The effect of repeated administration of insulin on pain threshold and gamma-aminobutyric acid level in mouse brain. *Acta. Physiol. Pol.* 38: 477-482.
10. McCormack, K., Prather, P., Chapleo, C. (1998) Some new insights into the effects of opioid in phasic and tonic nociceptive tests. *Pain.* 78: 79-98.
11. MacPherson, R. D. (2000) The pharmacological basis of contemporary pain management. *Pharmacol. Ther.* 8: 163-185.
12. Madibally, S. V., Solomon, V., Mitchell, R. N., Van

باعث کاهش درد و مرحله درد فرمالینی درموش های سوری شده است (۳). کاهش درد مراحل اول و دوم درد فرمالینی متعاقب تزریق داخل صفاقی مرفین و افزایش درد فرمالینی متعاقب تزریق زیرجلدی نالوکسان در موش های سوری گزارش شده است (۲۴، ۲۳، ۱۳، ۳). تزریق داخل نخاعی مرفین موجب کاهش مراحل اول و دوم فرمالینی در موش های رت شده است (۲۷). تزریق داخل بطن مغزی مرفین و نالوکسان به ترتیب موجب کاهش و افزایش پاسخ درد فرمالینی در خرگوش شده است (۲۲). در مطالعه حاضر اثر کاهش دهنده درد مرفین ناشی از فعال کردن گیرنده های اپیوئیدی داخلی و اثر افزایش دهنده نالوکسان به احتمال زیاد ناشی از بسته شدن گیرنده های اپیوئیدی توسط نالوکسان و اثر نکردن اپیوئیدهای داخلی بر گیرنده های اپیوئیدی است.

نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که اثر کاهش دهنده درد انسولین توسط مرفین افزایش یافت و نالوکسان از اثر کاهش دهنده درد انسولین جلوگیری نمود. مکانیسم اثر کاهش دهنده درد توسط انسولین هنوز مشخص نشده است و با وجود این مطرح کرده اند که سیستم های نوروترنسمیتری مغز مثل اپیوئیدها، سروتونین، دوپامین در آن نقش دارند. در آزمون درد تلنگردمی (Tail flick) موش های سوری اثر کاهش دهنده درد ناشی از تزریق زیرجلدی انسولین توسط مرفین (آگونیست اپیوئیدی)، هیدروکسی تریپتوفان (پیش ساز سروتونین) تقویت و توسط نالوکسان (آنتاگونیست اپیوئیدی)، کتانسیرین (آنتاگونیست گیرنده سروتونین 5-HT_2) و کتامین (آنتاگونیست گیرنده NMDA) مخالفت شده است (۲). تزریق داخل صفاقی نالوکسان (آنتاگونیست اپیوئیدی)، سولپیدرل (آنتاگونیست گیرنده دوپامین DA_2)، پیندولول (آنتاگونیست گیرنده سروتونین 1-HT) (5)، با اثر کاهش دهنده درد ناشی از انسولین در آزمون فرمالینی موش های سوری مخالفت کرده اند (۱۵). مطرح کرده اند که کاهش قند خون (هیپوگلیسمی) ناشی از انسولین نیز در کاهش درد توسط انسولین نقش دارد. در آزمون تلنگردمی موش های سوری، اثر کاهش دهنده درد مرفین به وسیله هیپوگلیسمی ناشی از انسولین افزایش و توسط هیپرگلیسمی ناشی از تزریق گلوکز هیپرتونیک کاهش یافته است (۲۰). هیپوگلیسمی ناشی از انسولین با فعال کردن نورون های هیستامینرژیک مغز موجب شکسته شدن پرواپوپولانوکورتین هیپوفیز به هورمون های محرک ملانوسیتی آلفا، آدرنوکورتیکوتروپین و بتا-اندورفین و ورود آنها به خون موش های سوری شده است (۸). بطور کامل مشخص شده است که بتا-اندورفین یکی از پپتیدهای بسیار مهم سیستم ضد درد داخلی بدن را تشکیل می دهد (۱۱، ۱۰). هم چنین متعاقب تزریق داخل بطنی مغزی هیستامین، کاهش پاسخ های درد فرمالینی در موش های سوری گزارش شده است (۲۵). بطور کلی می توان چنین نتیجه گیری نمود که انسولین توانایی کاهش دادن درد از نوع التهابی را دارد و این عمل انسولین وابسته به سیستم اپیوئیدی است.



- De Water, L., Yarmuch, M. L., Toner, M. (2003) Influence of insulin therapy on burn wound healing in rats. *J. Surg. Res.* 109: 92-100.
13. Melin, J., Hellberg, O., Larsson, E., Zezina, I., Fellstrom, B. C. (2002) Protective effect of insulin on ischemic renal injury in diabetes mellitus. *Kidney Int.* 61: 1383-1392.
14. Nedrebo, T., Karlsen, T. V., Salvesen, G. S., Reed, R. K. (2004) A novel function of insulin in rat dermis. *J. Physiol. (London)*. 559: 583-591.
15. Nobuaki, T., Isamu, Y. (1997) Insulin attenuates formalin-induced nociceptive response in mice through a mechanism that is deranged by diabetes mellitus. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 281: 315-321.
16. Philips, D. S. (1978) Basic statistics for health science students. W. H. Freeman and Company, New York, pp. 89-87.
17. Plum, L., Schubert, M., Bruning, J. C. (2005) The role of insulin receptor signaling in the brain. *Trends Endocrinol. Metab.* 16: 59-65.
18. Porro, C., Cavazzuti, M. (1993) Spatial and temporal aspects of spinal cord and brainstem activation in the formalin pain model. *Prog. Neurobiol.* 41: 565-607.
19. Rosland, J. H., Tjolsen, A., Maehle, B., Hole, K. (1990) The formalin test in mice-effect of formalin concentration. *Pain.* 42: 235-242.
20. Singh, I. S., Chatterjee, T. K., Ghosh, J. J. (1983) Modification of morphine antinociceptive response by blood glucose status: possible involvement of cellular energetics. *Eur. J. Pharmacol.* 90: 437-439.
21. Stokhorst, U., Defries, D., Steingrueber, H. J., Scherbaum, W. A. (2004) Insulin and the CNS: effects on food intake, memory and endocrine parameters and the role of intranasal insulin administration in humans. *Physiol. Behav.* 83: 47-54.
22. Tamaddonfard, E., Azimpouran, A., Behjat, B. (2006) Central effects of histamine on formalin-induced pain in rabbits: role of opioid system. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran.* 61: 83-90
23. Tamaddonfard, E., Mojtahedin, A. (2005) Effect of chlorpheniramine on formalin-induced pain in mice: its relation with opioid system. *J. Fac. Med. Univ. Tehran.* 60: 363-358
24. Tamaddonfard, E., Mojtahedin, A. (2004) The effect of intraperitoneal injection of cimetidine on pain response induced by formalin in mice. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran.* 59: 373-378.
25. Tamaddonfard, E., Rahimi, S. (2004) Central effect of histamine and peripheral effect of histidine on the formalin-induced pain response in mice. *Clin. Exp. Pharm. Physiol.* 31: 518-522.
26. Tjolsen, A., Berge, O. G., Hunskaar, S., Rosland, J. H., Hole, K. (1992) The formalin test: an evaluation of the method. *Pain.* 51: 5-17.
27. Yamamoto, T., Yaksh, T. L. (1992) Comparison of the antinociceptive effects of pre-and post-treatment with intrathecal morphine and MK 801, and NMDA antagonist, on the formalin test in the rat. *Anesthesiol.* 77: 757-763.



INTERACTION BETWEEN INSULIN AND OPIOID SYSTEM IN THE FORMALIN TEST OF MICE

Tamaddonfard, E.^{1*}, Goli, M.², Seidnejhad, S.¹

¹Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia-Iran.

²Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia-Iran.

(Received 6 September 2006 , Accepted 21 February 2007)

Abstract:

Effects of insulin (1, 2 and 3 IU/kg, i.p.), morphine (5mg/kg, i.p.), naloxone (5mg/kg, s.c.), insulin before morphine and after naloxone were studied in the formalin test of mice. Formalin test was induced by intraplantar injection of formalin (20 μ , 5%). Morphine alone and insulin with morphine decreased the first phase (0-5 min) of pain. Naloxone increased the interphase (6-20 min) of nociception. Insulin and morphine decreased the second phase (21-40 min) of pain. Insulin enhanced the morphine - induced antinociception. Naloxone attenuated the suppressive effect of insulin. It seems that the antinociceptive effect of insulin in the formalin test may be dependent on the activation of opioid system.

Key words: insulin, morphine, naloxone, formalin pain, mice.

*Corresponding author's email: e_tamaddonfard@mail.urmia.ac.ir, Tel: 0441-2770508, Fax: 0441-2771926

