

Experimental Models of Rheumatoid Arthritis: Acute and Chronic Pain

Ali-Mohammad Khanizadeh^{1,2}, Fariba Karimzadeh^{3*}

¹Shefa Neuroscience Research Center, Khatam Alanbia Hospital, Tehran, Iran

²Department of Physiology, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Article Info:

Received: 9 Apr 2016

Accepted: 4 Dec 2016

ABSTRACT

Introduction: Rheumatoid arthritis is the most common chronic inflammatory autoimmune disease with unknown etiology and pathophysiology with various symptoms, such as pain, hyperalgesia, and edema. Changes in the level of cytokines, such as TNF- α , IL-6 and IL-1 β , are among mechanisms which have been suggested to cause chronic inflammation and have a key role in the design of experimental models of rheumatoid arthritis. The main experimental models of rheumatoid arthritis are Carageen, CFA, collagen-induced arthritis and Zymosan models. In these models, occurrence of thermal hyperalgesia, mechanical allodynia, and pain-induced motor impairment have been reported. These models assess the effectiveness of medications and the mechanisms of pain relief in rheumatoid arthritis. **Conclusion:** The use of a valid model of rheumatoid arthritis could help to investigate the pathophysiological mechanisms of pain and improve our studies on appropriate treatments for pain.

Key words:

- 1. Arthritis, Rheumatoid
- 2. Pain
- 3. Disease

*Corresponding Author: Fariba Karimzadeh

E-mail: Fariba_karimzade@yahoo.com

doi: 10.18869/acadpub.shefa.5.1.98

مدل‌های آزمایشگاهی آرتربیت روماتوئید: درد حاد و مزمن

علی محمد خانی زاده^{۱،۲*}، فریبا کریم زاده^{۳*}

^۱ مرکز تحقیقات علوم اعصاب، بیمارستان خاتم الانبیاء، تهران، ایران

^۲ گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

^۳ مرکز تحقیقات سلوی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله:

تاریخ پذیرش: ۱۴ آذر ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: ۲۱ فروردین ۱۳۹۵

چکیده

مقدمه: آرتربیت روماتوئید شایع ترین بیماری خود اینمن التهابی مزمن با علت و پاتوفیزیولوژی ناشناخته با عالیم مختلف از قبیل درد، هایپرآلرژی و ادم است. تغییرات در سطح سایتوکین‌هایی از قبیل فاکتور نکروز تومور آلفا، اینترلوکین ۶ و اینترلوکین ۱ بنا در میان مکانیسم‌هایی که پیشنهاد شده‌اند برای علت التهاب مزمن هستند و یک نقش کلیدی در طراحی مدل‌های آزمایشگاهی آرتربیت روماتوئید دارند. مدل‌های اصلی آزمایشگاهی آرتربیت روماتوئید مدل‌های Zymosan و Collagen-induced artherit، CFA، Carageen هستند. در این مدل‌ها هایپرآلرژی حرارتی، آلدینیای مکانیکی و اختلال حرکتی ناشی از درد گزارش شده است. این مدل‌ها اثر بخشی داروها و مکانیسم‌های تسکین درد در آرتربیت روماتوئید را ارزیابی می‌کنند.

نتیجه‌گیری: استفاده از یک مدل معتبر آرتربیت روماتوئید می‌تواند به بررسی مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژی درد و بهبود مطالعات ما در درمان‌های مناسب برای درد کمک کند.

کلید واژه‌ها:

۱. آرتربیت روماتوئید
۲. درد
۳. بیماری

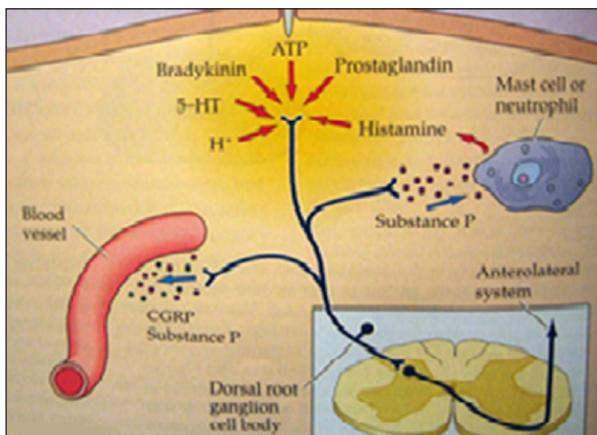
* نویسنده مسئول: فریبا کریم زاده

آدرس الکترونیکی: Fariba_karimzade@yahoo.com

شکر ختم

مقدمه

التهاب پاسخ فیزیولوژی بدن به آسیب‌های بافتی ناشی از مواد شیمیایی، میکروارگانیسم‌ها، ترومما، اجسام عالیمی مثل درد، قرمزی، گرما و ادم در ناحیه آسیب دیده می‌گردد. درد ناشی از التهاب می‌تواند با فشار ناشی از ادم و ترشح عوامل مختلف روی پایانه‌های عصبی و تحریک شیمیایی توسط مواد آزاد شده از سلول‌های آسیب دیده القاء شود. از فاکتورهای مختلفی که در این فرایند دخالت دارند سایتوبکین‌های^۱ التهابی جایگاه ویژه چه از نظر مطالعات روند التهاب و چه از نظر بررسی زمان و روند درمان برخوردار هستند (۱-۲).



تصویر ۱- ایجاد حساسیت محیطی به درد.

در حساس شدن پایانه‌های عصبی نسبت به حرکت‌های حسی (محرك‌های دردناک یا غیر دردناک) در ناحیه ضایعه بافتی حس درد را انتقال می‌دهند. برخی از عوامل با مواد شیمیایی که باعث حساس شدن محیطی می‌گردند عبارتند از: برادیکینین، پروستاگلاندین، گرما و سرما، عامل مکانیکی، فاکتورهای رشد عصبی، ماده C، پپتید وابسته به نیز کلسینی‌تونین، هیستامین، سروتونین، کاتیون‌ها، استیل کولین، لوکوتربین‌ها و ATP که با افزایش میزان این مذکورهای انتقال درد حتی سایر محرك‌های غیر درد نیز انجام می‌گردد. سایتوبکین‌های التهابی (TNF-α و IL-6) در سیستم عصبی محیطی از طریق گیرنده‌های کاپسایسین، کانال ولتاژی سدیم، کلسیم و پتانسیم باعث افزایش حساس سازی گیرنده درد می‌شوند (۲۰، ۲۸، ۱۵).

آرتربیت روماتوئید شایع‌ترین بیماری اتو ایمیون و التهابی مزمن با سبب‌شناسی^۲ نامشخص می‌باشد و باعث بروز علایم التهابی مانند هایپرآلژی، ادم و خوردگی مفاصل در گیر می‌شود (۲۳). نقش این سایتوبکین‌ها در بروز علایم آرتربیت روماتوئید آن چنان زیاد است که استفاده از مهار کننده‌های برخی از این سایتوبکین‌های پیش از التهابی مانند TNF-α و IL-6 برای کاهش شدت این بیماری مورد توجه محققین می‌باشد (۳، ۲۴، ۲۵). ترشح سایتوبکین‌های التهابی مانند TNF-α و IL-6 در TNF-α و IL-6 در سیستم عصبی محیطی کاپسایسین چندین کانال یونی از جمله گیرنده‌های TRPV1^۳، کانال ولتاژی سدیم، کلسیم و پتانسیم باعث افزایش حساس سازی گیرنده درد می‌شوند (۷). در سیستم عصبی مرکزی می‌شوند. در دو دهه اخیر توجه بسیار زیادی به نقش سلول‌های گلیال از جمله میکروگلیاهای و آستروسیت‌ها در فرایند درد شده است (۲۶، ۲۷).

در سال ۱۹۹۱ Garrison^۴ و همکارانش متوجه شدند که پس از ایجاد درد نوروپاتیک تعداد آستروسیت‌های فعال در نخاع افزایش می‌یابد و بعد از این مطالعه، گزارش‌های بسیار زیادی مبنی بر فعل شدن حساسیت‌ها منتشر شد (۲۸). به طوری که مشاهدات زیادی نشان داد که بیان پروتئین GFAP^۵ پس از ایجاد درد نوروپاتیک ناشی از آسیب‌های اعصاب محیطی، نخاع و عصب تری زمینال افزایش می‌یابد (۲۹، ۳۰). آستروسیت‌های فعل شده نیز موجب تحریک و فعل شدن میکروگلیاهای می‌شوند (۳۱). ایمپالس‌های ناشی از فیبرهای قطور مانند A-α و A-β جهت فعل شدن میکروگلیاهای مورد نیاز می‌باشند اما تحریک فیبرهایی مانند C موجب تحریک و فعل

سایتوبکین‌های التهابی شامل خانواده اینترلوکین‌ها^۶، فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF-α)، اینترفرون و فاکتور محرک کلی^۷ گرانولوسیت‌ها و فاکتور محرک کلی^۸ گرانولوسیت-مونوکیت می‌باشند (۳-۴).

فاکتور نکروز تومور آلفا و اینترلوکین-6 (IL-6) در بسیاری از فرایندهای پاتولوژی دخیل در ایجاد درد و التهاب نقش اساسی بازی می‌کنند. اثر بیولوژی آن از طریق تحریک و فراخوانی نوتروفیل‌ها و مونوکیت‌ها به محل عفونت و فعال کردن آن‌ها برای ریشه کنی میکروب‌هاست. این سایتوبکین‌ها در ایجاد واکنش‌های التهاب موضعی که باعث آسیب‌های بافتی می‌شود نیز هایپرآلژی^۹ دارند (۷). نقش مهمی در پیشرفت هایپرآلژی در TNF-α و IL-6 در سیستم عصبی محیطی کاپسایسین مانند TRPV1^{۱۰}، کانال ولتاژی سدیم، کلسیم و پتانسیم باعث افزایش حساس سازی گیرنده درد می‌شوند (۸). همچنین باعث افزایش حسی حریان کلسیمی انتهای نورون‌ها شده و حساسیت به نوروتوکسین‌هایی مانند کاپسایسین را افزایش می‌دهند (۹، ۱۰). همچنین این سایتوبکین‌ها نقش مهمی در افزایش حساسیت در مسیرهای مرکزی انتقال درد دارند (۱۱) به ویژه در لامینای ۲ شاخ خلفی نخاع از طریق بهبود انتقالات وابسته به NMDA این عمل را انجام می‌دهند (۱۲-۱۴).

TNF-α و IL-6 سایتوبکین‌هایی هستند که در ایجاد ادم نیز نقش دارند، در این خصوص TNF-α^{۱۱} بر CD18^{۱۲} روی نوتروفیل‌ها و ICAM-1^{۱۳} در اندوتیال عروق را افزایش می‌دهد (۱۶-۱۸).

TNF-α باعث افزایش بیان گیرنده برادیکینین شده و با از بین بردن یکپارچگی اسکلت سلولی عروق، سبب ایجاد منافذی در آن‌ها می‌شود که ایجاد این شرایط باعث آسیب اندوتیال، افزایش نفوذپذیری عروقی و ادم می‌گردد (۱۹-۲۲).

¹ Cluster of differentiation

² Interleukins

³ Tumor necrosis factor

⁴ Hyperalgesia

⁵ Transient receptor potential cation channel subfamily V member

مدل‌های تجربی مختلفی برای ایجاد آرتریت روماتوئید استفاده می‌شود که عبارتند از:

Zymosan-۴^{۱۰} CIA-۳^{۱۱} Carrageenan-۲^{۱۲} CFA-۱^{۱۳}

در تمام این مدل‌ها پیدایش هایپرآلرژی حرارتی، آلودنیایی مکانیکی^{۱۴} و اختلال حرکتی ناشی از درد گزارش شده است (۵۵).

CFA مدل

CFA که حاوی باکتری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کشته شده است، در روغن معدنی استریل معلق می‌باشد و به طور گستردۀ به عنوان مدل تجربی آرتریت روماتوئید استفاده می‌شود. از آن جا که این مدل قادر است این بیماری را به خوبی تقلید کند به یکی از مدل‌های حیوانی آرتریت روماتوئید تبدیل گشته است. این مدل جهت شناخت عملکرد داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی (NSAID)^{۱۵} مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین جهت ارزیابی درد نیز کاربرد دارد (۵۶، ۵۷).

مونوآرتریت ایجاد شده با CFA دارای دو فاز است، فاز اول (التهابی) که افزایش آزادسازی سایتوکین‌های پیش التهابی مانند TNF-α و IL-6 و IL-1β باعث ایجاد درد، هایپرآلرژی و آلودنیایی مکانیکی می‌گردد (۵۸، ۵۹). فاز دوم (آرتریتی) که ناشی از بالا ماندن سطح سرمی سایتوکین‌های مذکور و آزاد شدن رادیکال‌های آزاد می‌باشد (۵۸، ۶۰).

بنابراین التهاب ایجاد شده توسط CFA با افزایش فعالیت سایتوکین‌ها و ایجاد رادیکال‌های آزاد همراه است که نقش مهمی در ایجاد علایم پاتولوژی مانند التهاب ایفاء می‌کند. آنتی اکسیدان‌ها دارای اثرات حفاظتی علیه آسیب‌های ایجاد شده به وسیله رادیکال‌های آزاد اکسیژنی هستند بنابراین دارای اثرات درمانی بر روی علایم التهابی می‌باشند (۶۱).

ترزیق CFA موجب افزایش تولید نیتریک اکساید سنتاز عصبی (nNOS)^{۱۶} می‌گردد به طوری که مهار تولید این عامل باعث کاهش معنی دار هایپرآلرژی و ادم می‌گردد (۶۲).

از دیگر عوامل اصلی ایجاد حساسیت مرکزی در نخاع می‌توان به nNOS اشاره نمود که موجب افزایش بیان CGRP در نورون‌ها در سیستم عصبی می‌گردد (۶۲). التهاب محیطی ناشی از تجویز CFA منجر به تغییراتی در سیستم عصبی مرکزی می‌شود که به دنبال آن رفتارهایی مانند آلودنیایی مکانیکی و هایپرآلرژی حرارتی بروز می‌کند. مطالعات نشان داده است که به دنبال التهاب محیطی ناشی از القاء CFA، میکروگلیاهای توسط

شدن این میکروگلیاهای نمی‌گردند (۳۲). میکروگلیاهای آستروسویت‌ها دارای مجموعه گیرندهایی برای ناقلین ATP و نوروپتیدهایی مانند ماده P (SubP)^{۱۱} در تغییر شکل و عملکرد میکروگلیاهای نخاع دخیل می‌باشند و باعث افزایش انتقال پیام درد می‌شوند (۳۳-۳۵). مطالعات زیادی نشان داد که مدل‌های التهابی مانند فرمالین، کارگینان، Zymosan^{۱۲} و CFA^{۱۳} موجب افزایش فعالیت آستروسویت‌ها و میکروگلیاهای می‌گردند (۳۶-۳۹).

میکروگلیا و آستروسویت‌ها پس از دریافت حس درد از گیرندهای دچار تغییراتی در ساختار و عملکرد خود مانند از دست دادن توانایی بافر کردن ناقلین عصبی تحریکی و مهاری مانند گلوتامات و گابا، از بین رفتن ظرفیت بافری جهت یون‌ها و افزایش ترشح مدياتورهای درد زا، پروستاگلاندین‌ها، نیتریت اکساید و سایتوکین‌های پیش التهابی می‌شوند (۳۶، ۳۹-۴۲).

مطالعات اخیر نشان داده است که پس از ایجاد التهاب محیطی، فعال شدن میکروگلیاهای آستروسویت‌ها در نخاع موجب شروع تسهیل حس درد و ایجاد درد مزمن می‌شوند. سایتوکین‌های ترشح شده از میکروگلیا موجب افزایش فعالیت سیناپس‌های تحریکی شده و درد مرکزی را شدت می‌بخشند (۴۳-۴۶). این سایتوکین‌های مترشحه از سلول‌های گلیا و آستروسویت‌ها علاوه بر موارد ذکر شده موجب افزایش نوروتروفین‌ها مانند BDNF و پروستاگلاندین‌ها شده و از این مسیرها موجب ایجاد افزایش شدت آلودنیایی مکانیکی و هایپرآلرژی حرارتی می‌گردد (۴۷-۴۹). همچنین CCL2/MCP-1 مشتق شده از آستروسویت‌ها جریان مهاری گابا را تضعیف و جریان تحریکی ناشی از گلوتامات را تحریک می‌کند و درد را تشدید می‌نماید (۵۰). فعال شدن میکروگلیاهای آستروسویت‌ها پس از ایجاد درد فقط محدود به نخاع نیست و مطالعاتی فعال شدن میکروگلیا در تالاموس را به دنبال آسیب نخاعی و آستروسویت‌ها در قشر سیننگولیت پس از بسته شدن عصب سیناتیک و ایجاد درد نوروپاتیک نشان داده‌اند (۵۰، ۵۱). بر اساس این شواهد امروزه استفاده از داروهایی که موجب جلوگیری از فعال شدن میکروگلیاهای می‌شود یک رویکرد برای جلوگیری از بروز و تسکین درد می‌باشد (۵۲، ۵۳). در این راستا باید اشاره نمود که IL-6 و TNF-α سایتوکین‌هایی هستند که با حمله به غشای سینوویال و ایجاد التهاب مزمن نقش کلیدی در ایجاد درد التهابی مزمن و آرتریت روماتوئید بازی می‌کنند (۵۴). لذا مدل‌های تجربی رایج در آزمایشگاه‌ها ابزار مناسبی برای مطالعه بر روی دردهای مزمن و التهابی می‌باشند.

¹⁴ Allodynia

¹⁵ Nonsteroidal anti-inflammatory drugs

¹⁶ Neuronal nitric oxide synthases

¹⁰ Neurotransmitters

¹¹ Substance P

¹² Complete Freund's adjuvant

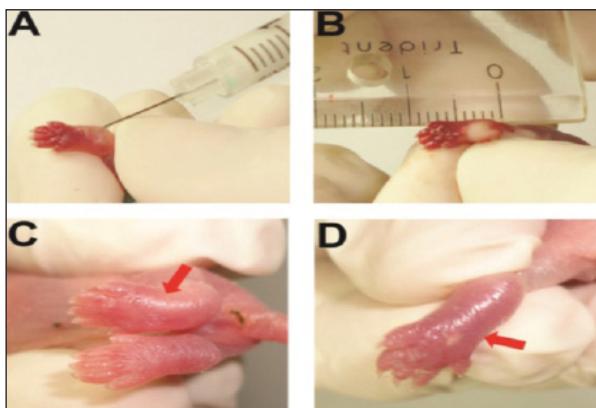
¹³ Collagen-induced arthritis

شناخت

تزریق شده است (۶۹). تزریق CFA باید در گونه‌های مختلف حیوانی بر اساس مکان تزریق با مقادیر داده شده صورت گیرد. افزایش میزان تزریق باعث بروز آسیب‌های بافتی در محل مورد تزریق می‌گردد. یکی از جنبه‌های مفید این روش این است که با تزریق تک دوز کف پایی مدل القاء می‌گردد. جزئیات نحوه و میزان تزریق در جدول ۱ نوشته شده است.

در ادامه باید اشاره نمود که تغییر سایتوکین‌های التهابی و همچنین تغییر در رفتار سلول‌های خونی در گیر در اینمی در طول دردهای التهابی و پاسخگویی به درمان‌های رایج درد التهابی مانند کورتیکو آستروئیدها و داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۷۰، ۷۱). علاوه بر ثابت شدن نقش سایتوکین IL-6 در روند درد و التهاب ناشی از تزریق CFA، مطالعاتی اثرات ضد درد مهارکننده این سایتوکین را نشان می‌دهد (۷۲).

تزریق کف‌پایی CFA باعث افزایش سایتوکین‌های پیش التهابی مثل TNF- α و IL-6 و IL-1 β شده که موجب القای هایپرآلرژی و آلودینیای مکانیکی در پای محل تزریق می‌گردد. این سایتوکین‌ها با افزایش بیان گیرنده برادیکنین باعث از بین رفتن سایتو اسکلت عروق و ایجاد منافذی در آن‌ها می‌شود که ایجاد این



تصویر ۲- التهاب ایجاد شده ناشی از تزریق کف‌پایی CFA (۷۳). تصویر A: در لحظه تزریق CFA. تصویر B: همان روز پس از تزریق CFA. تصویر C: سه روز پس از تزریق CFA. تصویر D: شش روز پس از تزریق CFA.

سایتوکین‌های پیش التهابی فعال می‌شوند که فعالیت این سلول‌ها همراه با آستروگلیاهای موجب بروز آلودینیای مکانیکی و هایپرآلرژی حرارتی می‌شوند (۶۴، ۶۳)، به طوری که امروزه استفاده از مهارکننده میکروگلیاهای مانند ماینوسایکلین^{۱۷}، فلوئوروسیترات^{۱۸}، پروپنتیفیلین^{۱۹} و آلفا-امینو آدیپات^{۲۰} برای کاهش شدت درد و جلوگیری از ایجاد درد مزمن مورد توجه محققین قرار گرفته است (۳۹).

تجویز داروی ماینوسایکلین به عنوان مهارکننده میکروگلیاهای در مدل التهابی ناشی از تزریق CFA موجب کاهش شدت درد حاد و مزمن و علایم التهاب در هر دو فاز حاد و مزمن می‌گردد (۶۵).

القاء التهاب با استفاده از CFA باعث بروز هایپرآلرژی از روز اول تزریق می‌گردد که آن را به سایتوکین‌های مانند فاکتور نکروز تومور آلفا و اینترلوکین ۱ بتا و اینترلوکین ۶ نسبت داده‌اند. به طوری که سایتوکین‌های مذکور علاوه بر کاهش آستانه تحريك گیرنده‌های درد از طریق سیستم عصبی مرکزی، با تحريك ترشح ناقللین عصبی مانند ماده P و پپتید وابسته به ژن کلسیتونین (CGRP)^{۲۱} موجب تسهیل درد می‌گردند (۶۶).

تغییرات هایپرآلرژی ناشی از القاء التهاب در پای تزریق شده از حیوان آزمایشگاهی مشاهده شده است و این در حالی است که Taniguchi و همکارانش نشان دادند تداوم التهاب ناشی از تزریق CFA باعث ایجاد هایپرآلرژی در هر دو پای موش می‌شود و اندام‌های دیگر را نیز درگیر می‌کند (۶۷).

مطالعات دکتر زرین قلم و همکارانش نشان داده است که تزریق کف‌پایی CFA منجر به هایپرآلرژی حرارتی در پای تزریق شده می‌شود (۶۸).

مطالعات دیگر بیانگر این مطلب هستند که حیوان پای آرتربیتی خود را جهت حرکت کردن استفاده می‌کند و غیر از تفاوت ظاهری، تفاوت دیگری از نظر فعالیتی معمولاً دیده نمی‌شود. مهم‌ترین مشخصه مقایسه‌های این نوع درد التهابی القاء هایپرآلرژی و آلودینیا در پای

جدول ۱- نحوه و میزان تزریق در مدل CFA.

گونه	زیر جلدی (ml)	درون جلدی (ml)	درون صفاقی (ml)	کف‌پایی (ml)
موش سوری	<۰/۱	-	<۰/۰۵	<۰/۰۵
موش صحراوی	<۰/۱	<۰/۰۵	<۰/۱	<۰/۱
خرگوش	<۰/۲۵	<۰/۰۵	-	<۰/۲۵

^{۱۷} Minocycline

^{۱۸} Fluorocitrate

^{۱۹} Propentophylline

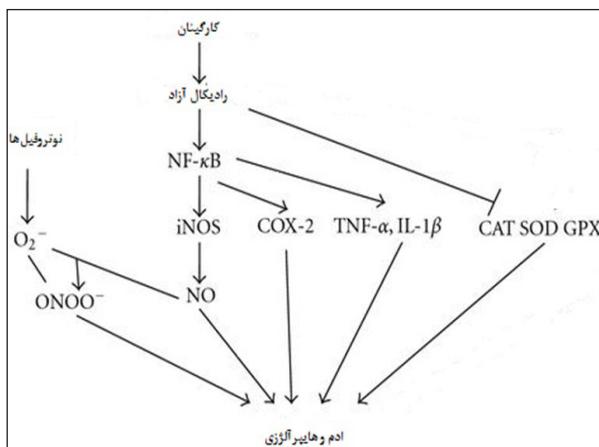
^{۲۰} Alpha-amino adipate

^{۲۱} Calcitonin gene related peptide

البته مطالعات اخیر نشان داده است که میزان سیکلو اکسیژنаз (COX)^{۲۲} نیز در محل آسیب افزایش چشمگیری پیدا می‌کند که این علایم می‌تواند با استفاده از داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی بهبود یابد (۸۷).

فاکتور مهم دیگر در التهاب حاد، وجود نیتریک اکساید می‌باشد که در شرایط پاتولوژی و در سه ایزوفرم نیتریک اکساید سنتاز عصبی، نیتریک اکساید سنتاز القایی (iNOS)^{۲۴} و نیتریک اکساید سنتاز اندوتیالی (eNOS)^{۲۵} وجود دارد (۸۸). کارژینان موجب افزایش تولید و آزاد شدن نیتریک اکساید در محل آسیب می‌گردد (۸۸).

تزریق مهارکننده غیر اختصاصی نیتریک اکساید سنتاز (NOS)^{۲۶} مانند ان جی -مونو متیل ال - آرژنین (L-NMMA)^{۲۷} موجب مهار نیتریک اکساید سنتاز ایجاد شده به دنبال تزریق کارژینان می‌گردد (۸۸). مطالعات نشان داده‌اند که التهاب ناشی از کارژینان مرتبط با آزاد شدن رادیکال‌های آزاد می‌باشد که باعث افزایش مسیر NF-κB^{۲۸} می‌گردد (۸۹-۹۱). NF-κB خود از عوامل تحریک تولید iNOS می‌باشد که موجب افزایش تولید NO و ایجاد ادم و هایپرآلرژی می‌گردد (۹۲-۹۶).



تصویر ۳- روند ایجاد التهاب در مدل کارژینان (۹۷).

تزریق کارژینان با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد موجب افزایش بیان NF-κB شده و به واسطه آن رونویسی و بیان سایتوکین‌های التهابی مانند TNF-α و IL-1β را افزایش داده و این سایتوکین‌ها موجب ایجاد علایم التهاب مانند ادم و هایپرآلرژی می‌گردد. NF-κB از عوامل تحریک کننده تولید NO و COX^{۲۹} بوده و از این مسیر نیز به افزایش علایم التهاب کمک می‌کند. از سوی دیگر افزایش رادیکال‌های آزاد باعث کاهش سطح آنزیم آنتی اکسیدانتی مانند CAT^{۳۰}، SOD^{۳۱} و GPX^{۳۰} شده و از این

شرایط باعث آسیب اندوتیال، افزایش نفوذپذیری عروقی و ادم می‌گردد. از سوی دیگر تزریق CFA موجب افزایش تولید نیتریک اکساید (NO)^{۳۲} شده که از عوامل بسیار مهم در افزایش جریان بافت‌ها و نفوذپذیری عروق و ایجاد ادم می‌باشد.

مدل Carrageenan

کارژینان اسم تجاری است که برای پلی ساکارید سولفاته استخراج شده از نوعی جلبک دریایی به کار می‌رود. این نوع جلبک بر حسب حل شدن در پتانسیم کلر به انواع: ۱، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ تقسیم می‌گردد (۷۴).

این ماده باعث ایجاد ادم در پای حیوانات مانند موش شده و یک روش معمول و ساده برای ایجاد التهاب در محل مورد نظر بدون ایجاد آسیب و جراحت می‌باشد. از این مدل می‌توان جهت بررسی درد ناحیه پا استفاده نمود (۷۵، ۷۶).

برای ایجاد التهاب از کارژینان یک تا سه درصد محلول در نرمال سالین با دوز ۵۰ تا ۱۵۰ میکرولیتر به صورت کف‌پایی استفاده می‌شود (۷۷).

معمولًا از دوزهای بالاتر به منظور ایجاد مدل‌های آزمایشگاهی و پاتوفیزیولوژی آرتربیت روماتوئید استفاده می‌گردد (۷۸، ۷۹).

ادم ایجاد شده ناشی از تزریق کارژینان وابسته به سن و دو فازی می‌باشد. در این التهاب میانجی‌های متفاوتی مانند هیستامین، سرتونین، برادی‌کنین و پروستاگلاندین دخیل هستند که باعث افزایش نفوذپذیری عروق شده و التهاب را شدت می‌بخشد (۸۰-۸۲). التهاب ناشی از تزریق کارژینان باعث افزایش حضور نوتروفیل‌ها در محل آسیب می‌گردد (۸۳).

در تزریق سیستمیک و یا موضعی کارژینان، میانجی‌های مانند فاكتور نکروز تومور آلفا و اینترولوکین ۱ تا و اینترولوکین ۶ افزایش می‌یابد.

التهاب محیطی ناشی از تجویز کارژینان منجر به شرایطی می‌شود که با آزاد شدن سایتوکین‌های التهابی و فعل شدن میکروگلیاهای در سیستم عصبی مرکزی رفتارهایی مانند آلودنیای مکانیکی و هایپرآلرژی حرارتی ایجاد می‌گردد (۸۰، ۸۴، ۸۵). التهاب محیطی ناشی از این مدل باعث فعل شدن میکروگلیاهای در نخاع گردیده و به شروع و مزمن شدن درد کمک می‌کند. گزارشات حاکی از آن است که پس از تزریق مایوسایکلین میزان درد و آلودنیای مکانیکی کاهش می‌یابد (۸۶).

²² Nitric oxide

²³ Cyclooxygenase

²⁴ Inducible nitric oxide synthases

²⁵ Endothelial nitric oxide synthases

²⁶ Nitric oxide synthases

²⁷ NG-monomethyl L-arginine

²⁸ Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

²⁹ Superoxide dismutase

³⁰ Catalase

³¹ Glutathione peroxidase

شناخت

و T) در برابر کلازن نوع دو است (۱۰۰، ۱۰۲).

این مدل با تزریق کلازن نوع دو همراه با محلول در دم موش انجام می‌شود. در موش سوری این محلول CFA و در موش صحرایی محلول IFA^{۳۲} می‌باشد.

تزریق باید با دقیق و به مقدار ۵۰ میکرولیتر انجام شود در غیر این صورت موجب آسیب بافتی و التهاب شدید در ناحیه تزریق می‌گردد (۱۰۳).

مدل زایموزان

زایموزان یک ترکیب شیمیایی است که از پلی ساکاریدهای دیواره سلولی *Saccharomyces cerevisiae* است که دارای واحدهای تکرار شونده از گلوگز است، تشکیل شده است (۱۰۴). تزریق آن به پای موش موجب واکنش‌های التهابی می‌گردد (۱۰۵، ۱۰۶).

این مدل با تزریق این ماده با غلظت ۰/۳۱۳ میلی‌گرم تا حداً کش ۶/۲۵ میلی‌گرم در کف پای موش ایجاد شده و باعث ایجاد هایپرآلرژی حرارتی و مکانیکی و ادم می‌گردد. میزان و شدت این علایم وابسته به مدت زمان پس از تزریق و دوز ماده تزریق شده می‌باشد. به طوری که هایپرآلرژی حرارتی در دوزهای بالاتر از ۲/۵ میلی‌گرم ایجاد می‌گردد (۱۰۶).

همچنین بیشترین هایپرآلرژی را در ساعت چهار بعد از تزریق دیده می‌شود. در مقابل در هایپرآلرژی حرارتی در دو نوبت به بیشینه خود می‌رسد. به صورتی که با دوز ۲/۵ میلی‌گرم بیشینه هایپرآلرژی در دقیقه ۳۰ اتفاق می‌افتد اما با دوز ۶/۲۵ میلی‌گرم بیشینه در چهارمین ساعت پس از تزریق خواهد بود.

از نقاط قوت این مدل می‌توان به درگیر بودن سیستم ایمنی و سایتوکین‌ها اشاره نمود (۱۰۷).

در مدل التهاب ناشی از تزریق زایموزان نیز فعال شدن میکروگلیاهای هم در سیستم عصبی مرکزی در مدل حیوانی و هم در مدل کشت سلولی مشاهده شده است. این سلول‌ها با ترشح ناقل عصبی گلوتامات اثرات تحیریکی خود را اعمال می‌کنند. مطالعات نشان داده که تزریق این ماده باعث فعال شدن میکروگلیاهای و ایجاد التهاب در سیستم عصبی مرکزی می‌شود و استفاده از داروی ماینوسایکلین باعث جلوگیری از فعال شدن این سلول‌ها و به دنبال آن کاهش التهاب در این قسمت می‌گردد (۱۰۸، ۱۰۹).

نتیجه‌گیری

با استفاده از مدل‌های التهابی علاوه بر بررسی تغییرات رفتار و مکانیسم‌های سلولی مولکولی دخیل در ایجاد درد حاد و مزمن ناشی از آرتربیت روماتوئید می‌توان

طريق موجب افزایش شدت التهاب می‌گردد.

از نقاط قوت این مدل می‌توان به قدرت و سرعت ایجاد التهاب و ایجاد علایمی نظیر ادم و هایپرآلرژی و درگیر کردن سلول‌های T و افزایش سایتوکین‌های التهابی و همچنین پاسخ دهی به داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی اشاره کرد. این در حالی است که آسیب رساندن به سیستم ایمنی و به خصوص ماکروفازها در دوزهای بالا از نقاط ضعف این روش محسوب می‌گردد. همچنین به سبب تضعیف شدید سیستم ایمنی انواع سرطان ایجاد می‌گردد و این دارو دارای اثرات سمتی روی کبد و کلیه می‌باشد (۹۸، ۸۸).

Collagen-Induced Arthritis

این مدل که به طور معمول برای ایجاد آرتربیت روماتوئید القاء می‌گردد، دارای علایم بسیار زیادی شبیه آرتربیت می‌باشد (۹۹). CIA بر روی فراوان ترین پروتئین غضروف که محل اثر بیماری آرتربیت روماتوئید می‌باشد اثر گذاشته و باعث افزایش بیان سایتوکین‌های التهابی مثل فاکتور نکروز تومور آلفا و اینترلوکین ۱ بتا می‌گردد.

این مدل برای شناخت مکانیسم احتمالی بیماری‌های خود ایمنی و نقش سلول‌های خودی در شروع و پیشرفت بیماری و طراحی روش‌های درمانی جدید کاربرد دارد (۱۰۰).

امروره این روش برای ارزیابی عملکرد بیولوژی دارو و درمان‌های جدید که هدف اثر آن‌ها بر عوامل سایتوکینی مثل فاکتور نکروز تومور آلفا و اینترلوکین ۱ بتا می‌باشد، تجاری سازی شده است (۱۰۰).

اگر چه تعداد مطالعات انجام شده برای بررسی میکروگلیاهای محدود می‌باشد اما در این مدل نیز مانند نمونه‌هایی که ذکر شد فعال شدن میکروگلیاهای را پس از ایجاد التهاب محیطی مشاهده می‌کنیم که درمان جهت جلوگیری از فعال شدن این گلیاهای باعث کاهش حس درد می‌شود (۱۰۱).

مدل CIA دارای شباهت‌های بسیار زیادی با آرتربیت روماتوئید است که شامل هایپرآلرژی در سینه‌ویال، افزایش ترشحات سلول‌های تک هسته‌ای، از بین رفتن غضروف مفاصل و بیان ژن‌های کلاس دو مجموعه سازگاری بافتی (MHC)^{۳۳} اصلی می‌باشد. عدم بیان تفاوت این مدل با آرتربیت روماتوئید، عدم بیان روماتوئید فاکتور (RF)^{۳۴} در این مدل برخلاف آرتربیت روماتوئید می‌باشد. اگر چه سلول‌های ایمنی B و T مانند آرتربیت روماتوئید بیان می‌شوند که ایمونو پاتولوژی این مدل ناشی از فعالیت همین سلول‌ها (B)

^{۳۲} Major histocompatibility complex

^{۳۳} Rheumatoid factor

^{۳۴} Incomplete Freund's adjuvant

جمع آوری انواع مدل‌های تجربی رایج در این زمینه سعی به معرفی رایج‌ترین مدل‌های تجربی داشته است. مکانیسم‌های ایجاد آرتریت روماتوئید و همچنین درد حاد و مزمن در هر یک از مدل‌های ارائه شده متفاوت است لذا انتخاب یک مدل مناسب، وابستگی غیر قابل اغماض به نوع مطالعه و طراحی آن دارد.

1. Majithia V, Geraci SA. Rheumatoid arthritis: diagnosis and management. *Am J Med.* 2007; 120(11): 936-9.

2. Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31(5): 986-1000.

3. Hirano T, Matsuda T, Turner M, Miyasaka N, Buchan G, Tang B, et al. Excessive production of interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol.* 1988; 18(11): 1797-802.

4. Zhang J-M, An J. Cytokines, inflammation and pain. *Int Anesthesiol Clin.* 2007; 45(2): 27.

5. Portenoy RK, Hagen NA. Breakthrough pain: definition, prevalence and characteristics. *Pain.* 1990; 41(3): 273-81.

6. Kutukculer N, Caglayan S, Aydogdu F. Study of pro-inflammatory (TNF- α , IL-1 α , IL-6) and T-cell-derived (IL-2, IL-4) cytokines in plasma and synovial fluid of patients with juvenile chronic arthritis: correlations with clinical and laboratory parameters. *J Clin Rheumatol.* 1998; 17(4): 288-92.

7. Ahmad SF, Ansari MA, Zoheir KM, Bakheet SA, Korashy HM, Nadeem A, et al. Regulation of TNF- α and NF- κ B activation through the JAK/STAT signaling pathway downstream of histamine 4 receptor in a rat model of LPS-induced joint inflammation. *J Immunol.* 2015; 220(7): 889-98.

8. Park C-K, Lü N, Xu Z-Z, Liu T, Serhan CN, Ji R-R. Resolving TRPV1-and TNF- α -mediated spinal cord synaptic plasticity and inflammatory pain with neuroprotectin D1. *J Neurosci.* 2011; 31(42): 15072-85.

9. Khan A, Diogenes A, Jeske N, Henry M, Akopian A, Hargreaves K. Tumor necrosis factor α enhances the sensitivity of rat trigeminal neurons to capsaicin. *Neuroscience.* 2008; 155(2): 503-9.

10. Sappington RM, Calkins DJ. Contribution of TRPV1 to microglia-derived IL-6 and NF κ B translocation with elevated hydrostatic pressure. *Invest Ophthalmol Vis.* 2008; 49(7): 3004-17.

11. Kawasaki Y, Zhang L, Cheng J-K, Ji R-R. Cytokine

تأثیر درمان‌های مختلف را در حیوانات مبتلا مطالعه نمود. هرچه مدل انتخاب شده به شرایط انسانی نزدیک‌تر باشد از ارزش بیشتری برخوردار خواهد بود. در بین مدل‌های ارائه شده CIA پر کاربردترین مدل می‌باشد ولی مسلماً انتخاب مناسب‌ترین مدل به نوع مطالعه و موضوع مورد پژوهش بستگی دارد. این مقاله با

منابع

mechanisms of central sensitization: distinct and overlapping role of interleukin-1 β , interleukin-6, and tumor necrosis factor- α in regulating synaptic and neuronal activity in the superficial spinal cord. *J Neurosci.* 2008; 28(20): 5189-94.

12. 菊池宏信. Thermo-sensitive transient receptor potential vanilloid (trpv) channels in mouse adipocytes. University of Tokyo. 2014. <http://hdl.handle.net/2261/58150>.

13. Kikuchi H, Oguri G, Yamamoto Y, Takano N, Tanaka T, Takahashi M, et al. Thermo-Sensitive transient receptor potential vanilloid (trpv) channels regulate il-6 expression in mouse adipocytes. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2015; 4(4).

14. Erta M, Quintana A, Hidalgo J. Interleukin-6, a major cytokine in the central nervous system. *Int J Biol Sci.* 2012; 8(9): 1254-66.

15. Proprioceptor, cutaneous receptor and pain receptor. <http://katiehumanbio.blogspot.com/2008/04/proprioceptors-cutaneous-receptors-pain.html>.

16. Lo SK, Everitt J, Gu J, Malik AB. Tumor necrosis factor mediates experimental pulmonary edema by ICAM-1 and CD18-dependent mechanisms. *J Clin Invest.* 1992; 89(3): 981.

17. Chandrasekharan UM, Siemionow M, Unsal M, Yang L, Poptic E, Bohn J, et al. Tumor necrosis factor α (TNF- α) receptor-II is required for TNF- α -induced leukocyte-endothelial interaction in vivo. *Blood.* 2007; 109(5): 1938-44.

18. Maruo N, Morita I, Shirao M, Murota S. IL-6 increases endothelial permeability in vitro. *J Endocrinol.* 1992; 131(2): 710-4.

19. Campos MM, Souza GE, Calixto JB. Modulation of kinin B 1 but not B 2 receptors-mediated rat paw edema by IL-1 β and TNF α . *Peptides.* 1998; 19(7): 1269-76.

20. Chappell D, Hofmann-Kiefer K, Jacob M, Rehm M, Briegel J, Welsch U, et al. TNF- α induced shedding of the endothelial glycocalyx is prevented by hydrocortisone and antithrombin. *Basic Res Cardiol.* 2009; 104(1): 78-89.

21. Goldblum SE, Sun WL. Tumor necrosis factor-alpha augments pulmonary arterial transendothelial albumin flux in vitro. *Am J Physiol.* 1990; 258(2): L57-L67.
22. Angelini DJ, Hyun S-W, Grigoryev DN, Garg P, Gong P, Singh IS, et al. TNF- α increases tyrosine phosphorylation of vascular endothelial cadherin and opens the paracellular pathway through fyn activation in human lung endothelia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2006; 291(6): L1232-L45.
23. Di Giovine FS, Nuki G, Duff GW. Tumour necrosis factor in synovial exudates. *Ann Rheum Dis.* 1988; 47(9): 768-72.
24. Ma X, Xu S. TNF inhibitor therapy for rheumatoid arthritis (Review). *Biomed Rep.* 2013; 1(2): 177-84.
25. Woodrick R, Ruderman EM. Anti-interleukin-6 therapy in rheumatoid arthritis. *Bull NYU Hosp Jt Dis.* 2010; 68(3): 211-7.
26. Milligan ED, Watkins LR. Pathological and protective roles of glia in chronic pain. *Nat. Rev. Neurosci.* 2009; 10(1): 23-36.
27. Scholz J, Woolf CJ. The neuropathic pain triad: neurons, immune cells and glia. *Nat Neurosci.* 2007; 10(11): 1361-8.
28. Garrison C, Dougherty P, Kajander K, Carlton S. Staining of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in lumbar spinal cord increases following a sciatic nerve constriction injury. *Brain Res.* 1991; 565(1): 1-7.
29. Vega-Avelaira D, Moss A, Fitzgerald M. Age-related changes in the spinal cord microglial and astrocytic response profile to nerve injury. *Brain Behav.* 2007; 21(5): 617-23.
30. Stuesse S, Crisp T, McBurney D, Schechter J, Lovell J, Cruce W. Neuropathic pain in aged rats: behavioral responses and astrocytic activation. *Experimental Brain Research.* 2001; 137(2): 219-27.
31. Röhl C, Lucius R, Sievers J. The effect of activated microglia on astrogliosis parameters in astrocyte cultures. *Brain Res.* 2007; 1129: 43-52.
32. Suter MR, Berta T, Gao Y-J, Decosterd I, Ji R-R. Large a-fiber activity is required for microglial proliferation and p38 MAPK activation in the spinal cord: different effects of resiniferatoxin and bupivacaine on spinal microglial changes after spared nerve injury. *Mol Pain.* 2009; 5: 53. doi: 10.1186/1744-8069-5-53.
33. D'Antoni S, Berretta A, Bonaccorso CM, Bruno V, Aronica E, Nicoletti F, et al. Metabotropic glutamate receptors in glial cells. *Neurochem Res.* 2008; 33(12): 2436-43.
34. Masmoudi-Kouki O, Gandolfo P, Leprince J, Vaudry D, Pelletier G, Fournier A, et al. PACAP stimulates biosynthesis and release of endozepines from rat astrocytes. *Ann N. Y Acad Sci.* 2006; 1070: 411-6.
35. Gosselin R, Dansereau M, Pohl M, Kitabgi P, Beaudet N, Sarret P, et al. Chemokine network in the nervous system: a new target for pain relief. *Curr Med Chem.* 2008; 15(27): 2866-75.
36. Shan S, Hong C, Mei H, Ting-Ting L, Hai-Li P, Zhi-Qi Z, et al. New evidence for the involvement of spinal fractalkine receptor in pain facilitation and spinal glial activation in rat model of monoarthritis. *Pain.* 2007; 129(1): 64-75.
37. Sweitzer S, Colburn R, Rutkowski M, DeLeo J. Acute peripheral inflammation induces moderate glial activation and spinal IL-1 β expression that correlates with pain behavior in the rat. *Brain Res.* 1999; 829(1): 209-21.
38. Sun Y-N, Luo J-Y, Rao Z-R, Lan L, Duan L. GFAP and Fos immunoreactivity in lumbo-sacral spinal cord and medulla oblongata after chronic colonic inflammation in rats. *World J Gastroenterol.* 2005; 11(31): 4827-32.
39. Gosselin R-D, Suter MR, Ji R-R, Decosterd I. Glial cells and chronic pain. *Neuroscientist.* 2010; 16(5): 519-31.
40. Watkins LR, Milligan ED, Maier SF. Glial activation: a driving force for pathological pain. *Trends Neurosci.* 2001; 24(8): 450-5.
41. Ghorbani Gazar S, Talebi F. Immune System in central nervous system. *Shefaye Khatam.* 2013; 1(1): 49-54.
42. Sajadian A, Jafarian M, Khodaie B, Mohammad Sadeghi S, Ghaemi A. Reduction of neuroinflammation in epilepsy by using induced pluripotent stem (ips) cells-derived astrocytes. *Shefaye Khatam.* 2014; 2(2): 56-64.
43. Xu J-T, Xin W-J, Zang Y, Wu C-Y, Liu X-G. The role of tumor necrosis factor-alpha in the neuropathic pain induced by Lumbar 5 ventral root transection in rat. *Pain.* 2006; 123(3): 306-21.
44. Stohwasser R, Giesebrecht J, Kraft R, Müller EC, Häusler KG, Kettenmann H, et al. Biochemical analysis of proteasomes from mouse microglia: Induction of immunoproteasomes by interferon- γ and

- lipopolysaccharide. *Glia.* 2000; 29(4): 355-65.
45. Breder CD, Tsujimoto M, Terano Y, Scott DW, Saper CB. Distribution and characterization of tumor necrosis factor- α -like immunoreactivity in the murine central nervous system. *J Comp Neurol.* 1993; 337(4): 543-67.
46. Woolf CJ, Salter MW. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science.* 2000; 288(5472): 1765-8.
47. Li C-Q, Xu J-M, Liu D, Zhang J-Y, Dai R-P. Brain derived neurotrophic factor (BDNF) contributes to the pain hypersensitivity following surgical incision in the rats. *Mol Pain.* 2008; 4: 27. doi: 10.1186/1744-8069-4-27.
48. Lu VB, Biggs JE, Stebbing MJ, Balasubramanyan S, Todd KG, Lai AY, et al. Brain-derived neurotrophic factor drives the changes in excitatory synaptic transmission in the rat superficial dorsal horn that follow sciatic nerve injury. *J Physiol.* 2009; 587(5): 1013-32.
49. McMahon SB, Cafferty WB, Marchand F. Immune and glial cell factors as pain mediators and modulators. *Exp Neurol.* 2005; 192(2): 444-62.
50. Gao Y-J, Zhang L, Samad OA, Suter MR, Yasuhiko K, Xu Z-Z, et al. JNK-induced MCP-1 production in spinal cord astrocytes contributes to central sensitization and neuropathic pain. *J Neurosci.* 2009; 29(13): 4096-108.
51. Kuzumaki N, Narita M, Hareyama N, Niikura K, Nagumo Y, et al. Chronic pain-induced astrocyte activation in the cingulate cortex with no change in neural or glial differentiation from neural stem cells in mice. *Neurosci Lett.* 2007; 415(1): 22-7.
52. Milligan ED, Twining C, Chacur M, Biedenkapp J, O'Connor K, Poole S, et al. Spinal glia and proinflammatory cytokines mediate mirror-image neuropathic pain in rats. *J Neurosci.* 2003; 23(3): 1026-40.
53. Svensson CI, Marsala M, Westerlund A, Calcutt NA, Campana WM, Freshwater JD, et al. Activation of p38 mitogen-activated protein kinase in spinal microglia is a critical link in inflammation-induced spinal pain processing. *J Neurochem.* 2003; 86(6): 1534-44.
54. Inglis JJ, Nissim A, Lees DM, Hunt SP, Chernajovsky Y, Kidd BL. The differential contribution of tumour necrosis factor to thermal and mechanical hyperalgesia during chronic inflammation. *Arthritis Res Ther.* 2005; 7(4): R807-16.
55. Nagakura Y, Okada M, Kohara A, Kiso T, Toya T, Iwai A, et al. Allodynia and hyperalgesia in adjuvant-induced arthritic rats: time course of progression and efficacy of analgesics. *J Pharm Exp Ther.* 2003; 306(2): 490-7.
56. Philippe L, Gegout-Pottie P, Guingamp C, Bordji K, Terlain B, Netter P, et al. Relations between functional, inflammatory, and degenerative parameters during adjuvant arthritis in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 1997; 273(4): R1550-R6.
57. Billiau A, Matthys P. Modes of action of Freund's adjuvants in experimental models of autoimmune diseases. *J Leukoc Biol.* 2001; 70(6): 849-60.
58. Zaringhalam J, Akbari A, Tekieh E, Manaheji H, Rezazadeh S. Achillea santolina reduced serum IL-6 level and hyperalgesia during CFA-induced inflammation in male Wistar rats. *J Chin Integr Med.* 2010; 12: 1180-9.
59. Boyce-Rustay JM, Zhong C, Kohnken R, Baker SJ, Simler GH, Wensink EJ, et al. Comparison of mechanical allodynia and the affective component of inflammatory pain in rats. *Neuropharmacol.* 2010; 58(2): 537-43.
60. Rodriguez-Vita J, Lawrence T. The resolution of inflammation and cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2010; 21(1): 61-5.
61. Fraser GL, Gaudreau GA, Clarke P, Ménard DP, Perkins MN. Antihyperalgesic effects of δ opioid agonists in a rat model of chronic inflammation. *Br J Pharmacol.* 2000; 129(8): 1668-72.
62. Boettger MK, Ücayler N, Zelenka M, Schmitt A, Reif A, Chen Y, et al. Differences in inflammatory pain in nNOS-, iNOS-and eNOS-deficient mice. *Eur J Pain.* 2007; 11(7): 810-8.
63. Raghavendra V, Tanga FY, DeLeo JA. Complete freud's adjuvant-induced peripheral inflammation evokes glial activation and proinflammatory cytokine expression in the CNS. *Eur J Neurosci.* 2004; 20(2): 467-73.
64. Clark AK, Gentry C, Bradbury EJ, McMahon SB, Malcangio M. Role of spinal microglia in rat models of peripheral nerve injury and inflammation. *Eur J Pain.* 2007; 11(2): 223-30.
65. Nasseri B, Nazemian V, Manaheji H, Zaringhalam J. Microglia are involve in pain related behaviors during the acute and chronic phase of arthritis inflammation. *J Cell Mol Anesth.* 2016; 1(4): 137-45.
66. Cahill C, Morinville A, Hoffert C, O'Donnell D, Beaudet A. Up-regulation and trafficking of δ opioid receptor in a model of chronic inflammation: implications

- for pain control. *Pain*. 2003; 101(1): 199-208.
67. Taniguchi N, Kanai S, Kawamoto M, Endo H, Higashino H. Study on application of static magnetic field for adjuvant arthritis rats. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2004; 1(2): 187-91.
68. Zaringhalam J, Manaheji H, Mghsoodi N, Farokhi B, Mirzaee V. Spinal μ -opioid receptor expression and hyperalgesia with dexamethasone in chronic adjuvant-induced arthritis in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2008; 35(11): 1309-15.
69. Chover-Gonzalez AJ, Harbuz MS, Tejedor-Real P, Gibert-Rahola J, Larsen PJ, Jessop DS. Effects of stress on susceptibility and severity of inflammation in adjuvant-induced arthritis. *Ann N Y Acad Sci*. 1999; 876(1): 276-86.
70. LeHoang P, Sterkers M, Thillaye B, De Kozak Y, Coscas G, Faure JP. Primate model of uveoretinitis and vasculitis/experimental autoimmune uveoretinitis induced in cynomolgus monkeys by retinal s antigen. *Ophthalmic Res*. 2008; 40(3-4): 181-8.
71. Guex-Crosier Y, Raber J, Chan C-C, Kriete MS, Benichou J, Pilson RS, et al. Humanized antibodies against the alpha-chain of the IL-2 receptor and against the beta-chain shared by the IL-2 and IL-15 receptors in a monkey uveitis model of autoimmune diseases. *J Immunol*. 1997; 158(1): 452-8.
72. Tekieh E, Manaheji H, Zeinalzadeh E. Role of serum interleukin-6 level on hyperalgesia and spinal mu-opioid receptor expression during the complete Freund's adjuvant-induced chronic inflammation. *Kaums Journal (FEYZ)*. 2012; 16(3): 196-204.
73. Malheiros JM, Amaral C, Leslie ATS, Guinsburg R, Covolan L. An experimental model of neonatal nociceptive stimulation in rats. *Bio Protocol*. 2014; 4(21): 1-5.
74. van de Velde F, Lourenço ND, Pinheiro HM, Bakker M. Carrageenan: a food-grade and biocompatible support for immobilisation techniques. *Adv Synth Catal*. 2002; 344(8): 815-35.
75. Henriques MG, Silva PM, Martins MA, Flores CA, Cunha FQ, Assreuy-Filho J, et al. Mouse paw edema. a new model for inflammation? *Braz. J. Med. Biol. Res*. 1986; 20(2): 243-9.
76. Sugishit AE, Amagaya S, Ogihara Y. Anti-inflammatory testing methods: comparative evaluation of mice and rats. *J Pharmacobio-Dyn*. 1981; 4(8): 565-75.
77. Rosen A, Lundeberg T, Bytner B, Nylander I. Central changes in nociceptin dynorphin B and Met-enkephalin-Arg-Phe in different models of nociception. *Brain Res*. 2000; 857(1): 212-8.
78. Radhakrishnan R, Bement MKH, Skyba D, Sluka KA, Kehl LJ. Models of muscle pain: carrageenan model and acidic saline model. *Curr Protoc Pharmacol*. 2004; 5(35): doi: 10.1002/0471141755.ph0535s25.
79. Porto G-G, Vasconcelos B, Silva-Junior V-A, Souza Andrade E. The use of carrageenan for limiting the mandibular movement in rats: A preliminary experimental study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2010; 15(4): 653-7.
80. Cuzzocrea S, Sautebin L, De Sarro G, Costantino G, Rombolà L, Mazzon E, et al. Role of IL-6 in the pleurisy and lung injury caused by carrageenan. *J Immunol*. 1999; 163(9): 5094-104.
81. Rosa MD, Willoughby D. Screens for anti-inflammatory drugs. *J Pharm Pharmacol*. 1971; 23(4): 297-8.
82. Di Rosa M, Giroud J, Willoughby D. Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J Patho*. 1971; 104(1): 15-29.
83. Lyons CR. The role of nitric oxide in inflammation. *Adv Immunol*. 1995; 60: 323-71.
84. Yao Z-a, Xu L, Wu H-g. Immunomodulatory function of κ -carrageenan oligosaccharides acting on LPS-activated microglial cells. *Neurochem Res*. 2014; 39(2): 333-43.
85. Choi H-S, Roh D-H, Yoon S-Y, Moon J-Y, Choi S-R, Kwon S-G, et al. Microglial interleukin-1 β in the ipsilateral dorsal horn inhibits the development of mirror-image contralateral mechanical allodynia through astrocyte activation in a rat model of inflammatory pain. *Pain*. 2015; 156(6): 1046-59.
86. Schreiber KL, Beitz AJ, Wilcox GL. Activation of spinal microglia in a murine model of peripheral inflammation-induced, long-lasting contralateral allodynia. *Neurosci Lett*. 2008; 440(1): 63-7.
87. Handy RLC, Moore PK. A comparison of the effects of L-NAME, 7-NI and L-NIL on carrageenan-induced hindpaw oedema and NOS activity. *Br J Pharmacol*. 1998; 123(6): 1119-26.
88. Omote K, Hazama K, Kawamata T, Kawamata M,

- Nakayaka Y, Toriyabe M, et al. Peripheral nitric oxide in carrageenan-induced inflammation. *Brain Res.* 2001; 912(2): 171-5.
89. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med.* 1990; 9(6): 515-40.
90. Siomek A. NF- κ B signaling pathway and free radical impact. *Acta Biochim Pol.* 2012; 59(3): 323-31.
91. Moyana T, Lalonde J. Carrageenan-induced intestinal injury: possible role of oxygen free radicals. *Ann Clin Lab Sci.* 1991; 21(4): 258-63.
92. Yang Y, Yu T, Lian Y-j, Ma R, Yang S, Cho JY. Nitric oxide synthase inhibitors: a review of patents from 2011 to the present. *Expert Opin Ther Pat.* 2015; 25(1): 49-68.
93. Watanabe K, Inai S, Jinnouchi K, Bada S, Hess A, Michel O, et al. Nuclear-factor kappa B (NF-kappa B)-inducible nitric oxide synthase (iNOS/NOS II) pathway damages the stria vascularis in cisplatin-treated mice. *Anticancer Res.* 2001; 22(6C): 4081-5.
94. Sakaguchi Y, Shirahase H, Kunishiro K, Ichikawa A, Kanda M, Uehara Y. Synergistic effect of nitric oxide synthase and cyclooxygenase inhibitors on carrageenan-induced paw edema in rats. *Arzneimittelforschung.* 2006; 56(10): 695-9.
95. Meller S, Cummings C, Traub R, Gebhart G. The role of nitric oxide in the development and maintenance of the hyperalgesia produced by intraplantar injection of carrageenan in the rat. *Neuroscience.* 1994; 60(2): 367-74.
96. Gautam M, Kumar R, Prasoon P, Ray SB. Antinociceptive effect of 1400 W, an inhibitor of inducible nitric oxide synthase, following hind paw incision in rats. *Nitric Oxide.* 2015; 50: 98-104.
97. Huang SS, Chiu CS, Chen HJ, Hou WC, Sheu MJ, Lin YC, et al. Antinociceptive activities and the mechanisms of anti-inflammation of asiatic Acid in mice. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2011; 2011: 1-10. doi:10.1155/2011/895857.
98. Wakabayashi K, Inagaki T, Fujimoto Y, Fukuda Y. Induction by degraded carrageenan of colorectal tumors in rats. *Cancer Lett.* 1978; 4: 171-6.
99. Trentham DE, Townes AS, Kang AH. Autoimmunity to type II collagen an experimental model of arthritis. *J Exp Med.* 1977; 146(3): 857-68.
100. Elliott MJ, Maini RN, Feldmann M, Long-Fox A, Charles P, Katsikis P, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with chimeric monoclonal antibodies to tumor necrosis factor α . *Arthritis Rheum.* 1993; 36(12): 1681-90.
101. Patro N, Sharma A, Kariaya K, Patro I. Spirulina platensis protects neurons via suppression of glial activation and peripheral sensitization leading to restoration of motor function in collagen-induced arthritic rats. *Indian J Exp Biol.* 2011; 49: 739-48.
102. Holmdahl R, Andersson ME, Goldschmidt TJ, Jansson L, Karlsson M, Malmstrom V, et al. Collagen induced arthritis as an experimental model for rheumatoid arthritis. *APMIS.* 1989; 97(7-12): 575-84.
103. Holmdahl R, Jansson L, Larsson E, Rubin K, Klareskog L. Homologous type II collagen induces chronic and progressive arthritis in mice. *Arthritis Rheum.* 1986; 29(1): 106-13.
104. Sato M, Sano H, Iwaki D, Kudo K, Konishi M, Takahashi H, et al. Direct binding of Toll-like receptor 2 to zymosan, and zymosan-induced NF- κ B activation and TNF- α secretion are down-regulated by lung collectin surfactant protein A. *J Immunol.* 2003; 171(1): 417-25.
105. Gemmell DK, Cottney J, Lewis AJ. Comparative effects of drugs on four paw oedema models in the rat. *Agents Actions.* 1979; 9(1): 107-16.
106. Damas J, Remacle-Volon G. Mast cell amines and the oedema induced by zymosan and carrageenans in rats. *Eur J Pharmacol.* 1986; 121(3): 367-76.
107. Meller S, Gebhart G. Intraplantar zymosan as a reliable, quantifiable model of thermal and mechanical hyperalgesia in the rat. *Eur J Pain.* 1997; 1(1): 43-52.
108. Converse AK, Larsen EC, Engle JW, Barnhart TE, Nickles RJ, Duncan ID. ^{11}C -(R)-PK11195 PET imaging of microglial activation and response to minocycline in zymosan-treated rats. *J Nucl Med.* 2011; 52(2): 257-62.
109. Harrigan TJ, Abdullaev IF, Jourd'heuil D, Mongin AA. Activation of microglia with zymosan promotes excitatory amino acid release via volume-regulated anion channels: the role of NADPH oxidases. *J Neurochem.* 2008; 106(6): 2449-62.