مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران
سال یازدهم ● شماره ۴ ● صفحات ۲۸۹ تا ۲۹۹ ● زمستان ۱۳۹۲

مقاله تحقیقاتی

اثر تجویز نخاعی کوکائین و آنتاگونیست سروتونرژیک (سیپروهپتادین)، بر احساس درد در موش صحرایی

راهبه مهدی‌نیا[۱]، *مسعود فریدونی[۲]، علی مقیمی[۳]

تاریخ اعلام وصول: ۹۲/۶/۲ تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۹۲/۸/۲۶

چکیده

مقدمه: کوکائین با اثر بر سیستم عصبی مرکزی باعث مهار بازجذب مونوآمین‌ها (سروتونین، نوراپی‌نفرین و دوپامین) به پایانه پیش سیناپسی و افزایش غلظت آن‌ها می‌شود. مونوآمین‌هایی مانند سروتونین باعث بروز اثرات بی‌دردی در سطح نخاع می‌شوند. این مطالعه اثرات تجویز سیستمیک و نخاعی کوکائین بر احساس درد و نیز ارتباط این اثرات با سروتونین را می‌کاود.

مواد و روش‌ها: موش‌های نر ویستار (۲۵۰g–۲۰۰) در گروه‌های سالین (i.p)، سالین/ DMSO (i.p)، کوکائین ۲۵ mg/kg (i.p)، سالین (i.t)، سالین/DMSO (i.t)، کوکائین ۱۰۰ μg/۱۰μl (i.t)، سیپروهپتادین ۳۳ μg/۱۰μl (i.t) و سیپروهپتادین ۳۳ μg/μl۱۰/ کوکائین ۱۰۰ μg/۱۰μl (i.t) قرار گرفتند. آستانه درد حرارتی با آزمون Tail flick قبل و بعد از تجویز داروها اندازه‌گیری شد. برای القای درد شیمیایی، از تزریق کف پایی فرمالین استفاده شد. آزمون‌های آماری تی مستقل و آنوا مورد استفاده قرار گرفتند.

یافته‌ها: درد در هر دو مرحله آزمون فرمالین در گروه‌های کوکائین ۲۵ mg/kg (i.p) (P<۰/۰۱) و کوکائین ۱۰۰ μg/۱۰μl (i.t) (P<۰/۰۱) کاهش، اما در گروه سیپروهپتادین ۳۳ μg/۱۰μl (i.t) طی مرحله اول افزایش یافت (P<۰/۰۱). در گروه سیپروهپتادین ۳۳ μg/۱۰μl/ کوکائین ۱۰۰ μg/۱۰μl (i.t) بخشی از کاهش درد حاصل از کوکائین در هر دو مرحله مهار شد (P<۰/۰۱). نتایج آزمون Tail flickدر گروه سیپروهپتادین ۳۳ μg/۱۰μl (i.t) نشان‌دهنده کاهش آستانه درد حرارتی (P<۰/۰۰۱) بود.

نتیجه‌گیری: به نظر، مهار بازجذب سروتونین در سطح نخاع در بروز اثرات بی‌دردی کوکائین نقش دارد، زیرا رهایی سروتونین از پایانه‌های سروتونرژیک نخاعی با مهار نورون‌های انتقال درد، باعث کاهش درد می‌شود و احتمالاً مهار گیرنده‌های نخاعی سروتونین توسط سیپروهپتادین بخشی از اثرات ضد دردی کوکائین را کاسته است.

کلمات کلیدی: کوکائین، درد، سروتونین، سیپروهپتادین

مقدمه

درد احساس ناخوشایندی است که در حقیقت بخشی از سیستم دفاعی بدن می‌باشد که به فرد هشدار داده تا از شرایطی که منجر به آسیب می‌گردد، دوری کند. اما این احساس ناخوشایند همواره عذاب آور بوده و انسان از زمان‌های قدیم به دنبال راه حل‌هایی برای رهایی از آن بوده است. پاتوفیزیولوژی درد شامل برهم‌کنش‌های بسیار پیچیده ساختارهای محیطی و مرکزی متفاوت زیادی که از سطح پوست تا قشر مخ درگیر هستند، می‌باشد (۱). در شرایط فیزیولوژیکی طبیعی، سیگنال‌هایی از طریق محرک‌های شدید گرمایی، مکانیکی، شیمیایی و... تولید می‌شوند که فیبرهای عصبی C و Aδ را فعال

۱ـ مربی، ایران، مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی
۲ـ دانشیار، ایران، مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی (*نویسنده مسئول)
تلفن: ۰۹۱۵۵۲۴۲۰۱۵ آدرس الکترونیک: fereidoni@um.ac.ir
۳ـ استاد، ایران، مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

می‌کنند. هر دو نوع فیبرهای درد از پوست و اندام‌های داخلی، در لایه‌های سطحی شاخ پشتی نخاع خاتمه می‌یابند. فیبرهای دیگر که از سلول‌های انتقالی از Substantia gelatinosa ایمپالس‌ها را به تالاموس می‌رسانند، نورون‌های درجه دوم می‌باشند. تالاموس مکان عمده برای جمع بندی ورودی‌های درد می‌باشد. از تالاموس نورون‌های درجه سوم پیام درد را به قشر مخ انتقال می‌دهند که در آنجا پردازش بیشتر انجام می‌شود و منجر به احساس درد می‌گردد (۲). امروزه داروهای گیاهی و شیمیایی متعددی برای کاهش و یا از بین بردن احساس درد استفاده می‌شوند. مواد مخدر نیز در این زمینه کاربردهای زیادی دارند. از جمله این مواد می‌توان به مرفین، کدئین، هروئین و... اشاره نمود که از آنها برای بی‌دردی، حتی در بیماران با دردهای سرطانی و دردهای بعد از جراحی و... استفاده می‌گردد (۱). کوکائین نیز نوعی ماده روان گردان می‌باشد که از برگ‌های گیاه Erythroxylum coca استخراج می‌شود. این ماده، محرک سیستم عصبی مرکزی (۳) و بی‌حس کننده موضعی نیز می‌باشد (۴). خاصیت بی‌حس کنندگی کوکائین در نتیجه مهار برگشت پذیر ایمپالس‌های عصبی از طریق جلوگیری عبور یون سدیم به درون سلول ایجاد می‌گردد (۵). همچنین کوکائین به دلیل اثر بر مسیر پاداش مزولیمبیک، سرخوشی آور و نیز اعتیاد آور است (۶). اثرات معمول کوکائین زمانی رخ می‌دهند که در سیستم عصبی مرکزی، به ناقل مونوآمین‌ها مانند سروتونین، نوراپی‌نفرین و دوپامین موجود در غشای پیش سیناپسی متصل می‌گردد و با مهار فعالیت ناقل‌ها باعث جلوگیری از بازجذب این مونوآمین‌ها به پایانه پیش سیناپسی می‌شود و در نتیجه غلظت این میانجی‌های عصبی را در فضای سیناپسی افزایش داده و منجر به تحریک بیشتر گیرنده‌های سروتونین و نوراپی‌نفرین و دوپامین در غشای پس سیناپسی می‌شود (۷، ۸ و ۹). مطالعات نشان داده‌اند که مونوآمین‌هایی مانند سروتونین و نوراپی‌نفرین در بروز اثرات بی‌دردی مخصوصاً در سطح نخاع نقش مهمی ایفا می‌کنند. اجسام سلولی نورون‌های سروتونین مغز در هسته‌های رافه واقع در مزانسفال قرار دارند و به طور پراکنده به مغز پیشین و نخاع ارسال (Projection) دارند. سروتونین در مغز در پایانه‌های آکسونی تولید می‌گردد که در پاسخ به پتانسیل عمل از پایانه رها می‌شود و در فضای سیناپسی انتشار پیدا می‌کند تا گیرنده‌های پس سیناپسی را فعال کند. نورون‌های سروتونرژیک و نورآدرنرژیک از طریق دسته پشتی جانبی از ساقه مغز به نخاع می‌آیند و در شاخ پشتی خاتمه می‌یابند و با ایجاد مکانیسم‌های دریچه‌ای درد که انتقال پیام درد در شاخ پشتی را کنترل می‌کند (مسیر مهاری پایین‌رو) نقش مهمی در تنظیم درد بازی می‌کنند (۲). اختلال در عملکرد این مسیرهای مهاری پایین رو می‌تواند منجر به حساسیت بالا به درد و حتی واکنش دردناک نسبت به محرکی که به طور طبیعی ناخوشایند نیست شود، به نظر می‌رسد ترکیباتی که انتقال عصبی سروتونین را افزایش می‌دهند در کنترل درد مؤثر باشند (۱۰). همچنین مطالعات نشان داده که تحریک الکتریکی مناطقی از مغز مانند ماده خاکستری اطراف قنات مغزی یا هسته رافه مگنوس، از طریق رهایی موضعی سروتونین و نوراپی‌نفرین درون زاد در شاخ پشتی نخاع منجر به ایجاد بی‌دردی می‌شود. این بی‌دردی حاصل از تحریک، توسط آنتاگونیست‌های نورآدرنرژیک مانند Phentolamine یا سروتونرژیک مانند Methysergide معکوس می‌گردد (۲). سروتونین گیرنده‌های متعددی دارد (۱۱)، و انواع مختلف آنها در نخاع موجودند و در کنترل درد نقش‌های متفاوتی دارند. مطالعات زیادی به نقش گیرنده‌های نوع ۵-HT۱ و ۵-HT۲ و ۵-HT۳ در تنظیم انتقال درد اشاره کرده‌اند و نشان داده‌اند که فعالیت این گیرنده‌ها در سطح نخاع منجر به ایجاد اثرات بی‌درد کننده طی آزمون فرمالین و سایر مدل‌های درد می‌گردد (۱۲، ۱۳ و ۱۴). در مطالعاتی که بر روی میمون رزوس در مورد اثرات بی‌درد کننده کوکائین و ارتباط آن با سیستم سروتونرژیک در تجویز سیستمیک صورت گرفته، به نقش این سیستم و گیرنده‌های سروتونین در ایجاد اثرات بی‌درد کننده کوکائین اشاره شده است. مشخص شده است که اثرات بی‌درد کننده کوکائین به صورت مرکزی میانجی گری می‌شوند و احتمال می‌رود بخشی از این اثرات در نخستیان روی سیستم سروتونرژیک مرکزی باشد (۱۵)، اما در این مورد به سطح سیستم عصبی مرکزی (مغز یا نخاع) اشاره‌ای نشده است. با توجه به نقش مهم سروتونین در تنظیم مسیرهای درد، به نظر تجویز نخاعی کوکائین حداقل در بخشی با اثر بر سیستم سروتونرژیک نخاعی، در بروز اثرات ضد دردی موثر باشد. با توجه به اینکه گیرنده‌های ۵-HT۲ و ۵-HT۱ سروتونین در کنترل درد و عملکرد سروتونین در سطح نخاع نقش مهمی دارند به نظر مهار این گیرنده‌ها توسط آنتاگونیست این دوگیرنده (سیپروهپتادین) نیز در ایجاد اثرات بی‌دردی حاصل

از تجویز نخاعی کوکائین مؤثر باشد. هدف از انجام این مطالعه نیز بررسی فرضیات مذکور می‌باشد، و اثرات ضد دردی کوکائین در سطح نخاع به همراه اهمیت سیستم میانجی سروتونین در سطح نخاع بررسی می‌گردد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. تمامی این موش‌ها در شرایط محیطی ۱۲ ساعت روشنایی/ ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۲ ± ۲ °C با دسترسی آزاد به آب و غذا و بدون هرگونه آلودگی صوتی در قفس‌های مخصوص Plexy glass نگهداری شدند. تمامی مراحل نگهداری و اجرای آزمایش‌ها در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی جانوری گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد انجام گرفت، همچنین کلیه عملیات آزمایشگاهی بین ساعت ۱۰ صبح تا ۲ بعدازظهر، با رعایت حقوق بین المللی اخلاق و حمایت از حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت (۱۶). جهت انجام آزمایش‌ها، موش‌های صحرایی بطور تصادفی در هشت گروه هفتایی دریافت کننده سالین (i.p)، سالین/DMSO به عنوان حلال دارو (i.p)، کوکائین ۲۵ mg/kg (i.p) (۱۷)، سالین (i.t)، سالین/ DMSO (i.t)، کوکائین ۱۰ µl/ ۱۰۰ µg (i.t)، سیپروهپتادین ۱۰ µl/ ۳۳ µg (i.t) (۱۸) و گروه سیپروهپتادین ۱۰ µl/ ۳۳ µg/کوکائین ۱۰ µl/ ۱۰۰ µg (i.t) دسته بندی شدند.

به منظور لوله گذاری برای تجویز نخاعی (intrathecal)، حیوانات مورد عمل جراحی قرار گرفتند. بدین صورت که موش‌های صحرایی با تجویز داخل صفاقی کتامین (۱۰۰ mg/kg) و زایلازین (mg/kg ۲۰) بیهوش شدند. سپس موهای پشت سر (محل برش) تراشیده و موش‌ها در دستگاه استرئوتاکس قرار داده شدند. برای لوله گذاری از روش Yaksh و Rudy استفاده شد (۱۹). به این صورت که ابتدا در فاصله بین دو گوش و به سمت پایین برشی حدوداً ۲ cm ایجاد گردید و بعد از کنار زدن پوست و عضلات به آرامی، غشای بین استخوان اکسی‌پیتال و مهره اطلس نمایان شد. از لوله پلی اتیلن در این روش جراحی برای وارد کردن به فضای زیر عنکبوتیه استفاده می‌گردد که باید از فاصله بین اکسی‌پیتال و اطلس وارد شود. سپس به آرامی با یک سر سوزن به صورتی که نوک سوزن با زاویه کم نسبت به غشاء بر روی آن قرار گیرد و به آرامی غشا خراش داده شد و مایع مغزی نخاعی به بیرون تراوش کرد که نشان دهنده دسترسی به فضای مورد نظر برای وارد کردن لوله به فضای زیر عنکبوتیه بود. ۸ سانتیمتر از طول لوله پلی اتیلن ۱۱ سانتیمتری وارد فضای زیرعنکبوتیه شد و در طول نخاع به پیش رانده شد و در نهایت انتهای لوله حدوداً بین قطعه‌ی ۴ و ۵ کمری نخاع قرار گرفت. ۳ سانتیمتر از این لوله به منظور تجویز داروها بیرون از نخاع قرار گرفت. برای تجویز داروها از سرنگ هامیلتون ۵۰ µl استفاده شد. پس از جراحی محل برش، بخیه شده و پس از گذشتن ۵ روز الی یک هفته دوره بهبودی، در صورت نداشتن هیچ گونه نقص حرکتی در حیوانات، تجویز دارو و سایر مراحل آزمایش‌ها انجام گرفت.

از آزمون فرمالین برای سنجش پاسخ حیوان به درد نسبتاً طولانی مدت حاصل از آسیب شیمیایی به بافت استفاده گردید (۲۰). بدین صورت که ۰/۰۵ ml فرمالین ۲/۵٪ به زیر پوست کف پای چپ عقبی هرکدام از موش‌های صحرایی تزریق و پاسخ‌های رفتاری ناشی از درد حیوان در فواصل زمانی ۱۵ ثانیه‌ای به مدت ۶۰ دقیقه ثبت شد. در این آزمون، مرحله اول پاسخ درد (فاز نوروژنیک) معمولاً در ۵ دقیقه اول و مرحله دوم پاسخ درد (فاز التهابی) حدوداً ۱۵ تا ۳۰ دقیقه پس از تجویز فرمالین به اوج خود می‌رسد. سپس پاسخ‌های رفتاری به درد به صورت شدت درد مدرج گردیدند یعنی با توجه به مشخصات رفتاری حیوان، به شدت درد حیوان درجه ۰ تا ۳ داده شد. به این صورت که به رفتار قرار دادن کل کف پا بر روی زمین و نداشتن درد عدد صفر، به قرار دادن فقط پنجه پا بر روی زمین عدد ۱، به بالا نگه داشتن کامل پا عدد ۲ و به لیس زدن و گازگرفتن و تکان دادن پا عدد ۳ تعلق گرفت (۲۱).

برای سنجش آستانه درد حرارتی از آزمون Tail flick بر اساس روش D'Amour و Smith استفاده شد. شدت نور دستگاه طوری تنظیم گردید که زمان متوسط پاسخ‌دهی حیوانات بین ۴ تا ۶ ثانیه باشد و ۱۵ ثانیه به عنوان زمان قطع تابش نور به ثلث میانی دم حیوان (cut of time) برای جلوگیری از آسیب بافتی در نظر گرفته شد. زمان پاسخ دهی حیوان به تابش نور به ثلث میانی دم، سه بار متوالی با فواصل یک دقیقه‌ای اندازه‌گیری و میانگین آن به عنوان آستانه درد (Tail Flick Latency) در نظر گرفته شد. آستانه درد قبل و ۳۰ دقیقه پس از تجویز دارو به روش i.p و ۵ دقیقه پس از تجویز دارو به

روش i.t سنجیده شد.

برای مقایسه بین گروه‌ها میزان حداکثر اثر ممکن بر آستانه درد Maximum Possible Effect (MPE ٪) با در نظر گرفتن تفاضل Tail Flick Latency قبل و بعد از تجویز داروها و با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۲۲).

$$MPE\% = \frac{\text{Post drug latency} - \text{Pre drug latency}}{\text{Cut of time} - \text{Pre drug latency}} \times 100$$

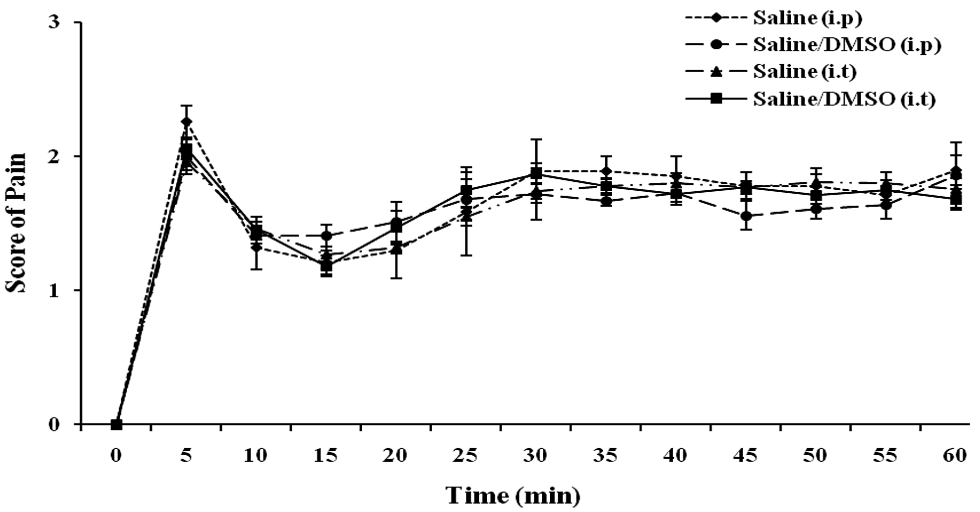
داده‌ها به صورت mean±SEM ارائه شدند. معنی‌داری تفاوت بین میانگین‌ها با آزمون ANOVA یک طرفه و با استفاده از نرم افزار آماری GraphPadPrism۵ و به دنبال آن مقایسه میانگین‌ها با آزمون T student و با حداقل سطح معناداری P<۰/۰۵ برآورد شدند. نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Microsoft Excel ۲۰۰۷ رسم شدند.

یافته‌ها

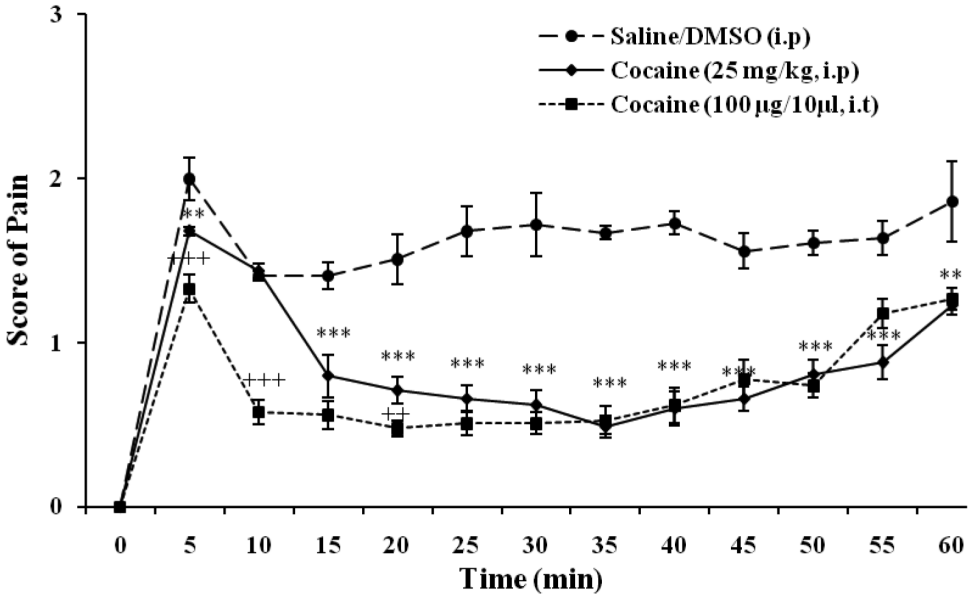
مقایسه نتایج حاصل از آزمون فرمالین و Tail flick بین دو گروه سالین (i.p) و سالین/DMSO به عنوان حلال دارو (i.p)، بین دو گروه سالین (i.t) و سالین/DMSO (i.t)، و همچنین بین دو گروه سالین/DMSO (i.p) و سالین/DMSO (i.t) نشان داد تفاوت معنی‌داری در شدت درد شیمیایی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین در هر دو فاز اول و دوم آزمون فرمالین و هم چنین در آستانه درد حرارتی بین گروه‌های مذکور وجود نداشت. عدم تفاوت معنی‌دار در مقایسه نتایج آزمون فرمالین و Tail flick بین گروه‌های سالین (i.p) و سالین/DMSO (i.p) و همچنین گروه‌های سالین (i.t) و سالین/DMSO (i.t) نشان دهنده بلامانع بودن استفاده از DMSO به عنوان حلال دارو برای تجویز داخل صفاقی (i.p) و نخاعی (i.t) به بدن حیوان بود. همچنین عدم معنی‌داری تفاوتها بین دو گروه سالین/DMSO (i.p) و سالین/DMSO (i.t) مؤید عدم تأثیر عمل جراحی برای تجویز دارو به روش نخاعی (i.t) نسبت به روش داخل صفاقی (i.p) بر روند آزمایش‌ها، بود (شکل ۱)، (شکل ۴).

اما مقایسه نتایج آزمون فرمالین بین گروه‌های سالین/DMSO (i.p)، کوکائین ۲۵ mg/kg (i.p) و کوکائین ۱۰ µl/ ۱۰۰ µg (i.t) نشان دهنده کاهش معنی‌دار شدت درد در هر دو مرحله نوروژنیک و التهابی آزمون فرمالین طی تجویز داخل صفاقی کوکائین (۲۵ mg/kg) (P<۰/۰۱) و نخاعی کوکائین (۱۰ µl/ ۱۰۰ µg) (P<۰/۰۱) نسبت به گروه سالین/DMSO (i.p) بود. همچنین این کاهش معنی‌دار شدت درد، در دقایق اولیه آزمون فرمالین در تجویز نخاعی کوکائین (۱۰ µl/ ۱۰۰ µg) نسبت به تجویز داخل صفاقی آن (۲۵ mg/kg) بیشتر بود (P<۰/۰۱)، (شکل ۲).

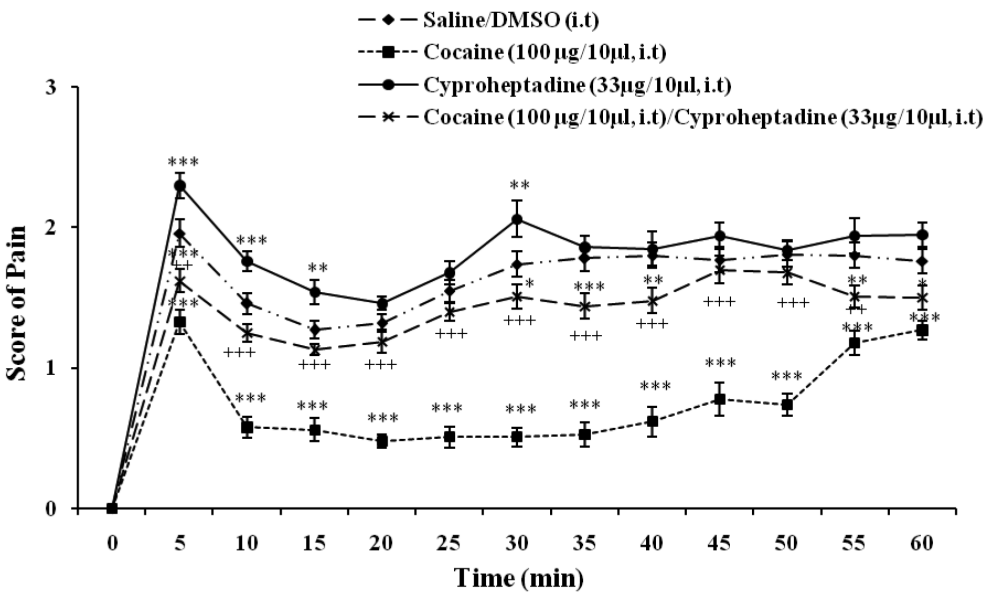
همچنین مقایسه نتایج حاصل از آزمون فرمالین بین گروه‌های سالین/DMSO (i.t)، کوکائین ۱۰ µl/ ۱۰۰ µg (i.t)، سیپروهپتادین ۱۰ µl/ ۳۳ µg (i.t) و سیپروهپتادین ۱۰ µl/ ۳۳ µg/کوکائین ۱۰ µl/ ۱۰۰ µg (i.t) نشان داد که تجویز نخاعی سیپروهپتادین به تنهایی در



شکل ۱- مقایسه نتایج حاصل از آزمون فرمالین بین گروه‌های سالین (i.p) و سالین/DMSO (i.p)، سالین (i.t) و سالین/DMSO (i.t). نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در شدت درد شیمیایی ناشی از تزریق کف پایی ۰/۰۵ ml فرمالین ۲/۵٪ در هر دو فاز اول (نوروژنیک) و دوم (التهابی) آزمون فرمالین بین هیچکدام از گروه‌ها مشاهده نشد. نتایج به صورت mean±SEM ارائه شده‌اند و در تمام گروه‌ها n=۷ می‌باشد.

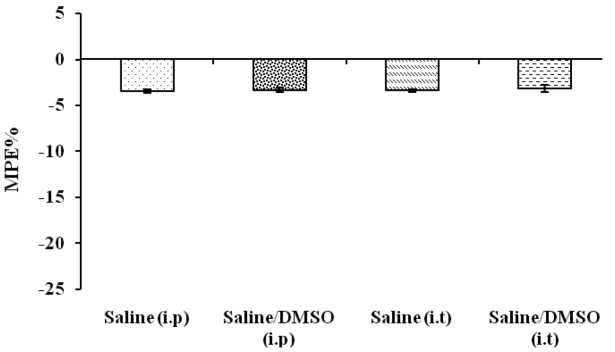


شکل ۲- مقایسه نتایج حاصل از آزمون فرمالین بین گروه‌های سالین/DMSO (i.p)، کوکائین ۲۵ mg/kg (i.p) و کوکائین ۱۰ µl/ ۱۰۰ µg (i.t). نتایج نشان داد در گروه‌هایی که کوکائین را دریافت کردند، شدت درد شیمیایی ایجاد شده به وسیله فرمالین به طور معنی‌داری در هر دو مرحله آزمون فرمالین در مقایسه با گروه سالین/DMSO (i.p) کاهش یافت. همچنین مقایسه نتایج آزمون فرمالین بین دو گروه‌هی که کوکائین دریافت کرده بودند مؤید این بود که تجویز نخاعی کوکائین در مرحله اول آزمون مؤثرتر از تجویز صفاقی آن باعث کاهش شدت درد شده‌است، اما در مرحله دوم آزمون فرمالین تفاوت چندانی بین دو گروه مشاهده نشد. نتایج به صورت mean±SEM ارائه شده‌اند و در تمام گروه‌ها n=۷ می‌باشد. (**P<۰/۰۱ و ***P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه سالین/DMSO (i.p) و ++P<۰/۰۱ و +++P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کوکائین ۲۵ mg/kg (i.p)).

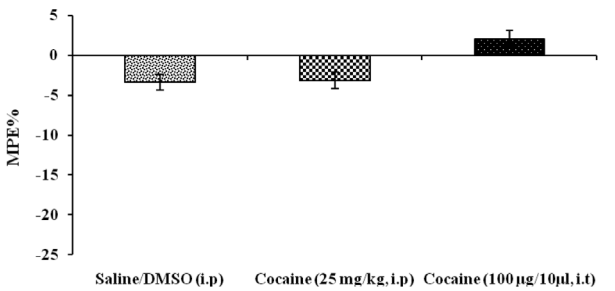


شکل ۳- مقایسه نتایج حاصل از آزمون فرمالین بین گروه‌های سالین/DMSO (i.t)، کوکائین ۱۰ µl/ ۱۰۰ µg (i.t)، سیپروهپتادین ۱۰ µl/ ۳۳ µg (i.t) و سیپروهپتادین ۱۰ µl/ ۳۳ µg/کوکائین ۱۰ µl/ ۱۰۰ µg (i.t). نتایج نشان داد در گروهی که سیپروهپتادین را به تنهایی دریافت کردند، شدت درد شیمیایی ایجاد شده به وسیله فرمالین در مقایسه با گروه سالین/DMSO (i.t) در فاز اول آزمون افزایش معنی‌داری یافته‌است ولی در فاز دوم آزمون در اکثر زمان‌ها شدت درد افزایش نیافته‌است. همچنین در گروهی که سیپروهپتادین و کوکائین را با هم به صورت تجویز نخاعی دریافت کردند، سیپروهپتادین منجر به کاهش معنی‌دار اثرات بی‌دردی ناشی از کوکائین در هر دو مرحله آزمون فرمالین در مقایسه با گروهی که فقط کوکائین دریافت کرده بودند، شد اما این گروه در مقایسه با گروه سالین/DMSO (i.t) نشان داد که بی‌دردی کوکائین در هر دو فاز آزمون فرمالین باقی مانده است. نتایج به صورت mean±SEM ارائه شده‌اند و در تمام گروه‌ها n=۷ می‌باشد. (*P<۰/۰۱، *P<۰/۰۵ و ***P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه سالین/DMSO (i.t) و ++P<۰/۰۱ و +++P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کوکائین ۱۰ µl/ ۱۰۰ µg (i.t)).

مقایسه با گروه سالین/DMSO (i.t) در فاز اول آزمون فرمالین باعث افزایش شدت درد و ایجاد پردردی شده است ولی در فاز دوم آزمون در اکثر زمان‌ها شدت درد را افزایش نداده است (P<۰/۰۱)، همچنین در گروهی که سیپروهپتادین و سپس کوکائین را به صورت تجویز نخاعی دریافت کردند، سیپروهپتادین باعث کاهش بخشی از اثرات بی‌دردی ناشی از کوکائین در هر دو مرحله آزمون فرمالین در مقایسه با گروهی که فقط کوکائین دریافت کرده بودند، شد (P<۰/۰۱) اما تجویز نخاعی همزمان سیپروهپتادین و کوکائین در مقایسه با گروه سالین/DMSO (i.t) نشان داد که هنوز بخشی از اثرات بی‌دردی کوکائین در هر دو فاز آزمون فرمالین باقی مانده است



شکل ۴- مقایسه نتایج حاصل از آزمون Tail Flick بین گروه‌های سالین (i.p)، سالین/DMSO (i.p)، سالین (i.t) و سالین/DMSO (i.t). نتایج نشان داد تفاوت معنی‌داری در آستانه درد حرارتی بین هیچکدام از گروه‌ها مشاهده نشد. نتایج به صورت mean±SEM ارائه شده‌اند و در تمام گروه‌ها n=۷ می‌باشد.

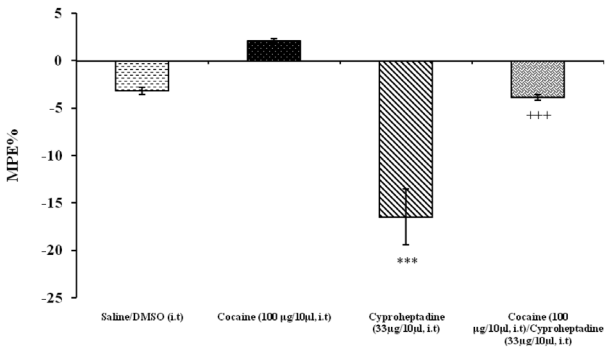


شکل ۵- مقایسه نتایج حاصل از آزمون Tail Flick بین گروه‌های سالین/DMSO (i.p) و کوکائین ۲۵ mg/kg (i.p) و کوکائین ۱۰ µl/ ۱۰۰ µg (i.t). نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در آستانه درد حرارتی بین گروه‌های مذکور وجود نداشت، این در حالی است که مقایسه نتایج بین گروه دریافت کننده کوکائین بصورت صفاقی و گروه دریافت کننده آن بصورت نخاعی نشان داد که تجویز نخاعی کوکائین در محدوده غلظت معادل با تجویز صفاقی آن تا حدودی افزایش دهنده آستانه درد حرارتی است اگرچه میزان افزایش آستانه درد حرارتی بسیار اندک است و عملاً تجویز نخاعی و صفاقی کوکائین در محدوده غلظت‌های به کار رفته اثر چندانی روی استانه درد حرارتی ندارد. نتایج به صورت mean±SEM ارائه شده‌اند و در تمام گروه‌ها n=۷ می‌باشد.

(P<۰/۰۵)، (شکل ۳).

مقایسه نتایج حاصل از آزمون Tail flick بین گروه‌های سالین/DMSO (i.p)، کوکائین ۲۵ mg/kg (i.p) و کوکائین ۱۰ µl/ ۱۰۰ µg (i.t) نشان دهنده تفاوت معنی‌داری در آستانه درد حرارتی طی تجویز داخل صفاقی و تجویز نخاعی کوکائین در مقایسه با گروه سالین/DMSO (i.p) نبود که این مسئله مؤید این می‌باشد که احتمالاً کوکائین در محدوده دوزهای مذکور در تجویز صفاقی و نخاعی اثر چندانی روی آستانه درد حرارتی نداشته است. اگرچه تجویز نخاعی کوکائین نسبت به گروه سالین/DMSO (i.p) آستانه درد حرارتی را افزایش داد اما با محاسبه حداکثر اثر ممکن (٪ MPE)، کوکائین تنها منجر به بروز دو درصد بی دردی شده که بسیار ناچیز می‌باشد (شکل ۵).

همچنین مقایسه نتایج حاصل از آزمون Tail flick بین گروه‌های سالین/DMSO (i.t)، کوکائین ۱۰ µl/ ۱۰۰ µg (i.t)، سیپروهپتادین ۱۰ µl/ ۳۳ µg (i.t) و سیپروهپتادین ۱۰ µl/ ۳۳ µg/کوکائین ۱۰ µl/ ۱۰۰ µg (i.t) نشان داد که تجویز نخاعی سیپروهپتادین به تنهایی در گروه سیپروهپتادین ۱۰ µl/ ۳۳ µg (i.t) در مقایسه با گروه سالین/DMSO (i.t) منجر به کاهش آستانه درد حرارتی شده و حدوداً ۱۶ درصد پردردی ایجاد کرد (P<۰/۰۰۱). اما نتایج حاصل از آزمون Tail flick در گروهی که سیپروهپتادین و کوکائین را با هم دریافت کرده



شکل ۶- مقایسه نتایج حاصل از آزمون Tail Flick بین گروه‌های سالین/DMSO (i.t)، کوکائین ۱۰ µl/ ۱۰۰ µg (i.t)، سیپروهپتادین ۱۰ µl/ ۳۳ µg (i.t) و سیپروهپتادین ۱۰ µl/ ۳۳ µg/کوکائین ۱۰ µl/ ۱۰۰ µg (i.t). نتایج نشان داد در گروهی که سیپروهپتادین را به تنهایی دریافت کردند، آستانه درد حرارتی در مقایسه با گروه سالین/DMSO (i.t) کاهش معنی‌داری یافته‌است. همچنین در گروهی که سیپروهپتادین و کوکائین را با هم به صورت تجویز نخاعی دریافت کردند، کوکائین منجر به افزایش معنی‌دار آستانه درد حرارتی در مقایسه با گروهی که فقط سیپروهپتادین دریافت کرده بودند، شد. نتایج به صورت mean±SEM ارائه شده‌اند و در تمام گروه‌ها n=۷ می‌باشد. (*P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه سالین/DMSO (i.t) و +++P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه سیپروهپتادین ۱۰ µl/ ۳۳ µg (i.t)).**

بود در مقایسه با گروهی که فقط سیپروهپتادین را دریافت کرده بود، نشان داد که تجویز کوکائین به همراه سیپروهپتادین اثر پردرد کننده سیپروهپتادین را مرتفع کرده است (P<۰/۰۰۱)، (شکل ۶).

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر همانند مطالعات قبلی (۲۳) نشان داد که احتمالاً اثر کوکائین بر درد، بیشتر بصورت مرکزی باشد. زیرا در پژوهش حاضر مشاهده کردیم که تجویز سیستمیک و مرکزی کوکائین در مرحله دوم آزمون فرمالین بی‌دردی یکسانی القاء می‌کنند و در مرحله اول آزمون فرمالین (درد نوروژنیک) حتی تجویز مرکزی (نخاعی) کوکائین نسبت به تجویز صفاقی باعث کاهش بیشتر درد شد (P<۰/۰۱)، (شکل ۲). در همین راستا در بررسی‌های دیگر نیز نشان داده شد، که تجویز سیستمیک آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامین (D_1 و D_2) که اغلب در سیستم عصبی مرکزی یافت می‌شوند باعث کاهش بی‌دردی ناشی از کوکائین در آزمون فرمالین گردید (۱۵). همچنین، تجویز سیستمیک کوکائین متیودید (ایزومری از کوکائین که از سد خونی مغزی عبور نمی‌کند) باعث ایجاد اثرات ضد دردی و یا افزایش اثرات ضد دردی اوپیوئیدها نشد (۲۳ و ۲۴). در نتیجه احتمالاً اثرات ضد دردی کوکائین، اگر نه همه آن حداقل بخش قابل ملاحظه‌ای از آن، از طریق اثراتش در سیستم عصبی مرکزی اعمال می‌شود. کوکائین در ترکیب با آگونیست‌های گیرنده اوپیوئیدی مانند نالبوفین (Nalbuphine) و مرفین باعث افزایش اثرات بی دردی آن‌ها در موش‌های صحرایی شد (۲۵ و ۲۶). از آنجا که احتمالاً کوکائین اثرات خود را با مهار بازجذب مونوآمین‌ها اعمال می‌کند و هم سیستم مونوآمینرژیک و هم اوپیوئیدرژیک فعالیت مسیرهای درد را تنظیم می‌کنند و فعالیت مسیرهای مونوآمینرژیک پایین رو که از مغز به نخاع ارسال می‌شوند باعث بروز بی دردی می‌شوند (۱۵). و چون برای مثال آگونیست‌های گیرنده (μ) اوپیوئیدی ممکن است حداقل بخشی از اثرات ضد دردی خود را با تحریک سیستم سروتونرژیک و نورآدرنرژیک پایین رو اعمال کنند (۲۷). بنابراین، ممکن است، هر یک از این سیستم‌های فوق در اثرات بی دردی کوکائین یا افزایش اثر ضد دردی بعضی آگونیست‌های μ توسط کوکائین نقش داشته باشد. نشان داده شده که کوکائین به عنوان مهارکننده بازجذب مونوآمین‌ها قادر به ایجاد اثرات ضد دردی ضعیف و نیز افزایش اثرات ضد دردی آگونیست گیرنده‌ی اوپیوئیدی می‌باشد (۱۵). نشان داده شده که مهارکننده‌های انتخابی بازجذب سروتونین نیز همانند کوکائین تولید اثرات ضد دردی ضعیف می‌کنند و باعث افزایش ضد دردی آگونیست گیرنده μ اوپیوئیدی شده‌اند اما مهارکننده‌های انتخابی بازجذب نوراپی‌نفرین و دوپامین ایجاد ضد دردی نکردند و نیز اثر ضد دردی آگونیست گیرنده μ اپوئیدی را افزایش ندادند (۱۵). همچنین نشان دادند که اثرات مهارکننده‌های انتخابی بازجذب سروتونین توسط تجویز سیستمیک آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های 5-HT1C, 5-HT2A, 5-HT2C (میانسرین، Mianserin) خنثی می‌شود که نشان دهنده این است که اثرات این مهارکننده‌ها از طریق گیرنده‌های سروتونین میانجی‌گری می‌شود (۱۵). در مجموع این نتایج نشان می‌دهند که مهار بازجذب سروتونین قادر به ایجاد اثرات ضد دردی ضعیف و نیز افزایش اثر ضد دردی آگونیست گیرنده μ اوپیوئیدی می‌باشد و لذا اثرات مهاری کوکائین روی بازجذب سروتونین احتمالاً بطور مرکزی و شاید در سطح نخاع در اثرات ضد دردی کوکائین نقش داشته باشد. در این پژوهش نیز تجویز مرکزی (نخاعی) سیپروهپتادین به عنوان آنتاگونیست گیرنده سروتونین (5-HT2 و 5-HT1) بخشی از اثرات بی‌دردی کوکائین را در هر دو مرحله آزمون فرمالین کاهش داد (P<۰/۰۱)، (شکل ۳) که نشان‌دهنده نقش احتمالی سروتونین و گیرنده‌های آن در بروز اثرات بی‌دردی کوکائین می‌باشد چرا که مهار مرکزی این گیرنده‌ها حداقل بخشی از اثرات بی‌دردی کوکائین را کاهش می‌دهد. البته شاید بتوان قسمتی از آن بخش از دیگر اثرات بی‌دردی کوکائین را که با تجویز سیپروهپتادین کاهش نیافته به خاصیت بی‌حس کنندگی کوکائین نسبت داد، زیرا همان طور که در مقدمه اشاره شد کوکائین به عنوان مهار کننده کانال سدیمی نیز عمل می‌کند و باعث ایجاد بی حسی می‌شود (۵). همچنین بررسی‌های دیگر نشان داد که مرحله دوم آزمون فرمالین که می‌تواند نتیجه رهایی فاکتورهای التهابی و حساس سازی مرکزی باشد با داروهای ضد افسردگی (مهار بازجذب نوراپی‌نفرین و سروتونین) غیر اختصاصی مانند آمی‌تریپتیلین (Amitriptyline) و مهار کننده اختصاصی بازجذب نورآدرنالین مانند دزیپرامین (Desipramine) که برای کنترل کلینیکی درد استفاده می‌شوند، کاهش می‌یابد (۲۸ و ۲۹). بنابراین در مجموع می‌توان بیان کرد که کوکائین شاید بیشتر

اثرات ضد دردی خود را از طریق اثر بر سیستم عصبی مرکزی و حداقل بخشی در نخاع به ثمر می‌رساند و مکانیسم‌های مرکزی و مسیرهای مونوآمینرژیک (سروتونرژیک و نورآدرنرژیک) در بروز بی‌دردی کوکائین درگیر هستند. در حقیقت تیغه‌های سطحی (تیغه‌های I و II) شاخ پشتی نخاع شامل اینترنورون‌های تحریکی و مهاری و نیز نورون‌های درجه دوم انتقال دهنده درد تیغه I می‌باشد. این نورون‌ها تعدادی مدارهای عصبی را تشکیل می‌دهند که قادرند اطلاعات مربوط به درد را که توسط فیبرهای آوران درجه اول (اولیه) به نخاع می‌رسد، تنظیم کنند. سیستم‌های پایین رو سروتونرژیک و نورآدرنرژیک می‌توانند از طریق مکانیسم‌های زیر، مدارهای نورونی تیغه‌های سطحی شاخ پشتی نخاع را کنترل کنند: (۱) مهار مستقیم اینترنورون‌های تحریکی و نورون‌های انتقال دهنده درد، (۲) تحریک مستقیم اینترنورون‌های مهاری گاباارژیک و در نتیجه مهار نورون‌های تحریکی، (۳) مهار مستقیم ورودی‌های آوران اولیه به تیغه‌های سطحی شاخ پشتی نخاع. که همه این فعالیت‌ها منجر به کاهش انتقال پیام درد به مراکز بالاتر و در نتیجه کاهش احساس درد می‌شود. اثرات مهاری مستقیم نورآدرنالین روی نورون‌های تیغه سطح شاخ پشتی نخاع یا روی فیبرهای C آوران، از طریق فعالیت گیرنده‌های α_2 آدرنرژیک میانجی‌گری می‌شود. در عوض برای سروتونین گیرنده‌های متعددی وجود دارد. مثلاً گزارش شده است که مهار نورون‌های تیغه‌های سطحی شاخ پشتی نخاع توسط سروتونین، فعالیت گیرنده‌های 5-HT1A را درگیر می‌کند (۳۰). همچنین مطالعات دیگر نشان داده که گیرنده‌های 5-HT2 نخاعی نیز نقش مهمی در مهار درد ایفا می‌کنند (۳۱). با توجه به نتایج این تحقیق که تجویز مرکزی (نخاعی) کوکائین باعث ایجاد اثرات ضد دردی شیمیایی در هر دو مرحله نوروژنیک و التهابی آزمون فرمالین شد ($P<0/01$)، (شکل ۲)، به نظر می‌رسد در تجویز نخاعی، احتمالاً کوکائین با مهار بازجذب مونوآمین‌ها (روی پایانه‌های مونوآمینرژیک که از مراکز بالاتر به سمت نخاع آمده‌اند) و افزایش غلظت این مونوآمین‌ها در سطح نخاع باعث افزایش اثرات آنها بر روی گیرنده‌ها احتمالاً 5-HT2 و 5-HT1 که در سطح نخاع نقش مهمی در تنظیم درد ایفا می‌کنند و به تبع آن اثرات ضد دردی حاصل از این مونوآمین‌ها شده است (۱۲، ۱۳ و ۱۴). البته چون احتمالاً کوکائین در افزایش غلظت نوراپی‌نفرین در سطح نخاع نیز مؤثر است (۱۵) و همچنین وجود اثرات مهاری نوراپی‌نفرین روی فیبرهای انتقال دهنده درد (۲۳)، می‌توان قسمتی از بخش دیگر از اثرات ضددردی کوکائین را که با مهار فعالیت گیرنده سروتونین توسط تجویز مرکزی سیپروهپتادین در این پژوهش از بین نرفته، به این بخش از اثرات کوکائین در رابطه با نوراپی نفرین نسبت داد که لازم است مورد پژوهش‌های بعدی قرار گیرد.

اما در آزمون Tail flick تجویز صفاقی و نخاعی کوکائین هر کدام اثر چندانی بر آستانه درد حرارتی نداشت و این در راستای پژوهش‌های قبلی می‌باشد که کوکائین در دوزی (۲۵ mg/kg) که در تجویز صفاقی در آزمون فرمالین منجر به بروز بی‌دردی می‌شود در آزمون Tail flick بی‌اثر می‌باشد و باید دوز مورد استفاده در آزمونTail flick بسیار بیشتر باشد (۳۲). با توجه به اینکه، غلظت تجویز نخاعی کوکائین در محدوده تجویز سیستمیک به کار گرفته شد، بنابراین در تجویز نخاعی هم اثرات بی‌دردی محسوس در آزمون Tail flick مشاهده نشد. پس کوکائین می‌تواند درد شیمیایی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین را احتمالاً بطور مرکزی و حداقل بخشی بصورت نخاعی مهار کند اما در دوز مؤثر در درد شیمیایی بر آستانه درد حرارتی آزمون Tail flick چندان مؤثر نبود.

آزمون Tail flick پاسخی رفلکسی به محرک حرارتی مضر است که در سطح نخاع میانجی‌گری می‌شود. در این آزمون اشعه نوری تابیده شده درد کوتاه مدتی به وجود می‌آورد که توسط مسیرهای نخاعی حمل می‌شود (۳۳). شواهد نشان داده که فیبرهای C و Aδ به محرک حرارتی پاسخ می‌دهند (۳۳ و ۳۴) و تحریک ایجاد شده توسط حرارت از طریق کانال‌های TRPV1 (Transient receptor potential vanilloid type 1) که بر روی این فیبرها وجود دارند به سیستم عصبی مرکزی ارسال می‌شود (۳۵ و ۳۶). تجویز نخاعی کوکائین به نظر با افزایش غلظت مونوآمین‌ها در سطح نخاع منجر به افزایش اثرات مهاری این مونوآمین‌ها روی فیبرهای C مرکزی و یا نورون‌های درجه دوم می‌شود که در انتقال درد شیمیایی نیز دخیل هستند و در نتیجه تحریک پذیری این نورون‌ها را کاهش می‌دهد و در نهایت انتقال درد به مراکز بالاتر را نیز کاهش می‌دهد که در آزمون فرمالین به خوبی مشاهده شد. به هر حال بخشی از رفلکس نخاعی پاسخ به درد حرارتی از طریق فیبرهای Aδ میانجی‌گری می‌شود (۳۷ و ۳۸) و مطالعات نشان داده‌اند که سیستم مهاری پایین‌رو به طور تبعیضی

اثرات مهاری بیشتری بر روی فیبرهای C نسبت به فیبرهای Aδ دارد و باعث کاهش بیشتر فعالیت فیبرهای C نسبت به فعالیت فیبرهای Aδ می‌شود و همچنین برای مهار فعالیت فیبرهای Aδ باید مقدار جریان الکتریکی وارده به هسته رافه حدوداً دو برابر جریان وارد شده به هسته رافه برای مهار فعالیت فیبرهای C باشد (۳۹)، زیرا همان‌طور که قبلاً توضیح داده شد تحریک الکتریکی هسته رافه باعث مهار انتقال درد در شاخ پشتی نخاع می‌شود (۲). با توجه به این توضیحات به نظر می‌رسد احتمالاً اثر مهاری سروتونین و نوراپی‌نفرین تجمع یافته در سیناپس‌های نخاعی در حضور مقادیری از کوکائین که درد شیمیایی را در آزمون فرمالین مهار می‌کند، برای مهار فعالیت فیبرهای Aδ و در نتیجه مهار نورون‌های انتقال دهنده درد مربوطه کافی نباشد. بنابراین شاید برای دیدن اثر قابل ملاحظه‌ای از کوکائین در آزمون Tail flick، لازم باشد میزان تجویز را افزایش داد تا بخش قابل ملاحظه‌ای از فیبرهای Aδ را که در رفلکس درد حرارتی دخیل هستند از کار انداخت و بتوان اثر قابل مشاهده ضد دردی از آن ثبت نمود.

همچنین در این بررسی با استفاده از آنتاگونیست گیرنده سروتونین، احتمالاً نقش سروتونین و گیرنده آن در کیفیت انتقال درد روشن‌تر شد به طوری که تزریق نخاعی سیپروهپتادین به عنوان آنتاگونیست (۵-HT۲ و ۵-HT۱) باعث شدت درد بیشتری در آزمون فرمالین (به ویژه در مرحله اول) نسبت به گروه کنترل شد (P<۰/۰۱)، (شکل ۳). که نشان‌دهنده نقش فعالیت گیرنده‌های نخاعی سروتونین در احساس درد در آزمون فرمالین می‌باشد به نحوی که کاهش این فعالیت باعث بروز پردردی گردید. همین مورد در آزمون درد حرارتی Tail flick رخ داد به نحوی که مهار گیرنده‌های نخاعی با تجویز نخاعی سیپروهپتادین باعث کاهش حد آستانه درد حرارتی و بروز پردردی شد (P<۰/۰۰۱)، (شکل ۶) و نشان داد که مهار سیستم سروتونرژیک مرکزی در سطح نخاع حساسیت به درد حرارتی را افزایش می‌دهد. همان‌طور که در مورد نقش سروتونین در تنظیم درد در سطح نخاع قبلاً توضیح داده شد که رهایی سروتونین از پایانه‌های سروتونرژیک نخاعی، با اثر بر گیرنده‌های ۵-HT۲ و ۵-HT۱ نقش مهمی در مهار انتقال پیام درد در فیبرهای آوران و نیز نورون‌های انتقال دهنده درد در سطح نخاع ایفا می‌نماید (۱۳)، شاید بتوان یک فعالیت تونیک برای سیستم سروتونرژیک در سطح نخاع پیشنهاد کرد که منجر به تعدیل احساس طبیعی درد شیمیایی یا حرارتی شود با این توجیه است که احتمالاً تجویز نخاعی سیپروهپتادین به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های ۵-HT۲ و ۵-HT۱ با مهار این گیرنده‌ها اثرات تعدیلی (مهاری) سروتونین رها شده از پایانه‌های سروتونرژیک موجود بر نورون‌های مرتبط با درد (فیبرهای C و نورون‌های انتقال دهنده درد) را از بین برده و منجر به بروز پردردی در آزمون فرمالین می‌شود (P<۰/۰۱)، (شکل ۳). همچنین مهار این گیرنده‌ها نیز بر روی فیبرهای Aδ که در رفلکس نخاعی Tail Flick نقش دارند احتمالاً باعث عدم فعالیت تعدیلی مهاری سروتونین بر روی این فیبرها و نورون‌های انتقال دهنده درد مربوطه و در نتیجه کاهش آستانه درد حرارتی در آزمون Tail flick و پردردی شده است (P<۰/۰۰۱)، (شکل ۶).

در مجموع شاید بتوان یک فعالیت تونیک طبیعی برای سیستم سروتونرژیک برای بروز یک نقش تعدیلی در انتقال طبیعی درد در سطح نخاع پیشنهاد نمود به نحوی که مهار گیرنده‌های ۵-HT۲ و ۵-HT۱ این اثر تعدیلی (مهاری) را در احساس درد کم نموده و منجر به بروز پردردی شده است. حال کوکائین احتمالاً با مهار بازجذب سروتونین و افزایش غلظت آن و در نتیجه فعالیت گبرنده‌های آن حداقل قسمتی در سطح نخاع بخشی از اثرات ضددردی شیمیایی خود را بروز می‌دهد البته بخش‌های دیگری از اثرات ضددردی آن ممکن است به اثرات مهاری آن روی کانال‌های سدیمی و یا افزاینده نوراپی نفرین حداقل در سطح نخاع از طریق مهار بازجذب نوراپی نفرین باز گردد که لازم است مورد تحقیقات بیشتر قرار بگیرند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه در مقطع کارشناسی ارشد می‌باشد که با حمایت دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شده است. بدینوسیله از ستاد مبارزه با مواد مخدر ریاست محترم جمهوری جهت تأمین داروی کوکائین مورد نیاز پژوهش حاضر تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1- Pasutharnchat K, Tan KH, Abdul Hadi M, Ho KY. Intrathecal analgesia in patients with cancer pain--an audit in a tertiary institution. Ann Acad Med Singapore 2009; 38 (11): 943-6. PubMed PMID: 19956815.
2- Furst S. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. Brain Res Bull 1999; 48 (2): 129-41. PubMed PMID: 10230704.
3- George AJ. Central nervous system stimulants. Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2000; 14 (1): 79-88. PubMed PMID: 10932812.
4- Henry JA. Metabolic consequences of drug misuse. Br J Anaesth 2000; 85 (1): 136-42. PubMed PMID: 10928002.
5- Middleton RM, Kirkpatrick MB. Clinical use of cocaine. A review of the risks and benefits. Drug Saf 1993; 9 (3): 212-7. PubMed PMID: 8240726.
6- Fattore L, Piras G, Corda MG, Giorgi O. The Roman high- and low-avoidance rat lines differ in the acquisition, maintenance, extinction, and reinstatement of intravenous cocaine self-administration. Neuropsychopharmacology 2009; 34 (5): 1091-101. PubMed PMID: 18418365.
7- Derlet RW, Albertson TE. Cocaine intoxication. West J Med 1989; 151 (1): 65. PubMed PMID: 18750607. Pubmed Central PMCID: 1026957.
8- Amin M, Gabelman G, Karpel J, Buttrick P. Acute myocardial infarction and chest pain syndromes after cocaine use. Am J Cardiol 1990; 66 (20): 1434-7. PubMed PMID: 2251988.
9- Kloner RA, Hale S, Alker K, Rezkalla S. The effects of acute and chronic cocaine use on the heart. Circulation 1992; 85 (2): 407-19. PubMed PMID: 1346509.
10- Mochizucki D. Serotonin and noradrenaline reuptake inhibitors in animal models of pain. Hum Psychopharmacol 2004; 19 Suppl 1: S15-9. PubMed PMID: 15378668.
11- Nichols DE, Nichols CD. Serotonin receptors. Chem Rev 2008; 108 (5): 1614-41. PubMed PMID: 18476671.
12- Millan MJ. Descending control of pain. Prog Neurobiol 2002; 66 (6): 355-474. PubMed PMID: 12034378.
13- Bardin L, Lavarenne J, Eschalier A. Serotonin receptor subtypes involved in the spinal antinociceptive effect of 5-HT in rats. Pain 2000; 86 (1-2): 11-8. PubMed PMID: 10779655.
14- Sasaki M, Ishizaki K, Obata H, Goto F. Effects of 5-HT2 and 5-HT3 receptors on the modulation of nociceptive transmission in rat spinal cord according to the formalin test. Eur J Pharmacol 2001; 424 (1): 45-52. PubMed PMID: 11470259.
15- Gatch MB, Negus SS, Mello NK. Antinociceptive effects of monoamine reuptake inhibitors administered alone or in combination with mu opioid agonists in rhesus monkeys. Psychopharmacology (Berl) 1998; 135 (1): 99-106. PubMed PMID: 9489939.
16- Zimmermann M. Ethical considerations in relation to pain in animal experimentation. Acta Physiol Scand Suppl 1986; 554: 221-33. PubMed PMID: 3469880.
17- Lin Y, Morrow TJ, Kiritsy-Roy JA, Terry LC, Casey KL. Cocaine: evidence for supraspinal, dopamine-mediated, non-opiate analgesia. Brain Res 1989; 479 (2): 306-12. PubMed PMID: 2647210.
18- Liu RJ, Zhang RX, Qiao JT, Dafny N. Interrelations of opioids with monoamines in descending inhibition of nociceptive transmission at the spinal level: an immunocytochemical study. Brain Res 1999; 830 (1): 183-90. PubMed PMID: 10350573.
19- Yaksh TL, Rudy TA. Narcotic analgestics: CNS sites and mechanisms of action as revealed by intracerebral injection techniques. Pain 1978; 4 (4): 299-359. PubMed PMID: 25403.
20- Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. Pain 1977; 4 (2): 161-74. PubMed PMID: 564014.
21- Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. Pain 1992; 51 (1): 5-17. PubMed PMID: 1454405.
22- D'amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 1941; 72 (1): 74-9.
23- Gatch MB, Negus SS, Mello NK. Antinociceptive effects of cocaine in rhesus monkeys. Pharmacol Biochem Behav 1999; 62 (2): 291-7. PubMed PMID: 9972696.
24- Carrigan KA, Dykstra LA. Behavioral effects of morphine and cocaine in M1 muscarinic acetylcholine receptor-deficient mice. Psychopharmacology (Berl) 2007; 191 (4): 985-93. PubMed PMID: 17211651.
25- Kauppila T, Mecke E, Pertovaara A. Enhancement of morphine-induced analgesia and attenuation of morphine-induced side-effects by cocaine in rats. Pharmacol Toxicol 1992; 71 (3 Pt 1): 173-8. PubMed PMID: 1438038.
26- Sierra V, Duttaroy A, Lutfy K, Candido J, Billings B, Zito SW, et al. Potentiation of opioid analgesia by cocaine: the role of spinal and supraspinal receptors. Life Sci 1992; 50 (8): 591-7. PubMed PMID: 1346544.
27- Arts KS, Holmes BB, Fujimoto JM. Differential contribution of descending serotonergic and noradrenergic systems to central Tyr-D-Ala2-Gly-NMePhe4-Gly-ol5 (DAMGO) and morphine-induced antinociception in mice. J Pharmacol Exp Ther 1991; 256 (3): 890-6. PubMed PMID: 2005587.
28- Iyengar S, Webster AA, Hemrick-Luecke SK, Xu JY, Simmons RM. Efficacy of duloxetine, a potent and balanced serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor in persistent pain models in rats. J Pharmacol Exp Ther 2004; 311 (2): 576-84. PubMed PMID: 15254142.
29- Sawynok J, Esser MJ, Reid AR. Peripheral antinociceptive actions of desipramine and fluoxetine in an inflammatory

and neuropathic pain test in the rat. Pain 1999; 82 (2): 149-58. PubMed PMID: 10467920.

30- Lu Y, Perl ER. Selective action of noradrenaline and serotonin on neurones of the spinal superficial dorsal horn in the rat. J Physiol 2007; 582 (Pt 1): 127-36. PubMed PMID: 17463043. Pubmed Central PMCID: 2075283.

31- Sasaki M, Obata H, Saito S, Goto F. Antinociception with intrathecal alpha-methyl-5-hydroxytryptamine, a 5-hydroxytryptamine 2A/2C receptor agonist, in two rat models of sustained pain. Anesth Analg 2003; 96 (4): 1072-8, table of contents. PubMed PMID: 12651663.

32- Pertovaara A, Hamalainen MM. Spinal potentiation and supraspinal additivity in the antinociceptive interaction between systemically administered alpha 2-adrenoceptor agonist and cocaine in the rat. Anesth Analg 1994; 79 (2): 261-6. PubMed PMID: 7639361.

33- Danneman PJ, Kiritsy-Roy JA, Morrow TJ, Casey KL. Central delay of the laser-activated rat tail-flick reflex. Pain 1994; 58 (1): 39-44. PubMed PMID: 7970838.

34- Cain DM, Khasabov SG, Simone DA. Response properties of mechanoreceptors and nociceptors in mouse glabrous skin: an in vivo study. J Neurophysiol 2001; 85 (4): 1561-74. PubMed PMID: 11287480.

35- Roberts LA, Connor M. TRPV1 antagonists as a potential treatment for hyperalgesia. Recent Pat CNS Drug Discov 2006; 1 (1): 65-76. PubMed PMID: 18221192.

36- Caterina MJ, Julius D. The vanilloid receptor: a molecular gateway to the pain pathway. Annu Rev Neurosci 2001; 24: 487-517. PubMed PMID: 11283319.

37- Magerl W, Ali Z, Ellrich J, Meyer RA, Treede RD. C- and A delta-fiber components of heat-evoked cerebral potentials in healthy human subjects. Pain 1999; 82 (2): 127-37. PubMed PMID: 10467918.

38- Doucette R, Theriault E, Diamond J. Regionally selective elimination of cutaneous thermal nociception in rats by neonatal capsaicin. J Comp Neurol 1987; 261 (4): 583-91. PubMed PMID: 3611425.

39- Lu Y, Sweitzer SM, Laurito CE, Yeomans DC. Differential opioid inhibition of C- and A delta- fiber mediated thermonociception after stimulation of the nucleus raphe magnus. Anesth Analg 2004; 98 (2): 414-9, table of contents. PubMed PMID: 14742380.

The effect of intrathecal administration of cocaine and serotonergic antagonist (cyproheptadine) on nociception in rat

Rahebeh Mahdiniya[1], *Masoud Fereidoni [2], Ali Moghimi [3]

Received: 24 Aug 2013 Accepted: 17 Nov 2013

Abstract

Background: Cocaine by effect on central nervous system inhibits reuptake of monoamines (serotonin, norepinephrine and dopamine) to presynaptic terminal and increases their concentration. Monoamines such as serotonin cause analgesia at the spinal level. This study investigates the effects of systemic and spinal administration of cocaine on pain sensation and the relation between these effects and serotonin.

Materials and Methods: Male Wistar rats (200-250g) were set in groups: saline (i.p), saline/DMSO (i.p), cocaine 25mg/kg (i.p), saline (i.t.), saline/DMSO (i.t.), cocaine 100µg/10µl (i.t.), cyproheptadine 33µg/10µl (i.t.) and cyproheptadine 33µg/10µl/cocaine 100µg/10µl (i.t.). Tail flick latency was measured before and after administration. Intraplantar formalin was used for induction of chemical pain. The data was analyzed by T-Test and ANOVA.

Results: Pain in both phases of formalin test was reduced in both cocaine 25mg/kg (i.p) ($P<0.01$) and cocaine 100µg/10µl (i.t.) ($P<0.01$). However, in cyproheptadine 33µg/10µl (i.t.), was increased in the first phase ($P<0.01$). In cyproheptadine 33µg/10µl/cocaine 100µg/10µl (i.t.), the part of pain reduction induced by cocaine was reversed, in both phases ($P<0.01$). In tail flick test the results of cyproheptadine 33µg/10µl (i.t.) showed reduced tail flick latency ($P<0.001$).

Conclusions: Inhibition of serotonin reuptake at the spinal level plays role in analgesic effects of cocaine probably, because release of serotonin from the spinal serotonergic terminals causes inhibition of pain neurons and reduction of pain. In addition, inhibition of spinal serotonin receptors by cyproheptadine reduced part of analgesic effects of cocaine probably.

Keywords: Cocaine; Pain; Serotonin; Cyproheptadine

1- Instructor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2- (*Corresponding Author) Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. Tell: +98 915 5242015 E-mail: fereidoni@um.ac.ir
3- Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran