

## بررسی اثر ضد درد استرس به تنهایی یا در حضور آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های CCK در درد نوروپاتیک به روش صفحه داغ در موش سوری

دکتر اعظم مصداقی نیا<sup>۱</sup> ، دکتر فرزانه سمیعی<sup>۲</sup>

### چکیده

**مقدمه:** مطالعات اخیر نشان داده استرس باعث کاهش پاسخ به تحریکات دردزا و بی‌دردی می‌شود که مکانیسم دقیق آن مشخص نیست. از طرفی در دردهای نوروپاتیک پاسخ به داروهای ضد درد کاهش می‌یابد. در این مطالعه میزان بی‌دردی ناشی از استرس، بی‌دردی ناشی از سروئین (آگونیست CCK) و پروگلوماید (آنتاگونیست CCK) به تنهایی یا توأم و همچنین تأثیر آنها بر بی‌دردی ناشی از استرس در حیوانات دست نخورده و حیواناتی که عصب سیاتیک آنها تحت فشار قرار داشت بررسی و مقایسه شد.

**روش بررسی:** این تحقیق بر روی ۴۵۰ موش سوری نر در پنجاه گروه ۹ تایی انجام پذیرفت. برای داشتن مدل حیوانی نوروپاتی، یک جراحی همراه با گره زدن سیم مسی روی عصب سیاتیک سمت راست (Nerve Ligation) انجام شد. برای ایجاد استرس از روش شناکردن در آب ۴ درجه سانتی گراد (Cold Water Swimming Stress) استفاده گردید. میزان بی‌دردی حیوانات با روش صفحه داغ (Hot Plate) سنجیده شد.

**یافته‌ها:** استرس شناکردن در آب سرد با زمانهای ۱،۲/۵، ۱،۱ و ۳ دقیقه توانست بی‌دردی وابسته به طول زمان شناکردن ایجاد نماید که پاسخ در دو گروه مشابه بود یعنی بستن عصب سیاتیک این میزان بی‌دردی را کاهش نداد. سروئین با مقادیر ۰/۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم در هر دو گروه بی‌دردی ایجاد نمود. در موشهای استرس دیده با تجویز سروئین و مقادیر مختلف پروگلوماید (۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به تنهایی و توأم با هم بی‌دردی دیده شد. پاسخ سروئین توسط پروگلوماید مهار نشد. هیچ یک از داروهای بی‌دردی ناشی از استرس را به طور معنادار تقویت ننمودند.

**نتیجه‌گیری:** استرس می‌تواند به عنوان جانشینی برای درمان دارویی و دردهای نوروپاتیک مطرح گردد.

### واژه‌های کلیدی: استرس ، کله سیستوکینین ، درد نوروپاتیک

### مقدمه

آسیب به یک عصب محیطی مانند تحت فشار قرار گرفتن

عصب سیاتیک می‌تواند منجر به هیپرالژزی و درد مداوم گردد بطوری که پاسخ به تحریکات دردزا در این بیماران افزایش می‌یابد. درد مزمن همراه با آسیب به سیستم عصبی به درد نوروپاتیک معروف می‌باشد. در این موارد یک تحریک ضعیف دردزا می‌تواند موجب بروز درد قابل توجه شود که به دلیل کاهش آستانه درد یا آلودینی (Allodynia) می‌باشد<sup>(۱)</sup>. برای

۱- استادیار گروه فارماکولوژی

۲- استادیار گروه فیزیولوژی

۱- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کاشان

۲- دانشگاه آزاد اسلامی تهران - واحد علوم و تحقیقات

ایجاد مدل مناسب درد نوروپاتیک در حیوانات آزمایشگاهی و مطالعه مکانیسم‌های دخیل در آن از نوعی جراحی و گره‌زدن روی عصب سیاتیک که باعث می‌شود آن عصب تحت فشار قرار گیرد استفاده می‌شود<sup>(۲،۳)</sup>. آنالژزیا به مفهوم تسکین یا تخفیف درد می‌باشد. علاوه بر ایجاد آنالژزیا توسط داروهای ضد درد گزارشاتی مبنی بر اینکه استرس می‌تواند در حیوانات آزمایشگاهی باعث بی‌دردی شود وجود دارد. به کارگیری نوعی شوک الکتریکی می‌تواند در تست Tail Flick پاسخ بی‌دردی ایجاد نماید که شکل و میزان بی‌دردی به زمان و شدت شوک بستگی دارد<sup>(۴)</sup>. این بی‌دردی با نالوکسون آنتاگونیست می‌شود که مبین دخالت گیرنده‌های اوپیوئیدی در این پاسخ است<sup>(۴)</sup>. شواهدی مبنی بر کاهش بی‌دردی ناشی از استرس توسط آگونیستها و افزایش آن توسط آنتاگونیستهای گیرنده‌های بنزودیازپینی وجود دارد که حاکی از نقش با اهمیت اضطراب در پیشرفت بی‌دردی ناشی از استرس است<sup>(۵)</sup>. در تحقیقات دیگری از وادار کردن حیوان به شناکردن در آب به عنوان ابزار استرس استفاده شد و گزارشاتی مبنی بر دخالت سیستم گابا آرژیک در این نوع بی‌دردی وجود دارد<sup>(۶)</sup>. در برابر بی‌دردی ناشی از استرس تولرانس حاصل می‌شود. شواهدی مبنی بر کاهش بی‌دردی و جلوگیری از پیشرفت تولرانس نسبت به آن در تست صفحه داغ توسط MK801، آنتاگونیست NMDA وجود دارد. چنین به نظر می‌رسد که این سیستم در مکانیزم تولرانس به بی‌دردی ناشی از استرس دخالت می‌کند که ارتباطی با نقش این سیستم در خود بی‌دردی ندارد<sup>(۷)</sup>. همچنین از وادار کردن حیوان به شناکردن در آب سرد (Cold Water Swimming Stress) و یا CWSS+ استفاده شده است. CWSS می‌تواند موجب مهار پاسخ حیوان به محرک دردزا در تست Tail Flick شود<sup>(۵،۸)</sup>. از طرف دیگر کله سیستو کینین (CCK) نوروپیتیدی است که به طور وسیع در CNS بویژه به صورت اکتاپتیدسولفات (CCK-8) وجود دارد و به عنوان یک نوروترانسمیتر فعال در اعمال مختلف نقش دارد. پپتیدهای وابسته به آن مانند سرولین دی اتیل آمونیوم هیدرات سبب بروز اثرات فارماکولوژیک متعدد و وسیعی می‌شوند که یکی از آنها بی‌دردی است<sup>(۹)</sup>. گزارشات زیادی

مبنی بر افزایش اثر ضد درد مرفین توسط کله سیستو کینین وجود دارد<sup>(۱۰)</sup>. مطالعه‌ای که بر روی دخالت گیرنده‌های CCK بی‌دردی ناشی از استرس شناکردن در آب سرد انجام شده نشان می‌دهد که رسپتورهای نخاعی و فوق نخاعی CCK احتمالاً این نوع بی‌دردی را کاهش می‌دهند<sup>(۸)</sup>. این تحقیق به منظور ارزیابی و مقایسه میزان بی‌دردی ناشی از استرس شناکردن در آب سرد در حیوانات سالم و حیوانات مبتلا به درد نوروپاتیک، همچنین تأثیر داروهای مؤثر بر گیرنده‌های CCK روی این نوع بی‌دردی طراحی شد.

### روش بررسی

پژوهش حاضر با روش تجربی (Experimental) بر روی ۴۵۰ موش سوری سفید از جنس نر با وزن ۲۰ تا ۲۵ گرم صورت پذیرفت. حیوانات در محیطی با درجه حرارت ثابت  $22 \pm 2$  درجه سانتی گراد و نور کنترل شده (نورگیری محیط از ساعت ۷ صبح تا ۷ شب) در گروه‌های ۹ تایی در قفس‌های مخصوص نگهداری می‌شدند. حیوانات در طول نگهداری از نظر استفاده از آب و غذا (به جز در زمان انجام آزمایشات) هیچ محدودیتی نداشتند. در طول آزمایشات گاهی به دلیلی یک یا دو حیوان از گروه‌های ۹ تایی حذف شده و در نتیجه در کل آزمایشات حداقل پاسخ ۷ حیوان در هر گروه محاسبه گردیده است. روی هر حیوان فقط یک آزمایش به عمل می‌آمد و حیوانات پس از اتمام آزمایش‌ها در همان روز کشته می‌شدند.

**روش جراحی برای گره زدن عصب سیاتیک (Sciatic Nerve Ligation):** قبل از انجام جراحی حیوانات توسط داروی تیوپنتال سدیم با دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (داخل صفاقی) بیهوش می‌شدند و سپس یک جراحی یک طرفه (طرف راست) بر اساس روش Seltzer<sup>(۱۱)</sup> روی آنها صورت می‌گرفت. تحت بیهوشی، عصب سیاتیک سمت راست حیوان با برشی که روی پوست و سپس عضله داده می‌شد نمایان می‌گردید. ۲ تا ۳ میلی‌متر از طول عصب را با دقت، کاملاً از بافت اطراف مجزا نموده و توسط یک میله فلزی آن را بالا نگهداشته، سپس توسط یک لیگاتور (سیم مسی نازک) دور

عنوان ضریب بی‌دردی (Analgesia Index) به عنوان پاسخ محسوب شده است. طرز محاسبه ضریب بی‌دردی به این صورت می‌باشد:

$$\%AI = \frac{\text{Latency after drug} - \text{Base Line}}{\text{Maximum Latency (40s)} - \text{Base Line}}$$

در واقع با این روش اختلافات ذاتی حیوانات در دادن پاسخ تا حدودی حذف گردیده و دقت آماری افزایش می‌یابد.

**داروها:** در این مطالعه از داروهای تیوپنتال سدیم (جهت ایجاد بیهوشی)، سرولتاید دی اتیل آمونیوم هیدرات یا سرولتین (Farmitalia, Italy) به عنوان آگونیست گیرنده‌های CCK و پروگلواماید (Sigma, USA) به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های CCK استفاده شد.

سرولتین در محلول ۰.۵٪ مولار بی‌کربنات حل می‌گردید و بقیه داروها در نرمال سالین حل می‌شدند. همه تزریقات به صورت داخل صفاقی (Intra Peritoneal) انجام شدند. داروها در حجمی مناسب برای تزریق در موش (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم) تهیه می‌شدند و در آزمایشات همان روز استفاده شده و بقیه دور ریخته می‌شد.

**روش کار:** در سری اول آزمایشات جمعاً ۱۰ گروه ۹ تایی موش در دو دسته موشهای دست نخورده (Intact) و موشهای با عصب سیاتیک گره زده (Nerve Ligated) مورد آزمایش قرار گرفتند. در هر دسته یک گروه به عنوان شاهد بدون هیچگونه استرسی مورد مطالعه قرار گرفت و در هر دسته چهار گروه به عنوان تست برای دریافت استرس، به ترتیب به مدت نیم، یک، دو و یا سه دقیقه در آب سرد وادار به شنا شدند در سری دوم تجربیات جمعاً ۸ گروه ۹ تایی موش در دو دسته موشهای دست نخورده و جراحی شده مورد آزمایش قرار گرفتند. در هر دسته یک گروه به عنوان شاهد تنها حلال دریافت نمود. و در هر دسته حیوان، سه گروه دوزهای مختلف سرولتین (۰.۲۵، ۰.۵، ۱ میلی گرم بر کیلوگرم) دریافت نمودند. در هر دو سری میزان بی‌دردی حیوانات توسط تست صفحه داغ در یک دوره زمانی ۶۰ دقیقه‌ای هر ۱۵ دقیقه یکبار اندازه‌گیری شد. در مرحله بعدی یعنی سری سوم و چهارم آزمایشات هر کدام جمعاً ۱۶ گروه ۹ تایی موش در

عصب دوبار گره زده می‌شد به طوری که کاملاً با عصب مماس بوده و عصب تحت فشار باشد اما قطع نگردد، در غیر این صورت دیگر موش برای آزمایش مناسب نیست. بعد از به هوش آمدن، حیوانات در همان قفس‌ها نگهداری شده و پس از دو هفته که جای عمل کاملاً ترمیم گردیده است، دقیقاً در روز چهاردهم پس از جراحی، آزمایشات و تزریقات بر روی موشها انجام می‌گرفت.

**روش اعمال استرس (CWSS):** در این تحقیق برای اعمال استرس از وادار کردن حیوان به شناکردن در آب سرد ۴ درجه سانتی‌گراد برای دوره‌های زمانی ۵، ۱، ۲ و ۳ دقیقه استفاده شد. ظرفی که برای این منظور انتخاب شد از جنس پلکسی گلاس، دارای ابعاد ۲۰ و ۳۰ سانتی‌متر بود که درون ظرف آب با عمق ۱۱ سانتی‌متر ریخته می‌شد. بعد از شناکردن، موشها با یک پارچه یا حوله، خشک می‌شدند. در بعضی از آزمایشات به تناسب حیوانات تنها ۵ دقیقه وادار به شنا در آب شدند.

**روش سنجش بی‌دردی (Analgesia Assessment):** حساسیت به درد با آزمایش صفحه داغ (Hot Plate) بر اساس متد Eddy Leimbach<sup>(۱۲)</sup> اندازه‌گیری می‌شد. این دستگاه یک صفحه فلزی (۱۹×۲۰ سانتی‌متر) که حرارت آن روی ۲/۵۵± درجه سانتی‌گراد تنظیم شده که توسط دیواره‌های شفاف پلکسی گلاس با ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر محصور گردیده است. دستگاه مجهز به زمان‌سنج (Timer) و ترموکوبل برای داشتن حرارت ثابت می‌باشد حیوان را بر روی صفحه فلزی قرار داده و زمان سنجی می‌گردد. لیسیدن (Licking) پاهای جلو یا بالابردن پاهای عقب یا پریدن از روی صفحه (Jumping) ملاک عمل برای نقطه پایان و زمان پاسخ موش‌ها می‌باشد و اگر هیچ پاسخی مشاهده نگردد، حداکثر زمان یا Cut off (۴۰ ثانیه) به عنوان خاتمه عمل در نظر گرفته می‌شود. روی هر موش ۵ بار آزمایش درد به عمل می‌آمد. به این صورت که ابتدا یک بار قبل از هرگونه تزریق برای به دست آوردن Base Line، سپس چهار بار در یک دوره یک ساعتی زمانهای ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه پس از انجام آخرین تزریق یا اعمال استرس میزان Latency بی‌دردی اندازه‌گیری می‌شد. در رسم نمودارها و محاسبات آماری معیار خاصی با

دو دسته موشهای دست نخورده و موشهای با عصب سیاتیک گره زده مورد آزمایش قرار گرفتند. در سری سوم در ۸ گروه اول در هر دو دسته ابتدا یک گروه حلال و سه گروه دوزهای مختلف سروئین (۰/۲۵، ۰/۵، ۱/۱ میلی گرم بر کیلوگرم) دریافت نمودند و مجدداً همین آزمایش در ۸ گروه بعدی توسط همان داروها با همان مقادیر نیم ساعت قبل از وادار کردن حیوان به شناکردن در آب سرد ۴ درجه سانتی گراد به مدت نیم دقیقه (CWSS) تکرار شد. در سری چهارم در هر دو نوع حیوانات، ابتدا یک گروه به عنوان شاهد، حلال و یک گروه سروئین با دوز ۰/۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم، سه گروه پروگلواماید با مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم و سه گروه پروگلواماید را با همان مقادیر ۵ دقیقه قبل از سروئین ۰/۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت نمودند. سپس ۳۰ دقیقه پس از تزریق داروها همه گروهها به مدت نیم دقیقه در آب سرد ۴ درجه شناکردند. در این دو سری هم بی‌دردی حیوانات یکبار قبل از هرگونه تزریق و ۴ بار بعد از آخرین تزریق یا استرس در یک دوره زمانی ۶۰ دقیقه‌ای، هر ۱۵ دقیقه یکبار با روش صفحه داغ سنجیده شد اما در محاسبات آماری و رسم نمودارها به دلیل تعداد گروهها فقط ضریب بی‌دردی مربوط به زمان ۳۰ دقیقه (که بهترین زمان برای گرفتن پاسخ می‌باشد) به عنوان پاسخ اصلی پس از استرس لحاظ گردید.

**آنالیز داده‌ها:** محاسبات آماری داده‌ها بصورت Mean+SEM گروههای حیوانی ارائه شده است. تست ANOVA دو طرفه یا سه طرفه (Two-way or Three-way ANOVA) با روش Newman-Keuls test برای سنجش معنی دار بودن نتایج به کار رفت اختلاف‌های با  $p < 0/05$  معنی دار تلقی گردید.

## نتایج

نمودار (۱) بی‌دردی بوجود آمده توسط استرس شناکردن در آب سرد در موشهای دست نخورده و موشهای با عصب سیاتیک گره زده را نشان می‌دهد. پاسخ حیوانات با زمانی که استرس در کار نبوده است مقایسه شده است. تست ANOVA سه طرفه نشان داد که Time Course اثرات رژیم‌های مختلف

استرس (طول مدت ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ دقیقه) در موشهای دست نخورده و موشهای با عصب سیاتیک گره زده اختلاف معنی داری دارد ( $p < 0/0001$ ). تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که CWSS ایجاد بی‌دردی واضح می‌نماید ( $p < 0/0001$ ) و ضمناً پاسخ بی‌دردی حیوانات در دو گروه جراحی شده با جراحی نشده اختلاف معنی داری را نشان نمی‌دهد به عبارت دیگر گره زدن بر روی عصب سیاتیک تأثیر معنی داری بر پاسخ بی‌دردی ناشی از استرس شناکردن در آب سرد ندارد ( $p > 0/05$ ). همچنین بی‌دردی ناشی از استرس وابسته به مدت زمان شناکردن بود یعنی حداقل پاسخ را در موش‌هایی که ۰/۵ دقیقه و حداکثر پاسخ را در موش‌هایی که ۳ دقیقه وادار به شنا شده بودند داشتیم. مدت زمان ۰/۵ دقیقه برای آزمایشات بعدی انتخاب شد. در مورد اثر ضد درد، سروئین توانست در هر دو گروه بی‌دردی ایجاد نماید. تست ANOVA سه طرفه نشان داد که Time Course پاسخ ناشی از مقادیر مختلف سروئین (۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی گرم بر کیلوگرم) در موشهای دست نخورده و جراحی شده اختلاف معنی داری ندارد و همچنین بی‌دردی ناشی از این دارو در هر دو گروه به صورت وابسته به دوز می‌باشد ( $p < 0/0001$ ) و گره زدن بر روی عصب سیاتیک تغییر معنی داری در پاسخ به داروی سروئین در روش صفحه داغ به وجود نیاورد (نمودار ۲).

اثر استرس ناشی از شناکردن در آب سرد روی بی‌دردی ناشی از تزریق سروئین در نمودار (۳) نشان داده شده است. تست ANOVA دو طرفه نشان داد یک اختلاف معنی دار بین اثر ضد درد ناشی از مقادیر مختلف سروئین (۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی گرم بر کیلوگرم) در حضور و عدم حضور استرس در موشهای دست نخورده و در موشهای با عصب سیاتیک گره زده وجود دارد ( $p < 0/0001$ ). محاسبات بعدی نشان داد استرس شناکردن در آب سرد پاسخ بی‌دردی ناشی از سروئین را افزایش داده است. همچنین سروئین اثر ضد درد را هم در گروه دست نخورده ( $p < 0/0001$ ) و هم در گروه حیوانات با عصب سیاتیک گره زده ( $p < 0/05$ ) القا می‌کند اما این دارو نتوانست پاسخ بی‌دردی ناشی از استرس شناکردن در آب سرد را نه در گروه موشهای دست نخورده و نه در گروه موش‌های جراحی شده به

پروگلوماید را در موشهای استرس دیده دست نخورده نشان نداد. همچنین نشان داده شد یک اختلاف معنی دار بین پاسخ داروها در موشهای جراحی شده وجود دارد ( $p < 0/0001$ ) محاسبات بعدی نشان داد سرولئین و پروگلوماید به خودی خود ایجاد بی‌دردی می‌نمایند اما نه سرولئین و نه پروگلوماید باعث تقویت بی‌دردی ناشی از استرس در هیچیک از حیوانات نمی‌شوند.

طور معنی‌داری تقویت‌کنند ( $p > 0/05$ )، (نمودار ۴). اثرات سرولئین، پروگلوماید و سرولئین توأم با پروگلوماید در حیوانات استرس دیده را در هر دو گروه جراحی نشده و جراحی شده نشان می‌دهد. تست ANOVA دو طرفه اختلاف معنی‌داری را بین پاسخ سرولئین (۰/۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، پروگلوماید (۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و سرولئین توأم با

نمودار ۱: میزان بی‌دردی ناشی از استرس شناکردن در آب سرد در حیوانات دست نخورده و جراحی شده در روش صفحه داغ

نمودار ۲: میزان بی‌دردی ناشی از مقادیر مختلف سرولئین در حیوانات دست نخورده و جراحی شده در روش صفحه داغ

نمودار ۳: اثر سروئین روی بی‌دردی ناشی از استرس شناکردن در آب سرد در حیوانات دست نخورده و جراحی شده در روش صفحه داغ

نمودار ۴- اثر سروئین و پروگلوامید به تنهایی و بصورت توام با هم بر روی بی‌دردی ناشی از استرس در حیوانات دست نخورده و جراحی شده در روش صفحه داغ

### بحث

بی‌دردی در تست صفحه داغ ایجاد نماید که میزان این بی‌دردی به طول زمان شناکردن حیوان در آب سرد بستگی داشت. یعنی هر چه طول مدت زمان شناکردن در آب سرد را افزایش دادیم پاسخ بی‌دردی ناشی از استرس افزایش یافت. حداکثر پاسخ بی‌دردی را در حیواناتی که ۳ دقیقه شنا کرده بوده اندو حداقل

در مطالعه حاضر آزمایشاتی طراحی شد که در آن یک الگوی نوروپاتی حیوانی ایجاد کرده<sup>(۱۳)</sup> و پاسخهای بی‌دردی حیوانات نسبت به عوامل ذکر شده در زمینه درد نوروپاتیک بررسی گردید. وادار کردن حیوانات به شناکردن در آب سرد ۴ درجه توانست یک پاسخ قابل توجه و معنی‌دار در زمینه

بی‌دردی که خود میزان قابل توجهی از آنالژی و قابل مقایسه با مؤثرترین داروهای ضد درد بود را در حیواناتی که ۰/۵ دقیقه شنا کرده بودند داشتیم. برای آزمایشات بعدی که اثر آگونیست و آنتاگونیستهای CCK روی میزان بی‌دردی ناشی از استرس باید سنجیده می‌شد همه موشها به میزان نیم دقیقه وادار به شنا کردن در آب سرد شدند زیرا در دقایق بیشتر بی‌دردی به حدی بود که امکان سنجش و مقایسه بین کم و زیاد شدن آن توسط دارو وجود نداشت. در این مطالعه این بی‌دردی در هر دو گروه حیوانات دست نخورده و حیوانات با عصب سیاتیک گره زده دیده شد و گره زدن بر روی عصب سیاتیک باعث کاهش پاسخ بی‌دردی حیوان نشد این در حالی است که در مطالعات قبلی گره زدن روی عصب سیاتیک بطور واضح بی‌دردی ناشی از داروهای ضد درد بخصوص اویپوئیدها را کاهش می‌دهد<sup>(۱۴)</sup> که حاکی از عدم کارآیی اویپوئیدها در درد نوروپاتیک بود. در واقع می‌توان چنین حدس زد که هیپرالژی نوروپاتیک ناشی از تحت فشار قرار گرفتن عصب نمی‌تواند پاسخ بی‌دردی حیوان را نسبت به استرس کاهش دهد که نشانگر اختلاف مکانیسم ایجاد بی‌دردی در این روش با اویپوئیدها می‌باشد و احتمالاً مکانیزم‌های پیچیده‌ای در این امر دخالت دارند. شواهدی وجود دارد که ثابت می‌کند تحریک گیرنده‌های دلتای اویپوئیدی فوق نخاعی در ایجاد بی‌دردی ناشی از استرس نقش دارد<sup>(۸،۱۵)</sup>. به هر حال احتمال درگیری رسپتورهای CCK و اویپوئیدی هر دو با هم در بی‌دردی ناشی از استرس بسیار زیاد است. مطالعات دیگری مبنی بر اینکه سایر مکانیسم‌ها از قبیل سیستم NMDA نیز در بی‌دردی ناشی از مرفین و بی‌دردی ناشی از استرس نقش ایفا می‌کند وجود دارد. همچنین دیده شده این بی‌دردی توسط آنتاگونیستهای این سیستم آنتاگونیزه می‌شود<sup>(۱۵)</sup>. ضمناً در مطالعه دیگری از تولرانس به بی‌دردی ناشی از استرس توسط شنا کردن در آب ۳۲ درجه با تزریقات MK801 جلوگیری شده که حاکی از دخالت این سیستم در مکانیسم‌های تولرانس به بی‌دردی ناشی از استرس می‌باشد<sup>(۷)</sup>. در مطالعه‌ای که توسط پاول انجام گردید مشخص شد که داروهای مؤثر بر سیستم هیستامینرژیک مانند L-هیستیدین باعث تعدیل بی‌دردی ناشی از

استرس می‌شوند که این پدیده توسط آنتی‌هیستامین‌ها مانند کلرفنیرامین آنتاگونیزه می‌شود<sup>(۱۶)</sup>. کله سیستم کینین (CCK)، یک نوروپپتید مهم در مغز می‌باشد که بطور وسیعی در سیستم اعصاب مرکزی منتشر است و به ویژه به شکل CCK اکتاپپتید سولفات‌ها دارای نقش‌های مهمی در CNS می‌باشد<sup>(۹)</sup>. عملکرد CCK حداقل از دو جایگاه اتصال توسط دو نوع گیرنده که آنها را CCK-A و CCK-B می‌نامند انجام می‌گیرد<sup>(۱۷)</sup>. گزارشات زیادی مبنی بر نقش CCK در میزان بی‌دردی، تحمل و یا وابستگی به اویپوئیدها وجود دارد<sup>(۱۹،۱۸)</sup>. نتایج حاضر نشان داد که سرولین یک بی‌دردی وابسته به دوز ایجاد می‌کند که موید مطالعات قبلی می‌باشد. پاسخ به دارو در موشهای با عصب سیاتیک گره زده در مقایسه با حیوانات دست نخورده تفاوت معنی‌داری نشان نداد به این معنی که پاسخ به این داروها در دردهای نوروپاتیک کاهش نمی‌یابد. در مطالعه دیگری دیده شد در حیوانات سالم در حضور CCK مهار پاسخ دردزا کاهش می‌یابد در حالی که این پدیده در حیوانات جراحی شده و دچار درد نوروپاتیک معکوس می‌باشد و بی‌دردی دیده می‌شود<sup>(۲۰)</sup>. تحقیق مشابهی نشان داد دردهای نوروپاتیک متعاقب صدمه به سیستم عصبی که به اویپوئیدها بخوبی پاسخ نمی‌دهند به دلیل افزایش فعالیت سیستم CCK ارژیک اندوژن می‌باشد. همچنین آنتاگونیستهای این سیستم ممکن است بصورت توأم با اویپوئیدها در تسکین اینگونه دردها مفید باشند<sup>(۲۱)</sup>. با توجه به اینکه گزارشات زیادی مبنی بر کاهش پاسخ به داروهای ضد درد اویپوئیدی در اینگونه دردها دیده می‌شود نتایج این مطالعه می‌تواند به این تصور منجر گردد که این داروها در دردهای نوروپاتیک مفید خواهند بود. در ارتباط با نقش CCK روی بی‌دردی ناشی از استرس شنا کردن در آب سرد در مطالعه‌ای که توسط Suih و همکاران در سال ۱۹۹۶ انجام گردید، چنین نتیجه‌گیری شد که رسپتورهای نخاعی و فوق نخاعی CCK احتمالاً بطور فعالی بی‌دردی ناشی از استرس را آنتاگونیزه می‌کنند<sup>(۸)</sup>. در تجربیات ما سرولین توانست در موشهای استرس دیده پاسخ بی‌دردی ایجاد کند و این بی‌دردی مختصری از بی‌دردی ناشی از استرس تنها بیشتر بود ولی سرولین

آزمایشات، پروگلواماید جلو اثرات سرولئین را نگرفت و با هم تداخلی نداشتند. این نتیجه حاکی از پیچیدگی مکانیسم‌های مربوطه می‌باشد که می‌توان به احتمال وجود رسپتورهای پیش سیناپسی و احتمال تحریک و افزایش ریلیز نوروترانسمیتر اشاره نمود. تحقیق دیگری در همین رابطه منجر به یک طراحی نو برای درمان درد توسط لیگاند‌های پپتیدی جدیدی که دارای اثر آگونیستی روی گیرنده‌های اوپیوئیدی و اثر آنتاگونیستی روی گیرنده‌های CCK می‌باشند شده است<sup>(۲۲)</sup>. با توجه به نتایج ما در این مطالعه CWSS (استرس) می‌تواند به عنوان یک جانشین برای دارو درمانی دردهای نوروپاتیک بخصوص ترکیبات اوپیوئیدی مطرح باشد. بدیهی است برای روشن شدن این مکانیسم‌های پیچیده لازم است مطالعات زیادی طراحی و انجام شود و اثبات این ادعا تحقیقات پایه و بالینی زیادی را می‌طلبد.

بی‌دردی ناشی از استرس را بطور معنی‌داری در هیچیک از دو گروه موشهای دست نخورده و موشهای با عصب سیاتیک گره زده افزایش نداد که این نتیجه موید مطالعات قبلی مبنی بر عدم تقویت بی‌دردی ناشی از استرس توسط گیرنده‌های CCK می‌باشد. اما این در حالی است که در تحقیق حاضر بر خلاف بعضی مطالعات دیگر سرولئین بی‌دردی ناشی از استرس را به هیچ وجه کاهش نداده است. در آزمایشات بعدی پروگلواماید و سرولئین به تنهایی و همراه با هم در موشهای استرس دیده بکار گرفته شدند ولی درد در حیوانات هر دو دسته سالم و جراحی شده توسط هر دو دارو دیده نشد که البته این بی‌دردی نسبت به زمانی که این داروها بدون اعمال استرس در حیوانات تزریق شده بودند بیشتر بود که می‌توان دلیل آن را اثر آنالژزیک واضح استرس شناکردن در آب سرد ذکر نمود اما در هیچیک از

## References

- 1- Foley KM . *Clinical tolerance to opioids*. Bashaum A I & Besson J M (Eds), Towards a New Pharmacology of Pain. John Wiley, Chicester, 1991; 181-204.
- 2- Mao J , Price DD , Mayer DJ . *Experimental mononeuropathy reduces the antinociceptive effects of morphine: implications for common intracellular mechanisms involved in morphine tolerance and neuropathic pain*. Pain. 1995; 61: 353-364.
- 3- Ossipov MH , Nichols ML , Bian D, Porreca F. *Inhibition by spinal morphine of the tail-flick response is attenuated in rats with nerve ligation injury*. Neurosci. Lett. 1995; 199: 1-4.
- 4- Zhang LX , Wang XL , Han JS. *Rats with decreased brain cholecystinin levels show increased responsiveness to peripheral electrical stimulation – induced analgesia*. Brain Res. 1997; 745: 158-164.
- 5- Killian P , Holmes BB , Takemori PS. *Portoghese PS, Fujimoto JM. Cold water swim stress and delta-2 opioid induced analgesia are*



- modulated by spinal amino butyric acid receptors.* J. Pharmacol. Exp. Ther. 1995; 274: 730-734.
- 6- Zarrindast MR , Sabetkasai M , Stress- induced antinociception and GABAergic mechanism. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.1992; 38: 5-12.
- 7- Vaccarino AL,Clavier MC.*Blockade of tolerance to stress-induced analgesia by MK-801 in mice.* Pharmacol. Biochem. Behav.1997;56: 435-439.
- 8- Suh HW , Song DK , Kwon SH , Kim KW , Min BH , Kim YH . *Involvement of supraspinal and spinal CCK receptors in the modulation of antinociception induced by cold water swimming stress in the mouse.* Neuropeptides. 1996; 30: 379-384.
- 9- Faris PL , Komisaruk BR , Watkins LR , Mayer DA. *Evidence for the neuropeptide cholecystinin as an antagonist of opiate analgesia.* Science. 1983; 219: 310-312.
- 10- Lavigne GJ , Millington WR , Mueller GP. *The CCK-A and CCK-B receptor antagonists, Devazepide and L-365,260, enhance morphine antinociception in non-acclimated rats exposed to a novel environment.* Neuropeptides. 1992; 21: 119-129.
- 11- Seltzer Z , Dubner R, Shir Y. *A novel behavioural model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury in rats.* Pain. 1990; 43: 205-218.
- 12- Eddy NB , Leimbach D. *Synthetic analgesics. II. Dithienylbutyl and dithienylbutylamines.* J. Pharmacol. Exp. Ther. 1953; 107: 385-393.
- 13- Malmberg AB , Basbaum AL . *Partial sciatic nerve injury in the mouse as a model of neuropathic pain: behavioral and neuroanatomical correlates.* Pain. 1998;76: 215-222.
- 14- Zarrindast MR , Samiee F , Rezayat M. *Antinociceptive effect of intracerebroventricular administration of cholecystinin receptor agonist and antagonist in nerve-ligated mice.* Pharmacolo. Toxicol. 2000; 87: 169-173.
- 15- Jacquet YF . *The NMDA receptor. Role in pain inhibition in rat periaqueductal gray.* Eur. J. Pharmacol. 1988; 154: 271-276.
- 16- Paul VN , Chopra K , Kulkarni SK. *Histaminergic modulation of stress-induced analgesia and cognitive dysfunction.* Methods Find Exp Clin Pharmacol.2002 ; 24(7) : 413-419.
- 17- Moran TH , Robinson PH , Goldrich MS, McHugh PR. *Two brain cholecystinin receptors: Implications for behavioral actions.* Brain Res. 1986; 362: 175-179.
- 18- Zarrindast MR , Rezayat M. *Caerulein changes morphine-induced analgesia depending on pretreatment times.* Gen. Pharmacol. 1994; 25: 311-316.
- 19- Zarrindast MR , Malekzadeh A , Rezayat M , Ghazi-Khansari M. *Effects of cholecystinin receptor agonist and antagonists on morphine dependence in mice.* Pharmacolo. Toxicol. 1995; 77: 360-364.
- 20- Maie IA , Dickenson AH . *Cholecystinin fails to block the spinal inhibitory effects of nociception in sham operated and neuropathic rats.* Eur J Pharmacol. 2004; 484(2-3): 235-240.
- 21- Wiesenfeld Z , Xu , XJ. Hokfelt T. *The role of spinal cholecystinin in chronic pain states.* Pharmacol Toxicol. 2002; 91(6): 398-403.
- 22- Hruby VJ , Agnes RS , Davis P , Ma, SW. Lee YS , Vanderah TW , Lai J , Porreca F. *Design of novel peptide ligands which have opioid agonist activity and CCK antagonist activity for the treatment of pain.* Life Sci.2003;73(6): 699-704.