

بررسی اثر ضد درد استرس به تنهایی یا در حضور آناتاگونیست و آناتاگونیست

گیرنده‌های CCK در درد نوروپاتیک به روش صفحه داغ در موش سوری

دکتر اعظم مصدقی نیا^۱، دکتر فرزانه سمیعی^۲

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 سرولئین (آناتاگونیست CCK) و پروگلوماید (آناتاگونیست 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، ۰ 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. سرولئین با مقدار ۰/۰۲۵ و ۰/۰۵ میلی گرم بر کیلو گرم در هر دو گروه بی‌دردی ایجاد نمود. در مشاهای استرس دیده با تجویز سرولئین و مقدار مختلف پروگلوماید (۰/۰۶، ۰/۰۴ و ۰/۰۲ میلی گرم بر کیلو گرم) به تنهایی و توأم با هم بی‌دردی دیده شد. پاسخ سرولئین توسط پروگلوماید مهار نشد. هیچ یک از داروها 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

عصب سیاتیک می‌تواند منجر به هیپرآلرژی 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 آلودگی (Allodynia) می‌باشد^(۱). برای

آسیب به یک عصب محیطی مانند تحت فشار قرار گرفتن

- استادیار گروه فارماکولوژی
- استادیار گروه فیزیولوژی
- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کاشان
- دانشگاه آزاد اسلامی تهران - واحد علوم و تحقیقات

مبنی بر افزایش اثر ضد درد مر芬ین توسط کله سیستوکینین وجود دارد^(۱۰). مطالعه‌ای که برروی دخالت گیرنده‌های CCK در 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^(۸). 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 بورسی

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 ۲۲±۲ درجه سانتی گراد و نور کنترل شده (نورگیری محیط از ساعت ۷ صبح تا ۷ شب) در گروههای ۹ تایی در قفسه‌های 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 تیوپتال سدیم با دوز ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم (داخل صفاقی) بیهوش می‌شدند و سپس یک جراحی یک طرفه (طرف راست) بر اساس روش Seltzer^(۱۱) 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 دقیقت، کاملاً از بافت اطراف جدا نموده و توسط یک میله فلزی آن را بالا نگهداشت، سپس توسط یک لیگاتور (سیم مسی نازک) دور

ایجاد مدل مناسب درد نوروپاتیک در حیوانات آزمایشگاهی و مطالعه مکانیسم‌های دخیل در آن از نوعی جراحی و گره‌زنی روی عصب سیاتیک که باعث می‌شود آن عصب تحت فشار فرار گیرد استفاده می‌شود^(۳,۲). 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^(۴). این بی‌دردی با نالوکسون آنتاگونیزه می‌شود که مبنی دخالت گیرنده‌های اوپیوئیدی در این پاسخ است^(۴).

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 اختراب در پیشرفت بی‌دردی ناشی از استرس است^(۵). در تحقیقات دیگری از وادار کردن حیوان به شناکردن در آب به عنوان ابزار استرس استفاده شد و گزارشاتی مبنی بر دخالت سیستم گاباارژیک در این نوع بی‌دردی وجود دارد^(۶). 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^(۷). 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^(۸,۵). از طرف دیگر کله سیستوکینین (CCK) نوروپیتیدی است که به طور وسیع در CNS بویژه به صورت اکتاپتیدسولفاته (CCK-8) وجود دارد و به عنوان یک نوروترانسミتر فعال در اعمال مختلف نقش دارد. پیتیدهای وابسته به آن مانند سرولین دی اتیل آمونیوم هیدرات سبب بروز اثرات فارماکولوژیک متعدد و وسیعی می‌شوند که یکی از آنها بی‌دردی است^(۹). گزارشات زیادی

عنوان ضریب بی دردی (Analgesia Index) به عنوان پاسخ محسوب شده است. طرز محاسبه ضریب بی دردی به این صورت می باشد:

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

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

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

سرولئین در محلول ۰.۵٪ مولار بی کربنات حل می گردید و بقیه داروها در نرمال سالین حل می شدند. همه تزریقات به صورت داخل صفاقی (Intra Peritoneal) انجام شدند. داروها در حجمی مناسب برای تزریق در موش (۱۰ میلی لیتر بر کیلو گرم) تهیه می شدند و در آزمایشات همان روز استفاده شده و بقیه دور ریخته می شد.

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 وادرار به شنا شدن در سری دوم تجربیات جمعاً ۸ گروه ۹ تایی موش در دو دسته موشهای دست نخورده و چهاری شده مورد آزمایش قرار گرفتند. در هر دسته یک گروه به عنوان شاهد تنها حلال دریافت نمود. در هر دسته حیوان، سه گروه دوزهای مختلف سرولئین (۰.۲۵٪، ۰.۵٪ و ۱٪ میلی گرم بر کیلو گرم) دریافت نمودند. در هر دو سری میزان بی دردی حیوانات توسط تست صفحه داغ در یک دوره زمانی ۶۰ دقیقه‌ای هر ۱۵ دقیقه یکبار اندازه گیری شد. در مرحله بعدی یعنی سری سوم و چهارم آزمایشات هر کدام جمعاً ۱۶ گروه ۹ تایی موش در

عصب دوبار گره زده می شد 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 قفسه‌ها 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 می گرفت.

روش اعمال استرس (CWSS): در این تحقیق برای اعمال استرس از وادرار کردن حیوان به شناکردن در آب سرد ۴ درجه سانتی گراد برای دوره های زمانی ۰.۵، ۱، ۲ و ۳ دقیقه استفاده شد. ظرفی که برای این منظور انتخاب شد از جنس پلکسی گلاس، دارای ابعاد ۲۰ و ۳۰ سانتی متر بود که درون ظرف آب با عمق ۱۱ سانتی متر ریخته می شد. بعد از شناکردن، موشها با یک پارچه یا حوله، خشک می شدند. در بعضی از آزمایشات به تناسب حیوانات تنها ۰.۵٪ دقیقه وادرار به شنا در آب شدند.

روش سنجش بی دردی (Analgesia Assesment): حساسیت به درد با آزمایش صفحه داغ (Hot Plate) بر اساس متod Eddy Leimbach^(۱۲) (اندازه گیری می شد. این دستگاه یک صفحه فلزی (۱۹×۲۰ سانتی متر) که حرارت آن روی ۰.۲/۵۵ درجه سانتی گراد تنظیم شده که توسط دیواره‌های شفاف پلکسی گلاس با ارتفاع ۱۲ سانتی متر محصور گردیده است. دستگاه مجهر به زمان سنج (Timer) و ترموکوبل برای داشتن حرارت ثابت می باشد حیوان را بر روی صفحه فلزی قرار داده و زمان سنجی می گردد. لیسیدن (Licking) پاهای جلو یا بالا بردن پاهای عقب یا پریدن از روی صفحه (Jumping) (ملاک عمل برای نقطه پایان و زمان پاسخ موش‌ها می باشد و اگر هیچ پاسخی مشاهده نگردد، حداقل زمان یا Cut off (۴۰ ثانیه) به عنوان خاتمه عمل در نظر گرفته می شود. روی هر موش ۵ بار آزمایش درد به عمل می آمد. به این صورت که ابتدا یک بار قبل از هر گونه 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 بی دردی اندازه گیری می شد. در رسم نمودارها و محاسبات آماری معیار خاصی با

استرس (طول مدت ۵/۰، ۱، ۰/۵ 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 بی دردی واضح می‌نماید ($p < 0.0001$) و ضمناً پاسخ بی دردی 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 بی دردی ناشی از استرس شناکردن در آب سرد ندارد ($p > 0.05$). همچنین بی دردی ناشی از استرس وابسته به مدت زمان شناکردن بود یعنی حداقل پاسخ را در موش‌هایی که $0/5$ دقیقه و حداقل پاسخ را در موش‌هایی که 3 دقیقه وادار به شنا شده بودند داشتیم. مدت زمان 5 دقیقه برای آزمایشات بعدی انتخاب شد. در مورد اثر ضددرد، سرولئین توانست در هر دو گروه بی دردی ایجاد نماید. تست ANOVA سه طرفه نشان داد که TimeCourse پاسخ ناشی از مقادیر مختلف سرولئین ($0/025$ ، $0/005$ و $0/0001$ میلی گرم بر کیلو گرم) در موش‌های دست نخورده و جراحی شده اختلاف معنی داری ندارد و همچنین بی دردی 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 سرولئین در روش صفحه داغ به وجود نیاورد (نمودار ۲).

اثر استرس ناشی از شناکردن در آب سرد روی بی دردی ناشی از تزریق سرولئین در نمودار (۳) نشان داده شده است. تست ANOVA دو طرفه نشان داد یک اختلاف معنی دار بین اثر ضددرد ناشی از مقادیر مختلف سرولئین ($0/025$ ، $0/005$ و $0/0001$ میلی گرم بر کیلو گرم) 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 بی دردی ناشی از سرولئین را افزایش داده است. همچنین سرولئین اثر ضددرد 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 بی دردی ناشی از استرس شناکردن در آب سرد رانه در گروه موش‌های دست نخورده و نه در گروه موش‌های جراحی شده به

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 سرولئین ($0/025$ ، $0/005$ و $0/0001$ میلی گرم بر کیلو گرم) 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 4 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 سرولئین با $0/005$ میلی گرم بر کیلو گرم، سه گروه پروگلوماید با مقادیر 20 ، 40 و 60 میلی گرم بر کیلو گرم و سه گروه پروگلوماید را با همان مقادیر 5 دقیقه قبل از سرولئین $0/005$ میلی گرم بر کیلو گرم دریافت نمودند. سپس 30 دقیقه پس از تزریق داروها همه گروهها به مدت نیم دقیقه در آب سرد 4 درجه شناکرden. در این دو سری هم بی دردی حیوانات یکبار قبل از هر گونه تزریق و 4 بار بعد از آخرین تزریق یا استرس در یک دوره زمانی 60 دقیقه‌ای، هر 15 دقیقه یکبار با روش صفحه داغ سنجیده شد اما در محاسبات آماری و رسم نمودارها به دلیل تعداد گروهها فقط ضریب بی دردی مربوط به زمان 30 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 ارایه 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) بی دردی 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 اثرات رژیم‌های مختلف Time Course

پروگلوماید را در موشهای استرس دیده دست نخورده نشان نداد. همچنین نشان داده شد یک اختلاف معنی‌دار بین پاسخ داروها در موشهای جراحی شده وجود دارد ($p < 0.001$) 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 تقویت کند ($p < 0.05$ ، 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 (0.05 میلی‌گرم بر کیلوگرم)، پروگلوماید (20 و 40 میلی‌گرم بر کیلوگرم) و سرولئین توام 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 سرولئین روی بی‌دردی ناشی از استرس شناکردن در آب سرد در حیوانات دست نخورده و جراحی شده در روش صفحه داغ

نمودار ۴- اثر سرولئین و بروگلوماید به تنهایی و بصورت توازن 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. حداقل پاسخ بی‌دردی را در حیواناتی که ۳ دقیقه شنا کرده بوده اندو حداقل ۴ درجه توانست یک پاسخ قابل توجه و معنی‌دار در زمینه

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

استرس می‌شوند که این پدیده توسط آنتی هیستامین‌ها مانند کلرفیرامین آنتاگونیزه می‌شود.^(۱۶)

کله سیستوکینین (CCK)، یک نوروپپتید مهم در مغز می‌باشد که بطور وسیعی در سیستم اعصاب مرکزی منشر است و به ویژه به شکل CCK اکتاپپتید سولفاته دارای نقش‌های مهمی در CNS می‌باشد.^(۹) عملکرد CCK حداقل از دو جایگاه اتصال توسط دو نوع گیرنده که آنها را A-CCK-A و B-CCK-B می‌نامند انجام می‌گیرد.^(۱۷) گزارشات زیادی مبنی بر نقش CCK در میزان بی‌دردی، تحمل و یا واپستگی به اپیوئیدها وجود دارد.^(۱۸) نتایج حاضر نشان داد که سروولئین یک بی‌دردی واپسته به دوز ایجاد می‌کند که موید مطالعات قبلی می‌باشد. پاسخ به دارو در مشاهی با عصب سیاتیک گره زده در مقایسه با حیوانات دست نخورده تقاضت معنی داری 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.^(۲۰) تحقیق مشابهی نشان داد دردهای نوروپاتیک متعاقب صدمه به سیستم عصبی که به اپیوئیدها بخوبی پاسخ نمی‌دهند به دلیل افزایش فعالیت سیستم CCK ارجیک اندوژن می‌باشد. همچنین آنتاگونیستهای این سیستم ممکن است بصورت توماً با اپیوئیدها در تسکین اینگونه دردها مفید باشند.^(۲۱) با توجه به اینکه گزارشات زیادی مبنی بر کاهش پاسخ به داروهای ضد درد اپیوئیدای 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 شناکردن در آب سرد در مطالعه‌ای که توسط Suh و همکاران در سال ۱۹۹۶ انجام گردید، چنین نتیجه گیری شد که رسپتورهای نخاعی و فوق نخاعی CCK احتمالاً بطور فعالی بی‌دردی ناشی از استرس را آنتاگونیزه می‌کنند.^(۸) در تجربیات ما سروولئین توانست در مشاهی استرس دیده پاسخ بی‌دردی ایجاد کند و این بی‌دردی مختصراً از بی‌دردی ناشی از استرس تها بیشتر بود ولی سروولئین

بی‌دردی که خود میزان قابل توجهی از آنالژزی 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 آنتاگونیست و آنتاگونیستهای CCK روی میزان بی‌دردی ناشی از استرس باید سنجیده می‌شد همه موشها به میزان نیم دقیقه وادر به شناکردن در آب سرد شدن 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 اپیوئیدها را کاهش می‌دهد.^(۱۴) که حاکی از عدم کارآیی اپیوئیدها در درد نوروپاتیک بود. در واقع می‌توان چنین حدس زد که هیپرآلرژی 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 اپیوئیدها می‌باشد و احتمالاً مکانیزم‌های پیچیده‌ای در این امر دخالت دارند. شواهدی وجود دارد که ثابت می‌کند تحریک گیرنده‌های دلتای اپیوئیدی فوق نخاعی در ایجاد بی‌دردی ناشی از استرس نقش دارد.^(۸۵) به هر حال احتمال در گیری رسپتورهای CCK و اپیوئیدی هر دو با هم در بی‌دردی ناشی از استرس سیار 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.^(۱۵) ضمناً در مطالعه دیگری از تولرانس به بی‌دردی ناشی از استرس توسط شناکردن در آب ۳۲ درجه با تزریقات MK801 جلوگیری شده که حاکی از دخالت این سیستم در مکانیسم‌های تولرانس به بی‌دردی ناشی از استرس می‌باشد.^(۷) در مطالعه‌ای که توسط پاول انجام گردید مشخص شد که داروهای موثر بر سیستم هیستامینرژیک مانند L-هیستیدین باعث تعديل بی‌دردی ناشی از

آزمایشات، پروگلوماید جلو اثرات سرولین رانگرفت 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^(۲۲). 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 مولید مطالعات قبلی مبنی بر عدم تقویت بی‌دردی ناشی از استرس توسط گیرنده‌های CCK می‌باشد. اما این در حالی است که در تحقیق حاضر برخلاف بعضی مطالعات دیگر سرولین بی‌دردی ناشی از استرس را به هیچ وجه کاهش نداده است. در آزمایشات بعدی پروگلوماید و سرولین به تنهایی و همراه با هم در مoshهای استرس دیده بکار گرفته شدند ولی دردی 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 و 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, Chichester, 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 cholecystokinin levels show increased responsiveness to peripheral electrical stimulation - induced analgesia*. Brain Res. 1997; 745: 158-164.
- 5- Killian P , Holmes BB , Takemori PS. *Portoghesi 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 cholecystokinin 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 cholecystokinin 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 cholecystokinin 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 cholecystokinin receptor agonist and antagonists on morphine dependence in mice.* Pharmacolo. Toxicol. 1995; 77: 360-364.
- 20- Maie IA , Dickenson AH . *Cholecystokinin 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 cholecystokinin 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.