مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و یکم/شماره ۲۵۷/هفته سوم آذر ماه ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۴/۱۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۸/۲۰

اثر کوکایین و آنتاگونیست سروتونرژیک (سیپروهپتادین) بر ادم التهابی پای موش صحرایی

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

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: کوکایین محرک سیستم عصبی مرکزی و مهارکننده‌ی بازجذب مونوآمین‌ها می‌باشد. مونوآمین‌های سروتونین و نوراپی‌نفرین در بروز اثرات ضد التهابی و تنظیم سیستم ایمنی نقش دارند. هدف از این مطالعه بررسی اثر تجویز سیستمیک و نخاعی کوکایین (مهارکننده‌ی غیر انتخابی بازجذب مونوآمین‌ها) بر ادم التهابی پا و بررسی نقش میانجی عصبی سروتونین در سطح نخاع در بروز این اثرات بود.

روش‌ها: موش‌های صحرایی نر ویستار (۲۵۰-۲۰۰ گرم) در ۸ گروه قرار گرفتند: سالین به صورت تجویز داخل صفاقی (Intraperitoneal یا i.p)، سالین/DMSO (Dimethyl sulfoxide) (i.p)، کوکایین ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (i.p)، سالین به صورت تجویز داخل نخاعی (Intrathecal یا i.t)، سالین/DMSO (i.t)، کوکایین ۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میکروگرم (i.t)، سیپروهپتادین ۱۰ میکرولیتر در ۳۳ میکروگرم (i.t) و سیپروهپتادین ۱۰ میکرولیتر در ۳۳ میکروگرم/ کوکایین ۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میکروگرم (i.t). تزریق کف پایی فرمالین منجر به بروز التهاب گردید.

یافته‌ها: اثرات ضد التهابی کوکایین در گروه‌های کوکایین ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (i.p) ($P < ۰/۰۰۱$) و کوکایین ۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میکروگرم (i.t) ($P < ۰/۰۰۱$) محسوس بود. در گروه سیپروهپتادین ۱۰ میکرولیتر در ۳۳ میکروگرم (i.t) تأثیری روی التهاب مشاهده نشد و در گروه سیپروهپتادین ۱۰ میکرولیتر در ۳۳ میکروگرم/ کوکایین ۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میکروگرم (i.t)، بخشی از اثرات ضد التهابی کوکایین با تجویز سیپروهپتادین کاهش یافت ($P < ۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: پایانه‌های نورون‌های سروتونرژیک که از مراکز بالاتر به نخاع می‌آیند با نورون‌های موجود در سطح نخاع مانند فیبرهای آوران اولیه برهم‌کنش می‌دهند. احتمال دارد که مهار فیبرهای آوران اولیه توسط سروتونین، باعث مهار رهایش عوامل التهابی از آن‌ها و بروز اثرات ضد التهابی کوکایین شود.به نظر می‌رسد مهار گیرنده‌های سروتونین در سطح نخاع با تجویز نخاعی سیپروهپتادین بخشی از این اثرات ضد التهابی کوکایین را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: کوکایین، التهاب، سروتونین، سیپروهپتادین

ارجاع: مهدی‌نیا راهبه، فریدونی مسعود، مقیمی علی. **اثر کوکایین و آنتاگونیست سروتونرژیک (سیپروهپتادین) بر ادم التهابی پای موش صحرایی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۵۷): ۱۷۱۲-۱۷۰۳

مقدمه

کوکایین ماده‌ای غیرمجاز و روان‌گردان می‌باشد که مصرف آن مشکلات بزرگی را در سرتاسر جهان، به ویژه ایالات متحده و حتی کشور ما نیز به وجود آورده است. این ماده در حقیقت آلکالوییدی است که از برگ‌های گیاه Erythroxylom coca که بومی

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲-دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۳- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مسعود فریدونی
Email: fereidoni@um.ac.ir

آمریکای جنوبی می‌باشد، استخراج می‌شود. تاریخ مصرف گیاه کوکا به زمان‌های بسیار قدیم باز می‌گردد. شواهد نشان می‌دهند که جویدن برگ‌های این گیاه، ۵۰۰۰ سال پیش توسط سرخ پوستان در تمدن اینکاها تجربه شده است. آن‌ها از این گیاه برای کاهش گرسنگی، خستگی و به عنوان بی حس‌کننده‌ی موضعی استفاده می‌کردند (۱). کوکایین در سال ۱۸۵۵ توسط شیمیدان آلمانی به نام Friedrich Gaedcke استخراج شد و Albert Niemann اولین شخصی بود که آن را خالص و نام‌گذاری نمود (۲). این ماده، محرک سیستم عصبی مرکزی (۳)، کاهش‌دهنده‌ی اشتها (۴) و بی حس‌کننده‌ی موضعی می‌باشد (۵). همچنین به دلیل اثر بر مسیر پاداش مزولیمبیک بسیار اعتیادآور می‌باشد (۶). کوکایین باعث افزایش انرژی و هوشیاری، سر خوشی، احساس شهوت، شایستگی و اعتماد به نفس می‌شود (۷). در سیستم عصبی مرکزی، کوکایین به ناقل مونوآمین‌های (سروتونین، نوراپی‌نفرین و دوپامین) موجود بر روی غشای پیش سیناپسی متصل می‌گردد و باعث مهار فعالیت ناقل و جلوگیری از بازجذب این مونوآمین‌ها به پایانه‌ی پیش سیناپسی می‌گردد که این منجر به افزایش غلظت این میانجی‌های عصبی در فضای سیناپسی و در نتیجه تحریک بیشتر گیرنده‌های آن‌ها بر روی غشای پس سیناپسی می‌شود (۱۰-۸). مطالعات زیادی به بررسی اثرات رفتاری کوکایین و نقش مونوآمین‌ها در بروز این اثرات پرداخته‌اند. به عنوان مثال شواهد بسیاری مبنی بر شرکت سیستم سروتونین در بیش فعالی (Hyperactivity) القاشده توسط کوکایین در حیوانات و اثرات لذت‌بخش و روانی کوکایین در انسان‌ها وجود دارند (۱۱). همچنین در بعضی مطالعات به اثرات بی دردی کوکایین و نقش سیستم سروتونرژیک و گیرنده‌های سروتونین در این اثرات اشاره شده است (۱۲). مطالعات دیگر نشان داده‌اند که فعالیت در سیناپس‌های دوپامینرژیک مسؤول ایجاد بیش فعالی و تحریک مغز و نیز اثرات سرخوشی و اعتیاد به کوکایین می‌باشد (۱۳). کاهش سیگنالینگ دوپامینرژیک و سروتونرژیک بعد از مصرف مزمن کوکایین در افسردگی نقش دارد و منجر به اعتیاد و بازگشت به مصرف کوکایین می‌شود (۱۴). علاوه بر این مونوآمین‌ها نقش مهمی در جلوگیری از فرآیندهای التهابی نیز ایفا می‌کنند. به عنوان مثال بررسی‌ها نشان داده‌اند که داروهای ضد افسردگی که مهارکننده‌ی بازجذب مونوآمین‌ها نیز می‌باشند می‌توانند تولید واسطه‌های پیش التهابی، توسط سلول‌های سیستم ایمنی از جمله گلیال‌ها که منبع عمده‌ی سیتوکاین‌های التهابی در سیستم عصبی مرکزی می‌باشند را مهار کنند (۱۵). همچنین بررسی‌های دیگر نشان داده‌اند که میزان درد التهابی در مرحله‌ی دوم آزمون فرمالین که در نتیجه‌ی رهایی فاکتورهای التهابی و حساس‌سازی عصبی است با تجویز داروهای ضد افسردگی دارای فعالیت دو گانه (مهار بازجذب نوراپی‌نفرین و سروتونین) مانند آمی‌تریپتیلین و مهارکننده‌ی اختصاصی بازجذب نورآدرنالین مانند دزیپرامین (Desipramine) کاهش می‌یابد (۱۶). با توجه به نقش این مهار کننده‌های بازجذب مونوآمین‌ها در مهار فرآیندهای التهابی، می‌توان برای کوکایین (مهارکننده‌ی غیر انتخابی بازجذب مونوآمین‌ها) نیز اثرات ضد التهابی فرض نمود. مطالعه‌ی

حاضر به بررسی اثرات ضد التهابی کوکایین به طور سیستمیک و نیز در سطح نخاع پرداخت. همچنین با استفاده از آنتاگونیست گیرنده‌ی سروتونین نقش این میانجی عصبی را به عنوان نوعی مونوآمین در اثرات کوکایین بر روی التهاب را بررسی نمود.

روش‌ها

برای انجام این پژوهش از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. تمامی این موش‌ها در شرایط محیطی ۱۲ ساعت روشنایی/ ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲ ± ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد با دسترسی آزاد به آب و غذا و بدون هر گونه آلودگی صوتی در قفس‌های مخصوص Plexy glass نگهداری شدند. تمامی مراحل نگهداری در حیوان‌خانه و اجرای آزمایش‌ها در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی جانوری گروه زیست‌شناسی دانشکده‌ی علوم دانشگاه فردوسی مشهد انجام گرفت. همچنین کلیه‌ی عملیات آزمایشگاهی بین ساعت ۱۰ صبح تا ۲ بعد از ظهر با رعایت حقوق بین‌المللی اخلاق و حمایت از حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت (۱۷). جهت انجام آزمایش‌ها، موش‌های صحرایی به طور تصادفی در هشت گروه ۷تایی دریافت‌کننده‌ی سالین به صورت تجویز داخل صفاقی (Intraperitoneal یا i.p)، سالین/DMSO (Dimethyl sulfoxide) به عنوان حلال دارو (i.p)، کوکایین ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن (i.p) (۱۸)، سالین به صورت تجویز داخل نخاعی (Intrathecal یا i.t)، سالین/DMSO (i.t)، کوکایین ۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میکروگرم (i.t)، سیپروهپتادین ۱۰ میکرولیتر در ۳۳ میکروگرم (i.t) (۱۹) و سیپروهپتادین ۱۰ میکرولیتر در ۳۳ میکروگرم/ کوکایین ۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میکروگرم (i.t) دسته‌بندی شدند.

به منظور لوله‌گذاری برای تجویز داخل نخاعی حیوانات مورد عمل جراحی قرار گرفتند. ابتدا موش‌های صحرایی با تجویز داخل صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. سپس موهای پشت سر (محل برش) تراشیده شد و موش‌ها در دستگاه استرئوتاکس قرار گرفتند. برای لوله‌گذاری از روش Yaksh و Rudy استفاده شد (۲۰). بدین صورت که ابتدا در فاصله‌ی بین دو گوش و به سمت پایین برشی در حدود ۲ سانتی‌متر ایجاد گردید و بعد از کنار زدن پوست و عضلات به آرامی، غشای بین استخوان اکسی‌پیتال و مهره‌ی اطلس نمایان شد. در این روش جراحی از لوله‌ی پلی‌اتیلن (PE-10) برای وارد کردن به فضای زیر عنکبوتیه استفاده شد که باید از فاصله‌ی بین اکسی‌پیتال و اطلس وارد شود. سپس به آرامی با یک سر سوزن به صورتی که نوک سوزن با زاویه‌ی کم نسبت به غشا بر روی آن قرار گیرد و به آرامی غشا خراش داده شد و مایع مغزی- نخاعی به بیرون تراوش کرد که نشان‌دهنده‌ی دسترسی به فضای مورد نظر برای وارد کردن لوله به فضای زیرعنکبوتیه بود. ۸ سانتی‌متر از طول لوله‌ی پلی‌اتیلن ۱۱ سانتی‌متری وارد فضای زیر عنکبوتیه شد و در طول نخاع به پیش رانده شد. در نهایت انتهای لوله 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 میکرولیتر استفاده شد. پس از جراحی

محل برش بخیه شد و پس از گذشتن ۷-۵ روز دوره‌ی بهبودی، در صورت نداشتن هیچ گونه نقص حرکتی در حیوانات، تجویز دارو و سایر مراحل آزمایش‌ها انجام گرفت.

روش‌های مختلفی برای اندازه‌گیری التهاب وجود دارند که وابسته به پارامترهای متغیر طی التهاب هستند. معمول‌ترین روش مورد استفاده تخمین حجم ادم ایجاد شده است. روش پلتیسموتری دیجیتالی برای اولین بار توسط فریدونی و همکاران برای اندازه‌گیری حجم ادم ناشی از عوامل پاتولوژیکی آزمایشگاهی ارائه شد. برای القای التهاب، از مدل التهاب القاشده‌ی پا به وسیله‌ی تزریق کف پایی ۰/۰۵ میلی‌لیتر فرمالین ۲/۵ درصد استفاده شد. برای انجام این روش ابتدا پای حیوان تا علامت مشخص‌شده (توسط ماژیک) روی مچ پا در ستون پلتیسموتری جیوه، که بر روی ترازوی دیجیتال قرار گرفته بود، فرو برده شد. عددی که توسط ترازو نشان داده شد ثبت گردید. یک ساعت بعد از تزریق فرمالین نیز این کار تکرار گردید. اختلاف اعداد مشاهده‌شده محاسبه شد و از تقسیم آن بر جرم حجمی جیوه (۱۳/۶ گرم در سانتی‌متر مکعب) حجم ادم ناشی از تزریق فرمالین محاسبه گردید (۲۱).

داده‌ها به صورت انحراف معیار ± میانگین ارائه شدند. معنی‌داری تفاوت بین میانگین‌ها با آزمون ANOVA یک طرفه و با استفاده از نرم‌افزار آماری GraphPad Prism 5 و به دنبال آن مقایسه‌ی میانگین‌ها با آزمون Student-t و با حداقل سطح معنی‌داری $P < ۰/۰۵$ برآورد شدند. نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel نسخه‌ی ۲۰۰۷ رسم شدند.

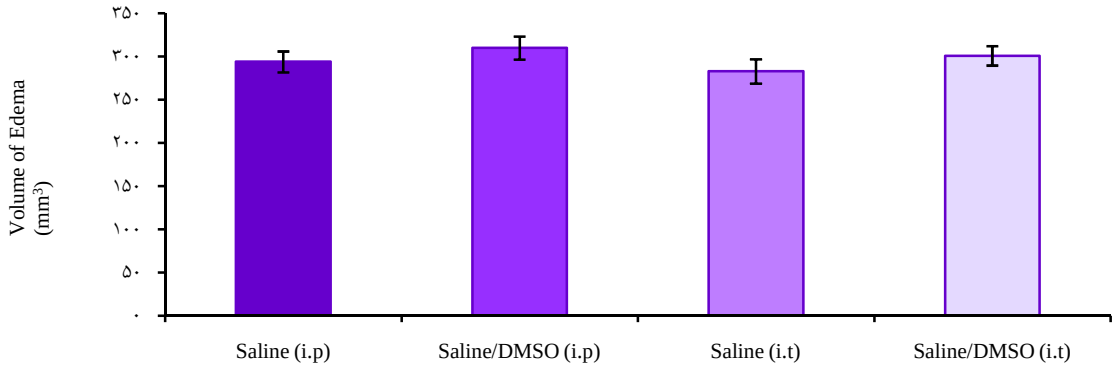
یافته‌ها

مقایسه‌ی نتایج حاصل از روش پلتیسموتری بین گروه سالین (i.p) با گروه سالین/DMSO (i.p)، بین گروه سالین (i.t) با گروه سالین/DMSO (i.t) و همچنین بین گروه سالین/DMSO (i.p) با گروه سالین/DMSO (i.t) نشان داد تفاوت معنی‌داری در میزان ادم ناشی از تزریق کف پایی فرمالین بین گروه‌های مذکور وجود نداشت. عدم وجود تفاوت معنی‌دار در مقایسه‌ی نتایج حاصل از روش پلتیسموتری بین گروه‌های سالین (i.p) و سالین/DMSO (i.p) و همچنین گروه‌های سالین (i.t) و سالین/DMSO (i.t) نشان‌دهنده‌ی 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 داخل نخاعی دارو نسبت به تجویز داخل صفاقی (i.p) بر روند آزمایش‌ها، بود (شکل ۱).

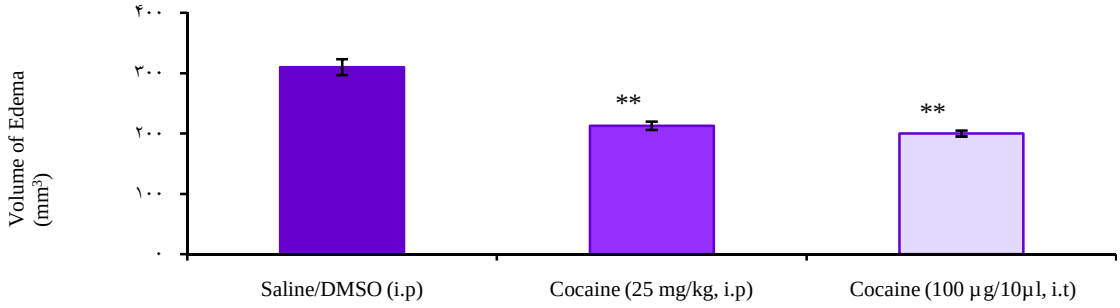
اما مقایسه‌ی نتایج حاصل از روش پلتیسموتری بین گروه‌های سالین/DMSO (i.p)، کوکایین ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (i.p) و کوکایین ۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میکروگرم (i.t) نشان‌دهنده‌ی کاهش معنی‌دار در میزان ادم طی تجویز داخل صفاقی کوکایین (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن) ($P < ۰/۰۰۱$) و داخل نخاعی کوکایین (۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میکروگرم) ($P < ۰/۰۰۱$) نسبت به گروه سالین/DMSO (i.p) بود (شکل ۲).

همچنین مقایسه‌ی نتایج حاصل از روش پلتیسموتری بین گروه‌های سالین/DMSO (i.t)،

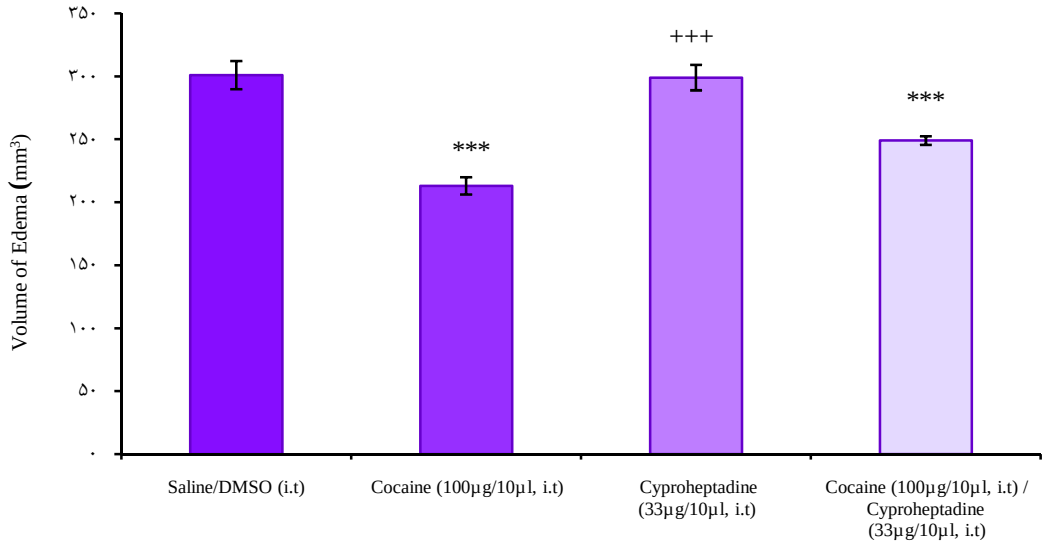
کوکایین ۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میکروگرم (i.t)، سیپروهپتادین ۱۰ میکرولیتر در ۳۳ میکروگرم (i.t) و سیپروهپتادین ۱۰ میکرولیتر در ۳۳ میکروگرم/ کوکایین ۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میکروگرم (i.t) نشان داد که تجویز داخل نخاعی سیپروهپتادین به تنهایی، در مقایسه با گروه سالین/DMSO (i.t) تفاوت معنی‌داری در میزان التهاب ایجاد نکرد. همچنین در گروهی که سیپروهپتادین و سپس کوکایین را به صورت تجویز داخل نخاعی دریافت کردند، سیپروهپتادین باعث کاهش بخشی از اثرات ضد التهابی حاصل از کوکایین در مقایسه با گروهی که فقط کوکایین دریافت کرده بودند، شد ($P < ۰/۰۰۱$)، اما تجویز داخل نخاعی همزمان سیپروهپتادین و کوکایین در مقایسه با گروه سالین/DMSO (i.t) نشان داد که هنوز بخشی از اثرات ضد التهابی کوکایین باقی مانده است ($P < ۰/۰۰۱$) (شکل ۳).



شکل ۱. مقایسه‌ی نتایج حاصل از تغییرات حجم پا ناشی از تزریق کف پایی فرمالین بین گروه‌های سالین (i.p)، سالین/DMSO (Dimethyl sulfoxide) (Intraperitoneal یا i.p)، سالین (Intrathecal یا i.t) و سالین/DMSO (i.t). نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در ادم التهابی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین بین هیچکدام از گروه‌ها مشاهده نشد. نتایج به صورت انحراف معیار ± میانگین ارائه شده‌اند و در تمام گروه‌ها ۷ موش بود.



شکل ۲. مقایسه‌ی نتایج حاصل از تغییرات حجم پا ناشی از تزریق کف پایی فرمالین در گروه‌های سالین/DMSO (Dimethyl sulfoxide) (Intraperitoneal یا i.p)، کوکایین ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (i.p) و کوکایین ۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میکروگرم (Intrathecal یا i.t) نتایج نشان داد در گروه‌هایی که کوکایین را دریافت کردند، ادم التهابی ایجادشده به وسیله‌ی فرمالین به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه سالین/DMSO (i.p) کاهش یافت. همچنین مقایسه‌ی نتایج تغییرات حجم پا بین دو گروهی که کوکایین دریافت کرده بودند تفاوت معنی‌داری نشان نداد. نتایج به صورت انحراف معیار ± میانگین ارائه شده‌اند و در تمام گروه‌ها ۷ موش بود.
*****: $P < ۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه سالین/DMSO (i.p)).**



شکل ۳. مقایسه‌ی نتایج حاصل از تغییرات حجم پا ناشی از تزریق کف پایی فرمالین در گروه‌های سالین/DMSO (Dimethyl sulfoxide) (Intrathecal یا i.t)، کوکایین ۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میکروگرم (i.t)، سیپروهپتادین ۱۰ میکرولیتر در ۳۳ میکروگرم (i.t) و سیپروهپتادین ۱۰ میکرولیتر در ۳۳ میکروگرم/ کوکایین ۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میکروگرم (i.t). نتایج به صورت انحراف معیار ± میانگین ارائه شده‌اند و در تمام گروه‌ها ۷ موش بود.

***: $P < ۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه سالین/DMSO (Intraperitoneal یا i.p).

+++: $P < ۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه کوکایین ۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میکروگرم (i.t).

بحث

در این تحقیق اثرات ضد التهابی کوکایین در آزمون فرمالین در هر دو نوع تجویز داخل صفاقی (سیستمیک) و نخاعی (مرکزی) آن به طور معنی‌داری مشاهده شد. میزان التهاب در هر دو نوع تجویز کمابیش به یک اندازه کاهش یافت. در تجویز داخل صفاقی، کوکایین هم به بافت‌های محیطی و هم سیستم عصبی مرکزی (نخاع) می‌رسد اما در تجویز نخاعی فقط در محدوده‌ی نخاع اثر خود را اعمال می‌کند. با توجه به این که میزان اثرات ضد التهابی در هر دو نوع تجویز کمابیش به یک اندازه بود بنابراین می‌توان احتمال داد که اثرات کوکایین بر التهاب بیشتر از مرکز و در نتیجه اثر کوکایین روی سیستم عصبی مرکزی باشد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تزریق فرمالین باعث تحریک فیبرهای C آوران اولیه عمل می‌کند. این فیبرهای غیر میلینه در انتقال درد دخیل هستند و انتهای محیطی آن‌ها به عنوان گیرنده‌ی درد عمل می‌کند. انتهای مرکزی آن‌ها به شاخ پشتی نخاع ختم می‌شود. در نتیجه رهایی میانجی‌های التهابی مانند ماده‌ی P و (Calcitonin gene-related peptide) CGRP از انتهای محیطی این فیبرها و التهاب محیطی می‌شوند (۲۲). نتایج حاصل از یک مطالعه که به بررسی بر هم کنش بین مسیرهای پایین‌رو مونوآمینرژیک و نورون‌های تیغه‌های سطحی شاخ پشتی نخاع پرداخت، نشان داد که سروتونین روی ورودی فیبرهای C و A_δ (فیبرهای میلینه‌ی دخیل در انتقال درد) به تمام انواع نورون‌های تیغه‌ی سطحی شاخ پشتی نخاع اثر مهاری داشت و نورآدرنالین نیز

ورودی فیبر C را به نورون‌های Transient central شاخ پشتی نخاع مهار کرد (۲۳). به نظر می‌رسد، کوکایین در سیستم عصبی مرکزی از طریق مهار ناقل مونوآمین‌ها باعث افزایش غلظت آن‌ها در شکاف سیناپسی می‌شود. در نتیجه این عمل باعث افزایش فعالیت گیرنده‌های آن‌ها بر روی فیبرهای C و در نتیجه افزایش مهار فیبرهای C توسط سروتونین و نورآدرنالین می‌گردد. با توجه به اثرات مهاری مونوآمین‌های ذکرشده بر روی فیبرهای C، ممکن است این مهار منجر به مهار رهایی میانجی‌های التهابی مانند ماده‌ی P و CGRP از پایانه‌های محیطی و مرکزی این فیبرها و در نهایت ایجاد اثرات ضد التهابی شود. رهایی میانجی‌های التهابی، حتی از پایانه‌ی نخاعی (مرکزی) فیبرهای C علاوه بر پایانه‌های محیطی آن‌ها، نیز منجر به التهاب محیطی می‌شوند (۲۴). بنابراین می‌توان احتمال داد که کوکایین بیشتر اثرات ضد التهابی خود را از طریق اثر بر سیستم عصبی مرکزی و حداقل بخشی در نخاع به ثمر می‌رساند و مسیرهای مونوآمینرژیک (سروتونرژیک و نورآدرنرژیک) در بروز این اثرات درگیر هستند.

با توجه به توضیحات بالا می‌توان احتمال داد که تجویز داخل نخاعی سیپروهپتادین به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌ی سروتونین (5-HT1 و 5-HT2) باعث مهار فعالیت گیرنده‌های سروتونین در سطح نخاع و در نتیجه از بین بردن اثرات مهاری سروتونین بر روی فیبرهای C شده است که منجر به کاهش بخشی از اثرات ضد التهابی کوکایین در این تحقیق شده است. با توجه به این نکته که کوکایین از طریق افزایش غلظت نوراپی‌نفرین نیز اثرات خود را اعمال می‌کند و نوراپی‌نفرین نیز بر روی فیبرهای C اثرات مهاری دارد، می‌توان از بین نرفتن همه‌ی اثرات ضد التهابی کوکایین توسط سیپروهپتادین را بدین صورت توجیه نمود که احتمال دارد نوراپی‌نفرین مسؤول بخش دیگر اثرات ضد التهابی کوکایین باشد. به این ترتیب با مهار فعالیت گیرنده‌ی سروتونین توسط سیپروهپتادین همه‌ی اثرات ضد التهابی کوکایین از بین نمی‌رود و بخشی از باقی می‌ماند. البته نقش نوراپی‌نفرین نیز در این اثرات ضد التهابی باید در پژوهش‌های بعدی مورد مطالعه قرار گیرد. در راستای اثرات ضد التهابی سروتونین، در بررسی‌های دیگر که بر روی سلول‌های گلیومای C6 موش صحرایی انجام گردید مشاهده شد که در این سلول‌ها که دارای گیرنده‌ی 5-HT2A برای سروتونین می‌باشند، فعال شدن این گیرنده باعث مهار فعالیت آنزیم iNOS (Inducible nitric oxide synthase) می‌شود. این آنزیم در این سلول‌ها در پاسخ به سیتوکاین‌های التهابی بیان می‌شود و منجر به تولید نیتریک اکساید (NO) می‌گردد. همچنین مطالعات نشان داد که آنتاگونیست 5-HT2A، بیان ژن iNOS در این سلول‌ها را تنظیم می‌نماید. پس بین سیستم سروتونرژیک و پاسخ ایمنی حاصل از NO در مغز ارتباط وجود دارد و سروتونین می‌تواند به عنوان یک سرکوبگر سیستم ایمنی در مغز عمل کند و فعالیت گیرنده‌های 5-HT2A می‌تواند به طور قدرتمندی پاسخ‌های التهابی حاصل از اندوتوکسین‌ها و حوادث ایسکمی را در سیستم عصبی مرکزی کاهش دهد (۲۵). با توجه به گزارش بالا می‌توان برای سروتونین و در نتیجه کوکایین که باعث افزایش غلظت سروتونین می‌شود نقش ضد التهابی در سیستم عصبی

مرکزی در نظر گرفت. ممکن است سروتونین با اثر بر گلیال‌های نخاعی از طریق گیرنده‌ی 5-HT2A باعث کاهش رهایی عوامل التهابی از این سلول‌ها و در نهایت ایجاد اثرات ضد التهابی شود. بنابراین می‌توان حداقل بخشی از اثرات ضد التهابی کوکایین را به فعالیت سروتونین و گیرنده‌های آن در سطح نخاع نسبت داد که با مهار این گیرنده‌ها توسط سیپروهپتادین بخشی از اثرات ضد التهابی کوکایین در روش پلتیسموموتری از بین رفته است. به این ترتیب تجویز این ماده‌ی مخدر برای کاهش التهاب، دردهای التهابی و نوروپاتیک قابل طرح و بررسی است. همچنین در نتایج حاصل از روش پلتیسموموتری، داده‌های به دست‌آمده تفاوت معنی‌داری در میزان ادم ناشی از تزریق کف پایی فرمالین بین گروه سالین/DMSO (i.t) و گروه دریافت‌کننده‌ی سیپروهپتادین (i.t) نشان ندادند. با توجه به این نتایج و توضیحات ذکرشده در بالا می‌توان این چنین اظهار نظر نمود که شاید بروز التهاب ناشی از عملکرد سیستم سروتونرژیک در سطح نخاع نباشد اما برای کاهش آن، فعالیت سیستم سروتونرژیک لازم است.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه‌ی دانشجویی در مقطع کارشناسی ارشد بود که با حمایت دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. بدینوسیله از دانشگاه فردوسی مشهد و همچنین ستاد مبارزه با مواد مخدر ریاست محترم جمهوری جهت تأمین داروی کوکایین مورد نیاز پژوهش حاضر تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Gay GR, Inaba DS, Sheppard CW, Newmeyer JA. Cocaine: history, epidemiology, human pharmacology, and treatment. a perspective on a new debut for an old girl. Clin Toxicol 1975; 8(2): 149-78.
2. Van DC, Byck R. Cocaine. Sci Am 1982; 246(3): 128-41.
3. George AJ. Central nervous system stimulants. Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2000; 14(1): 79-88.
4. Lidow MS, Trakht T, Howard RL. Cocaine-induced alterations in the density of monoaminergic receptors in the embryonic guinea pig cerebral wall. Synapse 1999; 32(3): 225-37.
5. Henry JA. Metabolic consequences of drug misuse. Br J Anaesth 2000; 85(1): 136-42.
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.
7. Tsukada H, Kreuter J, Maggos CE, Unterwald EM, Kakiuchi T, Nishiyama S, et al. Effects of binge pattern cocaine administration on dopamine D1 and D2 receptors in the rat brain: an in vivo study using positron emission tomography. J Neurosci 1996; 16(23): 7670-7.
8. Derlet RW, Albertson TE. Cocaine intoxication. West J Med 1989; 151(1): 65.
9. 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.
10. 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.
11. Muller CP, Carey RJ, Huston JP. Serotonin as an important mediator of cocaine's behavioral effects. Drugs Today (Barc) 2003; 39(7): 497-511.
12. 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.
13. Wise RA. Neural mechanisms of the reinforcing action of cocaine. NIDA Res Monogr 1984; 50: 15-33.
14. McCance-Katz E, Sevarino K, Gottschalk PC, Kosten T. Pharmacotherapy of stimulant dependence: one of Japan's greatest public

health challenges. Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi 1999; 19(4): 159-86.
15. Hashioka S, McGeer PL, Monji A, Kanba S. Anti-inflammatory effects of antidepressants: possibilities for preventives against Alzheimer's disease. Cent Nerv Syst Agents Med Chem 2009; 9(1): 12-9.
16. Marks DM, Shah MJ, Patkar AA, Masand PS, Park GY, Pae CU. Serotonin-norepinephrine reuptake inhibitors for pain control: premise and promise. Curr Neuropharmacol 2009; 7(4): 331-6.
17. Zimmermann M. Ethical considerations in relation to pain in animal experimentation. Acta Physiol Scand Suppl 1986; 554: 221-33.
18. 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.
19. 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.
20. Yaksh TL, Rudy TA. Narcotic analgestics: CNS sites and mechanisms of action as revealed by intracerebral injection techniques. Pain 1978; 4(4): 299-359.
21. Fereidoni M, Ahmadiani A, Semnanian S, Javan M. An accurate and simple method for measurement of paw edema. J Pharmacol Toxicol Methods 2000; 43(1): 11-4.
22. Song Z, Meyerson BA, Linderoth B. Spinal 5-HT receptors that contribute to the pain-relieving effects of spinal cord stimulation in a rat model of neuropathy. Pain 2011; 152(7): 1666-73.
23. 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.
24. Seybold VS, Galeazza MT, Garry MG, Hargreaves KM. Plasticity of calcitonin gene related peptide neurotransmission in the spinal cord during peripheral inflammation. Can J Physiol Pharmacol 1995; 73(7): 1007-14.
25. Miller KJ, Gonzalez HA. Serotonin 5-HT2A receptor activation inhibits cytokine-stimulated inducible nitric oxide synthase in C6 glioma cells. Ann N Y Acad Sci 1998; 861: 169-73.

Journal of Isfahan Medical School Received: 05.07.2013

Vol. 31, No. 257, 3rd Week, December 2013 Accepted: 11.11.2013

The Effect of Cocaine and Serotonergic Antagonist (Cyproheptadine) on Inflammatory Paw Edema in Rat

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

Original Article

Abstract

Background: Cocaine is a central nervous system stimulant and is an inhibitor of monoamine (serotonin, norepinephrine and dopamine) reuptake; so increases their concentration in central nervous system. Monoamines such as serotonin and nor epinephrine have a role in anti-inflammatory effects and in modulating of immune system. The aim of this study was to investigate the effect of systemic and spinal administration of cocaine (none selective inhibitor of monoamine reuptake) on inflammatory paw edema and the role of serotonin neurotransmitter in these effects at the spinal level.

Methods: 56 Male Wistar rats (200-250 g) were set in 8 groups: Intraperitoneal Saline, Intraperitoneal Saline/Dimethyl sulfoxide (DMSO), Intraperitoneal Cocaine 25 mg/kg, Intrathecal Saline, Intrathecal Saline/DMSO, Intrathecal Cocaine 100 µg/10 µl, Intrathecal Cyproheptadine 33 µg/10 µl and Intrathecal Cyproheptadine 33 µg/10 µl/Cocaine 100 µg/10 µl. Inflammation was induced by subplantar injection of formalin.

Findings: Anti-inflammatory effects of cocaine was significant in intraperitoneal cocaine 25 mg/kg ($P < 0.001$) and intrathecal cocaine 100 µg/10 µl ($P < 0.001$) groups. In intrathecal cyproheptadine 33 µg/10 µl group, there was no influence on inflammation. In intrathecal cyproheptadine 33 µg/10 µl/cocaine 100 µg/10 µl, cyproheptadine decreased a part of anti-inflammatory effect of cocaine ($P < 0.001$).

Conclusion: Serotonergic terminals coming from higher center to the spinal cord interacts with spinal neurons such as primary afferent C fibers. Probably, the inhibition of primary afferent fibers by serotonin inhibits release of inflammatory agent from these fibers and causes anti-inflammatory effects. It is likely that inhibition of serotonin receptor at the spinal level by intrathecal administration of cyproheptadine has reduced anti-inflammatory effects of cocaine.

Keywords: Cocaine, Inflammation, Serotonin, Cyproheptadine

Citation: Mahdiniya R, Fereidoni M, Moghimi A. **The Effect of Cocaine and Serotonergic Antagonist (Cyproheptadine) on Inflammatory Paw Edema in Rat.** J Isfahan Med Sch 2013; 31(257): 1703-12

1- Department of Biology, School of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2- Associate Professor, Department of Biology, School of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3- Professor, Department of Biology, School of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
Corresponding Author: Masoud Fereidoni PhD, Email: fereidoni@um.ac.ir