تعيين اثر فلوكستين بر تحمل ايجاد شده به اثر ضد دردي مورفين در موش صحرائي نر

علیرضا محجل نائبي[۱]، فريبا ناقدي[۲]

تاريخ پذيرش: ۸۳/۵/۲۴

Title: The effect of fluxetine on tolerance to analgesic effect of morphine in male rats.

Authors: Mohajjel Naebi A.[1], Nagedi F.[2]

Abstract: Several studies show that serotoninergic system is involved in tolerance to analgesic effects of opioids. According to some reports, increase of serotoninergic activity potentiates morphine analgesia, as well as decreases tolerance to analgesic effect. In this study, the effect of fluoxetine, as a serotonin reuptake inhibitor, on tolerance to analgesic effect of morphine was studied in male rats by using hot plate test (50±1 ºC). To determine tolerance appearing time, pain response latency time was recorded daily in morphine (1mg/kg, i.p. daily) treated rats. Results show that tolerance to analgesic effect of morphine appears on day nine. Co-injection of morphine with fluoxetine (2, 4, 8 and 10 mg/kg, i.p.) increases analgesia and tolerance appearing time in a dose-dependent manner. Acute fluoxetine injection (10 mg/kg, i.p.) on ninth day, only increased analgesia until day eleven, and it has not any significant effect on tolerance appearing time. We suggest that fluoxetine increases morphine analgesia and tolerance appearing time probably through increasing serotonin activity. However, the exact role of serotoninergic system remains unclear and further investigation should be done.

Key words: Fluoxetine, Tolernace, Analgesia, Morphine.

۱- دانشیار ، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز.
1- Associate Professor, School of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences.
۲- دکتر داروساز.
2- Pharm.D.

چكيده

مطالعات متعدد نشان ميدهند كه سيستم سروتونرژيك در تحمل به اثرات ضد دردي اپيوئيدها دخالت دارد. بنا به برخي گزارشها، افزايش فعاليت اين سيستم سبب تشديد اثر ضد دردي مورفين و نيز كاهش تولرنس به اثرات بيدردي آن مي گردد. در اين بررسي اثر فلوكستين بعنوان مهار كننده آپتيك سروتونين بر زمان ايجاد تولرنس به اثر ضد دردي مورفين در مدل درد حرارتي هات پليت (١°C ±٥٠) بررسي شد. براي تعيين زمان ايجاد تحمل به بي دردي ، زمان عكس العمل به درد هرروز در رتهاي تحت درمان با مورفين با دوز ١ ميلي گرم به ازاي هر كيلوگرم وزن به روش داخل صفاقي ثبت شد. نتايج اين بررسي نشان ميدهد كه با تزريق روزانه مورفين در روز نهم تحمل به بي دردي ايجاد مي شود. تزريق همزمان روزانه مورفين به همراه فلوكستين در دوزهاي ٢، ٤، ٨ و ١٠ ميلي گرم به ازاي هر كيلوگرم، به طرز وابسته به دوز سبب تشديد بي دردي و تاخير در زمان آغاز تحمل گرديد. تزريق حاد فلوكستين با دوز ١٠ ميلي گرم به ازاي هر كيلو گرم وزن به روش داخل صفاقي، در روز نهم در رتهاي تحت درمان با مورفين سبب تشديد بيدردي تا روز يازدهم شد ولي تاثيري بر تاخير در زمان تحمل نداشت. نتايج اين بررسي نشان ميدهد كه فلوكستين با تقويت اثرات سروتونين مي تواند سبب تشديد بي دردي و تاخير در آغاز تحمل به مورفين مي گردد. با اين وجود براي مشخص كردن بهتر نقش و عملكرد اعصاب سروتونرژيك نياز به مطالعات بعدي مي باشد.

گل واژه گان: فلوكستين، تحمل، بي دردي، مورفين.

مقدمه

مصرف طولاني مدت داروهاي ضد درد اپيوئيدي منجر به پيدايش تولرنس به اثرات ضددردي آنها مي گردد (١). محققين هنوز در مورد مكانيسم سلولي موثر در پيدايش تولرنس به اثرات مورفين اتفاق نظر ندارند. مكانيسم هاي پيشنهادي در اين خصوص عبارتند از: ١) تنظيم در جهت افزايش يا كاهش تعدادگيرنده هاي اپيوئيدي ٢) عدم اتصال وغير حساس شدن پروتئين هاي جي ٣) تغيير در نشانه پردازي داخل سلولي چون آدنيليل سيكلاز، پروتئين كيناز C يا نيتريك اكسايد ٤) دخالت گيرنده هاي پس سيناپسي، بويژه گيرنده هاي گلوتامات/آسپارتات، گاماآمينوبوتيريك اسيد و نوروترانسميترهاي مونوآميني (٢) اعصاب سروتونرژيك مركزي در دريافت درد در طناب نخاعي دخالت دارند(٣). فعال شدن اعصاب سروتونرژيك از طريق مسير مهاري نزولي در نخاع سبب كاهش پاسخ به درد مي شود(٤). مطالعات مختلف نشان مي دهدكه داروهاي ضد افسردگي كه مهار كننده آپتيك نروني نورآدرنالين و سروتونين هستند، مي توانند اثر ضد دردي داشته باشند. اثر ضد دردي فلوكسنين در مدل هاي حيواني به خوبي نشان داده شده است و اين اثر با سيستم اپيوئيدي مركزي و يا سيستم سروتونرژيك در ارتباط مي باشد(٥). مطالعه قبلي ما نيز نشان ميدهد كه فلوكستين در تجويز مزمن و حاد مي تواند اثر ضد دردي در آزمون فرمالين، مدل تجربي درد مزمن شيميائي، داشته باشد (٦).

گزارشات متعددي در زمينه ارتباط سيستم اپيوئيدي و سروتونرژيك وجود دارد. بنا به گزارشي مورفين آزادسازي سروتونين را در نواحي متعددي چون هسته رافه ميانی و خلفي افزايش مي دهد (٧). اثر ضد دردي مورفين تزريق شده به ناحيه Periaqueductal gray matter در حضور متي

سرژايــد (آنتاگونيست سروتونين) مهار مي گردد(۸). هم چنين پيــش درماني با آنتاگونيست هاي سروتونين سبب كاهش اثر ضددردي مورفين در تزريق داخل نخــاعي مي گردد(۹). اسپيپرون (آنتاگونيست گيرنده $5\text{-}HT_1$) و ميانسرين (آنتاگـونيست گيرنده $5\text{-}HT_{1C/2}$) بي دردي اگونيست هاي گيرنده μ اپيوئيــدي را مي كاهد. بنابر اين به نظر مي رسد كه در نخاع ساب تايپ بخصوصي از گيرنده هاي ســروتونين در اثر ضددردي اپيوئيدها دخالت داشته باشد (۱۰).

علي رغم اينكه نقش سروتونين در پيدايش تولــرنس به مورفين زياد مورد بررسي قرار گرفته است ولي نتايج يكساني موجود نمي باشد. به عنوان مثال افـزايش فعاليت سروتــونين بـا تجويز سيستميك ال-تريپتوفان يا ۵-هيدروكسي تريپتوفان به ترتيب سبب تسريع و تاخير در زمان آغاز تولرنس به مورفين مي شود(۱۱). تجويز اوندانسترون (آنتاگونيست گيرنده $5\text{-}HT_3$) يا مـهار كننده تـريپتوفان هيدروكسيلاز تولرنس بــه مــورفيـن را مي كاهد (۱۲). نتايج مطالعه ديگر نشان مي دهد كه غلظت سروتونيـن و متابوليت آن،۵-هيدروكسي ايندول استيك اسيد در نخاع رت هائي كه در آنها تولرنس به مورفين ايجاد شده است، افزايش مي يابد(۱۳). تجويز همزمان فن فلورآمين (ريليز كننده سروتونين) با مورفين سبب تشديد اثر ضد دردي مورفين و كاهش تولرنس به آن مي شود(۱٤) در حالي كه ريتانسرين (آنتاگونيست گيرنده 5-HT2) نـيز سبــب طـولاني شـدن زمــان آغــاز تــولرنس مي گردد (۱۵).

مطالعات نشان مي دهند كه در ابتداي مصرف مورفين غلظت خارج سلولي سروتونين در هسته دورزال رافه افزايش مي يابد و يك هفته بعد از درمان دوباره سطح سروتونين به مقدار پايه كاهش مي يابد. پس از درمان طولاني مدت با مورفين حساسيت نرون هاي سروتونرژيك هسته دورزال رافه به مورفين و نيــز سطح سروتونين كاهش مي يابد همچنين مصرف طولاني مدت مورفين سبب كاهش ترن اور و غلظت مغزي سروتونين ميگردد (۱٦). بــا توجه به نتايج گزارش شده نقش سروتونين در پيدايش تولرنس به مورفين ثابت شده مي باشد از اين رو در اين مطالعه سعي مي شود تا اثر فلوكستين، بعنوان مهار كننده آپتيك سروتونين، بر پيدايش تولرنس به اثر ضد دردي مورفين در رت هاي نر مورد بررسي قرار گيرد. نتـايج حاصل از اين بررسي مي تواند در پيدا كردن روش هائي داروئي جديد براي كم كردن تحمل به اثر بي دردي مورفين كمك كننده باشد.

روش كار

مواد و حيوانات

در اين بررسي از رتهاي نر ويستار در محدوده وزني ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. تعداد رت هاي مورد مطالعه در هر گروه ٦ ($n=6$) رت بود. تعداد ٦۰ عدد رت به تعداد مساوي به ۱۰ گروه ٦ تائي تقسيم و در قفس هاي پلاستي گلاس (ترانسپارنت) در سيكل روشنائي/تاريكي ۱۲ ساعتي تا روز آزمايش نگهداري شدند. در تمام مــدت آب و غذا به مقدار كافي در اختيار آنان قرار داده شد. تمامي داروها به طور تازه و روزانه در روز انجام آزمايش تهيه مي شدند. سولفات مورفين و فلوكستين در حلال نرمال سالين (NaCl 0.9%) حل و به روش داخل صفاقي تزريق مي گرديدند.

مطالعه رفتاري

براي ايجاد درد حرارتي از تست هات پليت با محدوده دماي ۱ ± ۵۰ استفاده شد. پس از به تعادل رسيدن دمــا زمان Cut off براي تست تعيين

گرديد. براي اين كار تعداد ٦ رت نر انتخاب و زمان عكس العمل به درد در آن ها انداره گيري شد. اين كار را براي هر رت سه مرتبه با فاصله زماني يك ساعت انجام داده و سپس ميانگين زمان عكس العمل به درد را محاسبه و دو برابر زمان ميانگين را به عنوان زمان Cut off در نظرگرفتيم.

تعيين زمان ايجاد تولرنس نسبت به اثر ضـد دردي مورفين: تعداد ٦ رت نر انتخاب و به آنها مـورفين بـا دوز ١ ميلي گرم بـه ازاي هـر كيلـوگرم وزن بـدن بـه روش داخل صـفاقي تزريـق شـد. نـيم سـاعت بعـد از تزريق مورفين زمان عكس العمل به درد حرارتي ثبت شد. تزريق مورفين و تسـت هـات پليـت هـر روز بـه همان روش انجام مي شد و تزريق تا زماني ادامـه مـي يافـت كـه ميـانگين زمـان عكـس العمـل بـه درد بـه ميانگين گروه رت هاي كنترل نزديك مي شد (ايجـاد تـولرنس نسـبت بـه اثـر ضـد دردي). بـراي اطمينـان بيشتر از ايجاد تولرنس، بعـد از كـاهش زمـان عكـس العمل به درد تا چند روز ديگر(تا روز بيسـتم) نيـز بـه همان ترتيب گفته شده تزريق مورفين و انجام آزمون هات پليت را ادامه مي داديم.

تعيين اثر تجويز مزمن دوز هاي مختلف فلوكستين بر زمان تولرنس به اثر ضد دردي مورفين: تعداد ٣٠ رت نر انتخاب و به پنج گروه شش تائي تقسيم شدند. در گروه اول هر روز فلوكستين با دوز ٢ ميلي گرم به ازاي هر كيلو گرم وزن و بلافاصله مورفين با دوز ١ ميلي گرم به ازاي هر كيلوگرم وزن به روش داخل صفاقي تزريق و نيم ساعت بعد از تزريق بر روي آنها آزمون هات پليت انجام ميگرفت. تزريق روزانه فلوكستين و مورفين تا زماني ادامه مي يافت كه ميـانگين زمـان عكس العـمل بـه درد تا زمان عكس العمل به درد در گروه كنترل كاهش مي يافت (تا روز بيستم). به گروه دوم ، سوم و چهارم رت ها نيز به همان روش فوق به ترتيب فلوكستين با دوزهاي ٤، ٨ و ١٠ ميلي گرم به ازاي هر كيلوگرم وزن تزريق شد. در گروه پنجم بعنوان كنترل حلال فلوكستين (نرمال سالين) به همان روش فوق تزريق و تست هات پليت انجام شد. ميانگين زمان عكس العمل به درد در هريك از گروه هاي فوق در هر روز با ميانگين گروه كنترل مقايسه شد.

تعيين اثر تجويز حاد فلوكستين بر زمان تولرنس ناشي از مورفين: تعداد ٦ رت نر انتخاب و به آنها هر روز به روش داخل صفاقي داروي مورفين با دوز ١ ميلي گرم به ازاي هر كيلو گرم وزن تزريق و نيم ساعت بعد تست هات پليت انجام شد. با توجه به اينكه روز ايجاد تولرنس در آزمايشات قبلي تعيين شده بود (روز ٩) لذا در همان روز علاوه بر تزريق مورفين بلافاصله تزريق داخل صفاقي حاد فلوكستين (10 mg/kg, i.p.) نيز انجام شد و سپس آزمون هات پليت بر روي آنها انجام شد. نتايج با گروه كنترل (تزريق مورفين و حلال فلوكستين) مقايسه گرديد.

آناليز آماري داده ها: داده ها به شكل Mean ± SEM نشان داده شده اند. براي آناليز آماري از نرم افزارInstat استفاده شد. در هريك از نقاط نتايج گروه مورد بررسي با گروه كنترل و با استفاده از Unpaired t-test مقايسه شدند. $p<0.05$ از نظر آماري معني دار در نظر گرفته شد.

نتايج

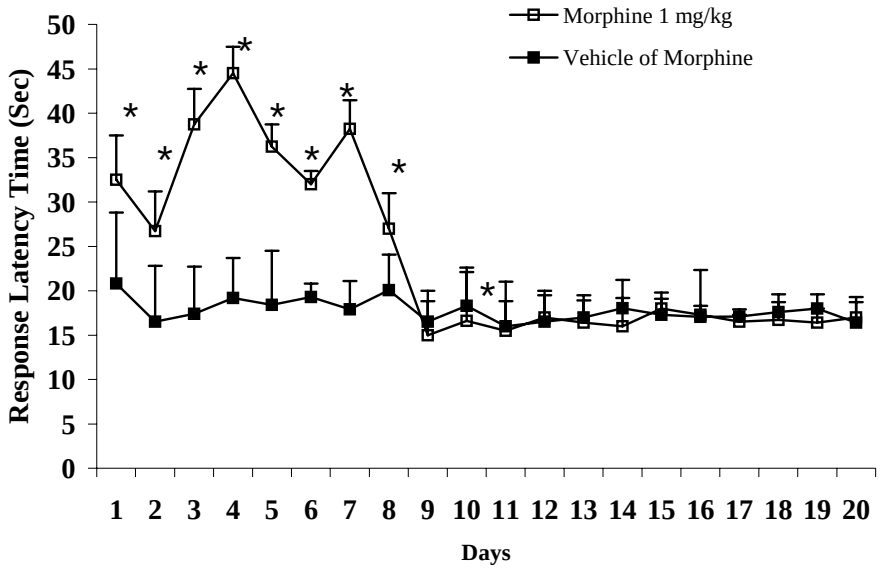
تعيـينCut off Time و Latency Time در رتهاي نر گروه كنترل: در يك گروه ٦ تائي رت هاي نر زمان پاسخ به درد سه بـار بـا فاصـله يـك سـاعتي اندازه گرفته شد. همـانطوري كـه از جـدول شـماره ١ مشخص مي باشد ميانگين سه زمـان (٣٢/٧ ، ٢٠/٨ ،

۱۶/۵) پاسخ به درد، ۲۳/۳۳ ثانيه مي باشد بنـابراين زمان قطع آزمايش ۵۰ ثانيه در نظر گرفته شد.
تعيـين Cut off Time و Latency Time در رتهاي نر گروه كنترل.

تعيين زمان ايجاد تولرنس نسبت به اثر ضد دردي مورفين: نتايج شكل ۱ نشان مي دهد كه با ادامه تزريق روزانه مورفيـن اثر بي دردي آن كـاهش مـي يابد بطوري كه در روز نهم زمان عكس العمل به درد به زمان گروه كنترل نزديك شده و تا روز بيستم تفاوت معني داري مشاهده نمي شود.

جدول ۱- زمان عكس العمل به درد در سه روز متوالي (n=6)

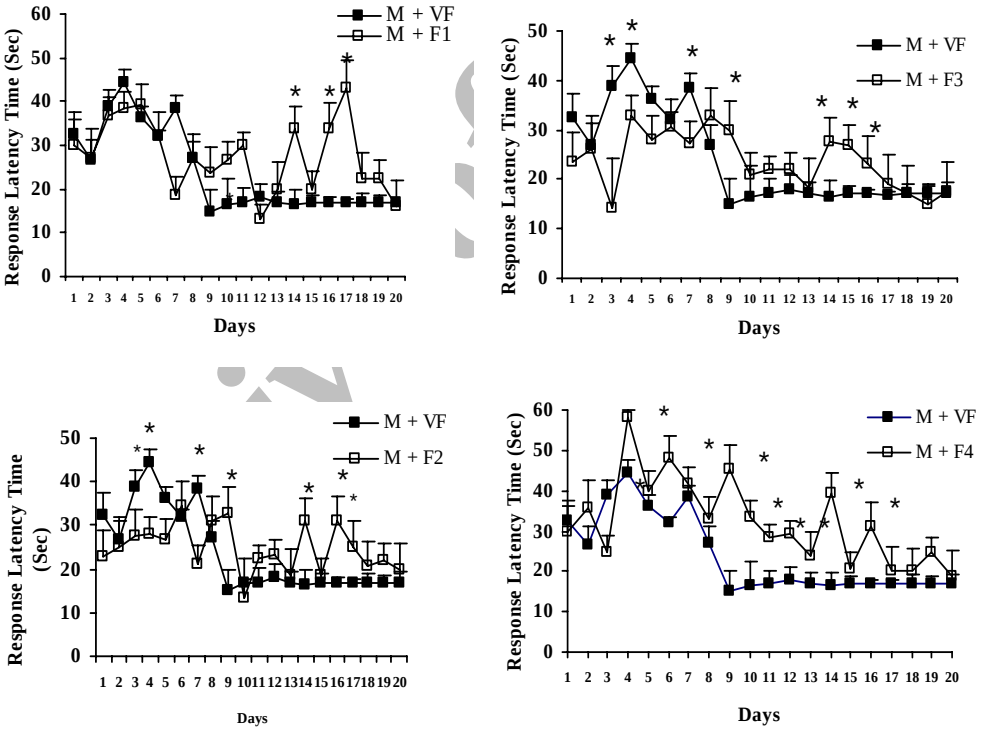
	بار اول	بار دوم	بار سوم
رت شماره ۱	۲۴	۱۱	۱۱
رت شماره ۲	۳۹	۱۷	۱۵
رت شماره۳	۲۰	۲۴	۱۷
رت شماره٤	۲۷	۳۱	۲٦
رت شماره٥	۳۰	۲۵	۱٦
رت شماره٦	۳۲	۱٦	۱٤
ميانگين	۳۲/۷	۲۰/۸	۱٦/٥



شكل شماره۱- تعيين زمان ايجاد تولرنس نسبت به اثر ضد دردي مورفين. داده ها بصورت Mean ± SEM **نشان داده شده اند.** (n=6 rats in each group)، $p<0.05$* **در مقايسه با گروه كنترل**

تعيين اثر تجويز مزمن دوز هاي مختلف فلوكستين بر زمان تولرنس ناشي مورفين

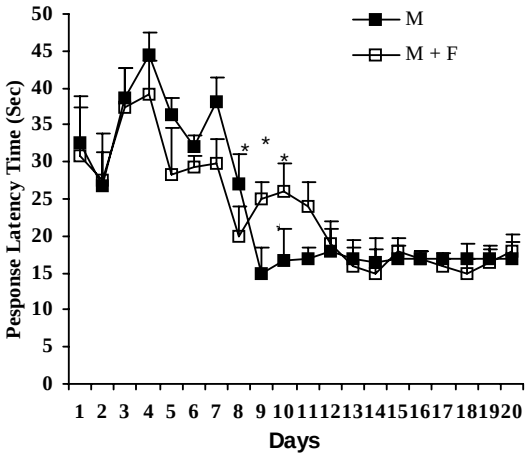
همانطوريكه در شكل۲ نشان داده شده است با افزايش دوز فلوكستين، تفاوت بين گروه تست و گروه كنترل بيشتر مي گردد. در دوز ۲ ميلي گرم در سه روز (در روزهاي ۱۵، ۱۷ و ۱۸) ، دوز ٤ ميلي گرم در پنج روز (روزهاي ٤، ۷، ۹، ۱٤و ۱٦)، دوز ۸ ميلي گرم در شش روز (روزهاي ۳، ٤، ۷، ۹، ۱٤ و۱۵) و در دوز ۱۰ ميلي گرم در ۹ روز (روزهاي ۳، ٤، ٦، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱٤ و ۱٦) تفاوت معني دار ($p<0.05$) با گروه كنترل مشاهده گرديد. زمان آغاز تولرنس به اثر بي دردي مورفين با تجويز فلوكستين به تعويق افتاد به طوري كه در دوز ۲ ، ٤ ، ۸ و ۱۰ ميلي گرم به ترتيب در روز ۱۸ ، ۱٦، ۱٦ و ۱۷ بود. (شكل۲)



شكل شماره۲ - **تعيين اثر تجويز مزمن دوز هاي مختلف داروي فلوكستين** (F1=2mg/kg, F2=4mg/kg, F3=8mg/kg and F4=10mg/kg) **بر زمان تولرنس ناشي از مورفين**(1mg/kg)**، زمان عكس العمل به درد برحسب ثانيه بيان شده است، داده ها بصورت** Mean ± SEM **نشان داده شده اند.** (n=6 rats in each group)، $p<0.05$* **در مقايسه با گروه كنترل**
M**= مورفين ،** VF**= حلال فلوكستين**

در حالي كه در گروه كنترل همان طوري كه از شكل ۱ مشخص مي باشد در روز ۹ تولرنس به مورفين ايجاد مي شود (شكل ۱).

تعيين اثر تجويز حاد فلوكستين بر زمان تولرنس ناشي از مورفين: نتايج نشان ميدهد كه تزريق فلوكستين با دوز ۱۰ ميلي گرم به ازاي هر كيلو گرم وزن از روز نهم سبب افزايش اثر بي دردي مورفين مي گردد و تا روز دهم و يازدهم اين تفاوت از نظر آماري معني دار بود ($p<0.05$)، ولي از روز يازدهم به بعد تفاوتي با گروه كنترل مشاهده نشد.



شكل شماره۳- تعيين اثر تجويز حاد داروي فلوكستين (۱۰ ميلي گرم به ازاي هر كيلوگرم وزن) بر زمان تولرنس ناشي از مورفين (1mg/kg)، زمان عكس العمل به درد برحسب ثانيه بيان شده است، داده ها بصورت Mean ± SEM نشان داده شده اند. (n=6 rats in each group)، *$p<0.05$ در مقايسه به گروه كنترل M= مورفين ، F= فلوكستين

بحث

ايجاد تولرنس به اثر ضد دردي مورفين و ساير اپيوئيدها از محدوديت هاي درماني مصرف طولاني مدت آنها مي باشد. بنابراين پيدا كردن روشي كه به وسيله آن بتوان تولرنس را كاهش و يا بتعويق انداخت، موفقيت بزرگي در عرصه درمان محسوب مي شود. نتايج مطالعه ما نشان مي دهد كه با ادامه مصرف روزانه مورفين رفته رفته اثر بي دردي آن كاهش مي يابد بطوريكه از روز نهم به بعد زمان عكس العمل به درد آنها برابر گروه رتهاي كنترل مي گردد. هم چنين فلوكستين توانست به شكل وابسته به دوز اثر ضد دردي داروي مورفين را افزايش دهد و زمان شروع تولرنس را به تعويق اندازد. مصرف حاد فلوكستين فقط توانست اثر بي دردي مورفين را افزايش دهد و كارائي آن در مقايسه با مصرف مزمن كمتر مي باشد. لذا پيشنهاد مي شود كه احتمالاً روند ايجاد تولرنس و تغييرات سلولي يك فرآيند طولاني مدت است و براي جلوگيري از آن توسط تقويت اثرات سيستم سروتونرژيك نياز به افزايش طولاني مدت سروتونين مي باشد.

گزارشات مختلف حاكي است كه داروهاي مهار كننده آپتيك سروتونين، كه اغلب در درمان افسردگي ها مورد استفاده قرار مي گيرند، مي توانند اثرات ضد دردي داشته باشند. Fasmer و همكارانش نشان داده اند كه دارو هاي مهار كننده آپتيك سروتونين چون آلاپروكليت، سيتالوپرام و كلوميپرامين در مدلهاي برررسي درد به روش آزمون هات پليت، فرمالين و ماده پي بي دردي ايجاد ميكنند(۱۷). مطالعات مشابه ديگر نيز اثر بي دردي داروهائي جون زيميليدين و فلوكستين را نشان داده اند(۱۹، ۱۸). در بررسي قبلي ما نيز اثر ضد دردي فلوكستين در مدل درد فرمالين نشان داده شده است(٦). بنابراين مي توان گفت كه با مصرف توام فلوكستين با مورفين اثر ضد دردي مورفين به روش سينرژيستي افزايش مي يابد و يا به عبارتي فلوكستين با افزايش سطح سروتونين مغز از تغييرات سلولي كه منجر به پيدايش تولرنس مي گردند جلوگيري مي نمايد. Arends و همكارانش نشان داده اند كه با مصرف توام فن فلورآمين(بعنوان آزاد كننده سروتونين) با مورفين بي دردي مورفين افزايش و زمان آغاز تولرنس كند مي شود(١٤). نتايج مطالعه ما

نيـز مطـابق بـا نتـايج مطالعـه Arends اسـت. داروي فلوكستين با افـزايش سطح سـروتونين همچـون فـن فلورآمين توانست ضمن افـزايش بـي دردي مـورفين، زمان پيدايش تـولرنس بـه مـورفين را كنـدتر نمايـد. براساس نتايج مطالعات انجام يافته افزايش سروتونين مغزي و نخـاعي مـي توانـد اثـرات متضـادي را داشـته باشند. با ايجاد تـولرنس سـروتونين نخـاعي افـزايش مـي باشـد (۱۳) در حـالي كـه نتـايج مطالعـه Tao و همكارانش نشان ميدهد كه در تسـت هـات پليـت در ۱۲ ساعت بعد از تجويز مورفين، همزمـان بـا اثـر بـي دردي غلظت سروتونين در هسته رافه خلفي افـزايش مي يـابد و يك هفتـه بعـد، همزمان بـا كـاهش اثـر بي دردي مورفين و پيدايش تـولرنس، مجـدداً غلظـت سروتونين در هسته رافه خلفي به سطح كنترل و پايـه بر مي گردد(١٦). نتايج رفتاري مطالعه مـا نيـز كـه بـا استفاده از مدل آزمون هات پليـت انجـام شـده اسـت مطابق با نتايج مطالعه Tao مـي باشـد و فلوكسـتين بـا افزايش سطح سروتونين مركزي توانسته اسـت زمـان آغاز تولرنس را به تعويق انـدازد. درمطالعـات بعـدي پيشـنهاد مـي شـود كـه اثـرات سـروتونين مركـزي و نخاعي نيز، براي تائيد بيشتر نتايج مورد بررسي قـرار گيرد. همچنين با توجه به اينكـه مصـرف مقـادير كـم (۲۰ ميلي گـرم در روز) فلوكسـتين نـه تنهـا در افـراد عوارض مهمي را ايجاد نمي كند بلكه بـا ايجـاد اثـرات آرام بخشي بيمار را در تحمل درد ياري مي كنـد، لـذا در بررسي هـاي آتـي مـي تـوان اثـرات مصـرف تـوام فلوكستين با مورفين را در كم كردن دردهـاي مـزمن در بيمـاران مـورد مطالعـه قـرار داد. نتـايج چنـين مطالعاتي مي تواند راهكارهاي داروئي جديـدي را در كم كردن تولرنس به مورفين ارائه نمايد.

نتيجه گيري

فلوكستين احتمالاً از طريـق افـزايش فعاليـت سيسـتم سروتونرژيك، مي تواند بيـدردي مـورفين را افـزايش دهد و زمان ايجـاد تـولرنس را در مـدل درد حرارتـي هات پليت به تعويق اندازد.

References:

1- Basbaum AI. Insights into the development of opioid tolerance. Pain 1995; 61: 349-352.

2- Nestler EJ, Aghajanian GK. Molecular and cellular basis of addiction. Science 1997; 278:58-63.

3- Zhang ZH, Yang SW, Chen JY. Interaction of serotonin and norepinephrine in spinal antinociception. Brain Res Bull 1995; 38:167-171.

4- Yaksh TL, Willson R. Spinal serotonin terminal system mediates antinociception. J Pharmacol Exp Ther 1979; 208: 446-453.

5- Singh V.P., Naveen K.J., Kulkarni S.K. On the antinociceptive effect of fluoxetine, a selective serotonin reuptake inhibitor, 2001, 915: 218-226.

6- Nayebi A. R. M., Hassanpour H., Rezazadeh H. Effect of chronic and acute administration of fluoxetine and its additive effect with morphine on the behavioural response in the formalin test in rats, J. Pharmacy and Pharmacology 2001, 53: 219-225.

7- Grauer SM, Tao R, Auerbask SB. Morphine induces an increase in extracellular serotonin in the rat diencephalons. Brain Res 1992; 599:277-282.

8- Schul R, Frenk H. The role of serotonin in analgesia elicited by morphine in the periaqueductal gray matter. Brain Res 1991; 556:353-357.

9- Kellstin DE, Malseed RT, Goldstein FJ. Opioid-monoamine interactions in spinal antinociception: evidence for serotonin but not norepinephrine reciprocity. Pain 1988; 34:85-89.

10- Xu W, Cui X, Han JS. Spinal serotonin 1A and IC/2 receptors mediate supraspinal mu opioid-induced analgesia. Neuroreport 1994; 5:2665-2668.

11- Ho IK, Brase DA, Lob HH. Influence of l-tryptophan on morphine analgesia, tolerance and physical dependence. J Pharmacol Exp Ther 1975; 93:35-43.

12- Hui SC, Sevil El, Ogle CW. Prevention by the 5-HT_3 receptor antagonist, ondansetrone, of morphine-dependence and tolerance in the rat. Br J Pharamcol 1996;118:1044-1050.

13- Li JY, Wong CH, Huang KS. Morphine tolerance in arthritic rats and serotonergic system. Life Sci 1999; 64:111-116.

14- Arends RH, Hayashi TG, Luger TJ, Shen DD. Cotreatment with racemic fenfluramine inhibits the development of tolerance to morphine analgesia in rats. J Pharmacol Exp Ther 1998; 286:585-592.

15- Verbitskaia EV, Kudriashova MF. Ritanserin prolongs the analgesic effect of morphine and shows the development of tolerance. Eksp Klin Farmakol 1997;60:10-13.

16- Tao R., Zhyuan M.A., Auerbach S.B. Alteration in regulation of serotonin release in rat dorsal raphe nucleus after prolonged exposure to morphine. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1998, 286: 481-488.

17- Fasmer OB, Hunskar S, Hole K. Antinociceptive effects of seronergic reuptake inhibitors in mice. Neuropharmacology 1989;28:1363-1366.

18- Lund A, Mjellen J, Hole K. Chronic administration of desipramine and zimelidine changes the behavioural response in the formalin test in rats. Neuropharmacology 1991; 30:481-487.

19- Sawynok J, Reid A. Antinociception by tricyclic antidepressants in the rat formalin test: differential effects on different behaviours following systemic and spinal administration. Pain 2001;93:51-59.