مجله دانشکده پزشکی اصفهان **مقاله پژوهشی**
سال بیست و هشتم/شماره ۱۰۷/تیر ۱۳۸۹
تاریخ دریافت: ۸۸/۲/۲۳ **تاریخ پذیرش:** ۸۸/۱۰/۲۹

بررسی تغییر پاسخ‌دهی به اثر ضد دردی مرفین و تحمل به مرفین بعد از حذف تخمدان‌های موش صحرایی ماده

سید محمود حسینی[۱]، رضا کرمی[۲]، زهرا غلام نژاد[۱]، عفت خوشنود[۱]

خلاصه

مقدمه: استروژن از طریق گیرنده‌های استروژنی در مغز، عملکرد مغز را به طور مستقیم تحت تأثیر قرار می‌دهد و در اعمالی غیر از تولید مثل نیز نقش دارد. شواهد نشان می‌دهد که استروژن همچنین بر رسپتورهایی که در فرایند درد شرکت می‌کنند و شاید بر آوران‌های درد اثر می‌گذارد. در مطالعه‌ی حاضر، اثرات ضد دردی مرفین و تحمل به مرفین در حضور و عدم حضور تخمدان‌های موش صحرایی ماده بررسی شد.

روش‌ها: تعداد ۴۰ سر موش صحرایی ماده به ۴ گروه ۱۰ تایی شاهد، اوارکتومی، شاهد- تحمل و اوارکتومی- تحمل تقسیم شدند. ۸ هفته بعد از تخمدان برداری، تحمل به مرفین در گروه‌های ۳ و ۴ با استفاده از تزریق داخل صفاقی ۲۰ mg/kg مرفین در طی ۴ روز ایجاد شد. حیوانات گروه ۱ و ۲ به جای مرفین، روزانه ۱ ml/kg سالین، به مدت ۴ روز دریافت کردند. سنجش درد به وسیله‌ی تست صفحه‌ی داغ انجام گرفت. در روز پنجم، ابتدا از حیوانات ثبت پایه گرفته شد؛ سپس حیوانات ۵ mg/kg مرفین دریافت کردند و اثرات ضد دردی هر ۱۰ دقیقه بررسی شد.

یافته‌ها: زمان واکنش به درد بعد از تزریق ۵ mg/kg مرفین نسبت به زمان پایه در گروه شاهد و اوارکتومی بالا بود؛ اما تفاوتی در گروه‌های شاهد- تحمل و اورکتومی- تحمل وجود نداشت. اگرچه زمان واکنش به درد بعد از تزریق ۵ mg/kg مرفین در گروه شاهد از گروه اوارکتومی بالاتر بود، اما تفاوتی بین گروه‌های شاهد- تحمل و اوارکتومی- تحمل مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که تکرار مصرف مرفین می‌تواند منجر به تحمل شود. اگر چه تفاوتی بین تحمل در حضور و یا عدم حضور هورمون‌های جنسی ماده وجود ندارد اما حذف تخمدان‌ها پاسخ ضد دردی مرفین را کاهش می‌دهد.

واژگان کلیدی: موش صحرایی، تخمدان برداری، درد، تحمل.

مقدمه

حضور mRNAی گیرنده‌ی استروژنی در مناطق مختلف مغز بیانگر این است که استروژن عملکرد مغز را به طور مستقیم تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱) و در اعمالی غیر از تولید مثل نیز نقش دارد (۳-۲). شواهدی دال بر فعالیت ضد دردی استروژن نیز وجود دارد که ممکن است به وسیله‌ی نخاع یا سطوح دیگر از محور عصبی میانجیگری شود (۵-۴). نتایج دیگر مطالعات حاکی از این است که تغییر سطوح استروئیدهای جنسی، چندین تعدیل کننده‌ی عصبی که در فرایند پردازش ضد درد در نخاع شرکت می‌کنند، شامل ماده‌ی P و آمینواسیدهایی از قبیل گابا و گلوتامات و دیگر نوروترانسمیترها (دوپامین، سروتونین و نوراپی‌نفرین) (۱) را تغییر می‌دهند.

احتمال وجود تفاوت‌های وابسته به جنس در پاسخ به درد توسط نتایج مطالعات مختلف به اثبات رسیده است (۶). از جمله آن که ریسک وقوع دردهای کلینیکی نظیر سردردهای میگرنی، آرتریت روماتوئید و

[۱] گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
[۲] دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
نویسنده‌ی مسؤول: سید محمود حسینی، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
Email: mhosseini49@yahoo.com

سندرم روده‌ی تحریک پذیر در زنان بیشتر از مردان است (۷-۶). همچنین محققین نشان داده‌اند که زنان آستانه‌ی درد بالاتری نسبت به مردان دارند و تحمل درد در آن‌ها در مرحله‌ی فولیکولار بیشتر از مرحله‌ی لوتئال از سیکل قاعدگی است (۸).

در مطالعات حیوانی گزارش شده است که اوارکتومی آستانه‌ی درد را کاهش می‌دهد (۹-۸). در حالی که مطالعات دیگر این مطلب را تأیید نکرده است (۱۰). مطالعات دیگر نشان می‌دهد که دردهای نوروپاتیک به دنبال آسیب عصب سیاتیک، در موش‌های صحرایی ماده‌ی سالم نسبت به موش‌های اووراکتومی شده به صورت شدیدتری رخ می‌دهد (۶). شواهد دیگر نشان می‌دهد که موش‌های صحرایی اوارکتومی شده‌ای که استرادیول دریافت کرده‌اند، زمان تأخیر بیشتری را در تست پرش دم (Tail flick) نشان داده‌اند (۱۱). اما در مطالعه‌ای دیگر، استرادیول و پروژسترون در موش‌های اووراکتومی شده باعث کاهش زمان تأخیر شد (۶). همچنین موش‌های صحرایی نر گنادکتومی شده یا تحت درمان با هورمون‌های استروئیدی تغییر معنی‌داری را به محرک دردزا در تست صفحه‌ی داغ (Hot plate) نشان ندادند (۸).

هورمون‌های جنسی علاوه بر درد، بر پاسخ‌های ضد دردی نیز تأثیر می‌گذارند (۶) و در مکان‌هایی در سیستم عصبی مرکزی، به خصوص در مسیر نزولی مهار درد، می‌توانند اثر کرده، مانند اوپیوئیدها درد را تعدیل کنند (۸). نشان داده شده است که استرادیول، mRNAی انکفالین را در طناب نخاعی (۸) و بیان ژن پره‌پروانکفالین را در هیپو تالاموس (۱۲) در موش‌های صحرایی افزایش می‌دهد. تراکم رسپتور اوپیوئید کاپا در لومبوساکرال طناب نخاعی در طی سیکل استروس در موش‌های صحرایی تغییراتی را نشان می‌دهد (۱۳). بنابراین به نظر می‌رسد که استروژن‌ها بسیاری از مناطق سیستم عصبی دخیل در درد را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۸).

مطالعات متعدد نتایج ضد و نقیضی را در ارتباط با پاسخ به اثرات ضد دردی مرفین در دو جنس گزارش کرده‌اند. بعضی از مطالعات حیوانی نشان داده است که اثرات ضد دردی اوپیوئیدها در جنس نر بیشتر از ماده‌ها است (۱۵-۱۴)؛ در حالی که مطالعات انسانی اثر ضد دردی اوپیوئیدی قوی‌تری را در جنس ماده نشان می‌دهند (۱۰).

آزمایشاتی که بر روی جنس ماده انجام شد، نشان داد که گنادکتومی در موش‌های صحرایی ماده‌ی بالغ اثرات ضد دردی اوپیوئیدها را افزایش می‌دهد (۱۶-۱۵)، در حالی که دیگران کاهش در پاسخ ضد دردی اوپیوئیدها به دنبال حذف تخمدان‌ها را گزارش کرده‌اند (۱۷) و بعضی نیز آن را بی‌اثر دانسته‌اند (۱۸). بعضی مطالعات نشان دادند که مرفین در رت‌های نر و ماده‌ی گنادکتومی شده اثرات ضد دردی شدیدتری را نسبت به رت‌های سالم نشان می‌دهد و ماده‌های اووراکتومی شده نیز اثر ضد دردی بیشتری را نسبت به نرهای گنادکتومی نشان می‌دهند (۶).

هورمون‌های گنادی بر سیستم کولینرژیک مرکزی هم اثر می‌گذارند که می‌توانند در تفاوت وابسته به جنس اثرات ضد دردی سیستم کولینرژیک نقش داشته باشد (۱). میان‌کنش‌هایی بین اوپیوئیدهای درون‌زاد و سیستم هورمون‌های گنادی گزارش شده است؛ برای مثال؛ استروژن و پروژسترون به صورت فیدبکی سطوح LH را کنترل می‌کند و از طرف دیگر پپتیدهای

اوپیوئیدی ترشح هیپوفیزی LH از هیپوفیز را مهار می‌کنند (۱). LH رسپتورهای اوپیوئیدی مغز را (۱۹) حساسیت زدایی می‌کند و احتمال می‌رود از این طریق در کنترل درد نقش داشته باشد.

این نتایج، نیاز به بررسی‌های بیشتر جهت مطالعه‌ی رابطه‌ی بین هورمون‌های جنسی و اثرات ضد دردی مورفین و تحمل به آن و نیز مکانیسم‌های دخیل در این اثرات را مطرح می‌کند. در مطالعه‌ی حاضر، این رابطه در حضور و عدم حضور تخمدان‌های موش صحرایی ماده بررسی شد.

روش‌ها

حیوانات و گروه‌های مورد آزمایش: در این مطالعه از ۴۰ موش صحرایی ماده‌ی نژاد ویستار با وزن ۲۰۰-۱۸۰ گرم تهیه شده از سرم سازی رازی استفاده شد. حیوانات در بخش نگهداری حیوانات دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای محیطی ۱ ± ۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. شرایط برای دسترسی به آب و غذا آزاد بود. حیوانات در مجموع به طور تصادفی به ۴ گروه ده تایی تقسیم شدند:

۱- ***گروه شاهد (Sham):*** در این گروه، حیوانات ماده تحت عمل جراحی به صورت باز کردن شکم قرار گرفتند ولی تخمدان‌ها خارج نشد. پس از ۸ هفته نگهداری در لانه‌ی حیوانات، به مدت ۴ روز روزانه ۱ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن نرمال سالین استریل به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. در روز پنجم، واکنش آن‌ها نسبت به درد، قبل و بعد از تزریق داخل صفاقی mg/kg ۵ مرفین بررسی شد.

۲- ***گروه اوارکتومی (OVX):*** در این گروه، حیوانات ماده تحت عمل جراحی به صورت باز کردن شکم قرار گرفتند و تخمدان‌ها خارج شد. پس از ۸ هفته نگهداری در لانه‌ی حیوانات، به مدت ۴ روز روزانه ۱ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن نرمال سالین استریل به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. در روز پنجم، واکنش آن‌ها نسبت به درد، قبل و بعد از تزریق داخل صفاقی mg/kg ۵ مرفین بررسی شد.

۳- ***گروه شاهد- تحمل (Sham-Tol):*** در این گروه، حیوانات ماده تحت عمل جراحی قرار گرفتند و تخمدان‌ها خارج شد. پس از ۸ هفته نگهداری در لانه‌ی حیوانات، به مدت ۴ روز روزانه mg/kg ۲۰ مرفین به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. در روز پنجم، واکنش آن‌ها نسبت به درد، قبل و بعد از تزریق داخل صفاقی mg/kg ۵ مرفین بررسی شد.

۴- ***گروه اوارکتومی تحمل (OVX- Tol):*** در این گروه، حیوانات ماده تحت عمل جراحی قرار گرفتند و تخمدان‌ها خارج شد. پس از ۸ هفته نگهداری در لانه‌ی حیوانات، به مدت ۴ روز روزانه mg/kg ۲۰ مرفین به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. در روز پنجم، واکنش آن‌ها نسبت به درد، قبل و بعد از تزریق داخل صفاقی mg/kg ۵ مرفین بررسی شد.

روش انجام کار: پس از دو هفته نگهداری و تیمار، ابتدا موش‌ها با استفاده از مخلوط mg/kg ۱۵۰ کتامین و mg/kg ۰/۱ رامپون بیهوش شدند (۲۰).

وقتی حیوان به طور صحیحی بیهوش شد (فقدان حرکات خود به خودی با نیشگون گرفتن از پا یا دم)، میزان تنفس کاهش پیدا کرد، حیوان بر روی تخت جراحی ثابت و سپس موهای سطح شکمی تراشیده شد. ناحیه‌ی تراشیده شده با الکل ۷۰ درصد و بتادین پاک شد. برای خارج کردن تخمدان‌ها ابتدا یک شکاف دو سانتی‌متری در سطح پوست شکمی ایجاد گردید؛ سپس پوست از عضلات زیرین جدا شد. پس از بریدن عضلات، فیبرهای عضلانی به وسیله‌ی قیچی باز شد. لبه‌های شکاف باز با یک انبر دندانه‌دار کوچک نگه داشته شد. محل چربی‌های تخمدان که در زیر عضلات قرار گرفته است، مشخص شد و چربی‌ها در محل شکاف با یک انبرک بدون دندانه به کناری کشیده شد؛ تخمدان‌ها به سطح زیرین چربی‌ها متصل بودند. با انبرک دیگری با یک نخ، مرز بین تخمدان و رحم بسته شد. بعد از برداشتن تخمدان‌ها و لوله‌ی رحمی با برش قیچی، از عدم خون‌ریزی در محل مطمئن شدیم. سپس نوک رحم به داخل حفره‌ی شکمی بر گردانده شد. با کشیدن چربی‌های طرف دیگر رحم، تخمدان و لوله‌ی رحمی سمت دیگر نیز به همین روش برداشته شد. عضلات و پوست بخیه زده و حیوان به قفس برگردانده شد و مراقبت‌های بعد از جراحی انجام گردید.

روش ایجاد تحمل به مرفین: برای ایجاد تحمل، موش‌های صحرایی روزانه ۲۰ mg/kg مرفین به مدت ۴ روز دریافت کردند (۲۱). در گروه‌های شاهد و اوارکتومی به جای مرفین، روزانه ۱ ml/kg میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن سالین تزریق گردید. بیست و چهار ساعت بعد از تزریق آخرین دوز مرفین، ابتدا واکنش حیوانات به درد به عنوان زمان پایه ثبت شد و سپس ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مرفین تزریق و واکنش به درد هر ۱۰ دقیقه ثبت گردید.

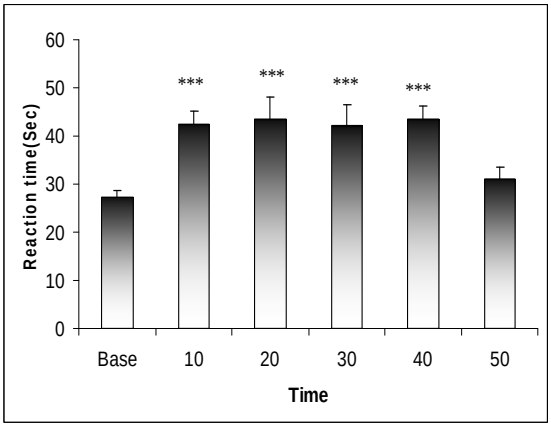
روش سنجش درد: در این مطالعه، سنجش درد با استفاده از آزمون صفحه‌ی داغ (Hot plate) انجام شد. در آزمون صفحه‌ی داغ، دمای ثابت ۰/۲ ± ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان ختم آزمایش ۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد. معیار پاسخ حیوان، لیسیدن دست‌های جلو و یا تکان دادن پا بود. ۲۴ ساعت بعد از ایجاد تولرانس، ابتدا ۳ زمان پایه به فاصله‌ی هر ۱۰ دقیقه برای هر حیوان ثبت شد. واکنش به درد در زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ دقیقه بعداز تزریق داخل صفاقی ۵ mg/kg مرفین نیز ثبت گردید.

روش آنالیز داده‌ها: داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد. برای مقایسه‌ی واکنش به درد در زمان‌های بعد از تزریق مرفین با زمان پایه در هر گروه، از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) و تست تعقیبی توکی استفاده شد. زمان پایه‌ی بین گروه‌ها نیز با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه مقایسه شد. برای مقایسه‌ی پاسخ‌دهی به درد در زمان‌های مختلف بعد از تزریق مرفین بین گروه‌های مختلف از Repeated measure ANOVA استفاده گردید. $P < ۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

مقایسه‌ی زمان پایه و زمان‌های بعد از تزریق ۵ mg/kg مرفین در گروه شاهد (Sham): همان طوری که در نمودار ۱ نشان داده شده است، زمان پایه در گروه شاهد (Sham)، که در آن‌ها تولرانس ایجاد نشده بود، ۱/۵ ± ۲۷/۲۷ ثانیه بود. در این گروه زمان

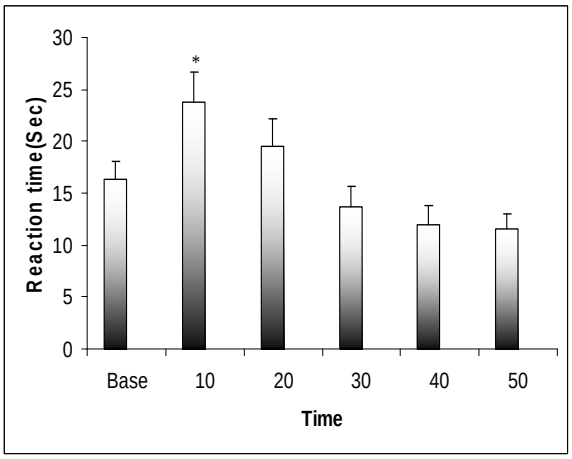
واکنش به درد در ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دقیقه بعد از تزریق مرفین اختلاف معنی‌داری ($P < ۰/۰۰۱$) با زمان پایه داشت. ۵۰ دقیقه بعد از تزریق مرفین، زمان تأخیر در پاسخ به درد تفاوت معنی‌داری با زمان پایه نداشت. نمودار ۱ نشان می‌دهد که مرفین سبب تأخیر در پاسخ به محرک دردناک شده است؛ اگرچه این اثر ۵۰ دقیقه بعد از تزریق مرفین از بین رفت.



نمودار ۱. مقایسه‌ی زمان پایه و زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ دقیقه بعد از تزریق مرفین (۵ mg/kg) در گروه شاهد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده و تعداد حیوان در این گروه ۱۰ سر بوده است.

***** $P < ۰/۰۰۱$ در مقایسه با زمان پایه.**

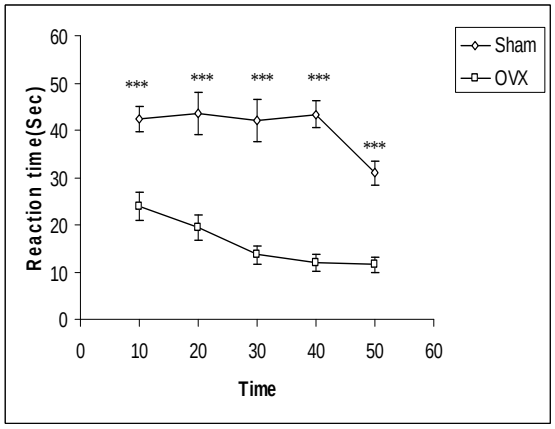
مقایسه‌ی زمان پایه و زمان‌های بعد از تزریق ۵ mg/kg مرفین در گروه اوارکتومی (OVX): نمودار ۲ زمان پایه و زمان تأخیر در پاسخ به درد را در گروه اوارکتومی (OVX) نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که زمان واکنش به درد بعد از تزریق ۵ mg/kg مرفین در ۱۰ دقیقه‌ی اول نسبت به زمان پایه افزایش معنی‌داری داشت ($P < ۰/۰۵$). در دقیقه‌ی ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰، زمان تأخیر در واکنش نسبت به درد تفاوت معنی‌داری با زمان پایه نداشت. این نمودار نشان می‌دهد که مرفین در موش‌های صحرایی اوارکتومی شده در ۱۰ دقیقه‌ی اول باعث تأخیر به محرک دردناک شده و در دقایق بعدی اثری نداشته است.



نمودار ۲. مقایسه‌ی زمان پایه و زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ دقیقه بعد از تزریق مرفین (۵ mg/kg) در گروه اوارکتومی (OVX). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده و تعداد حیوان در این گروه ۱۰ سر بوده است.

*** $P < ۰/۰۵$ در مقایسه با زمان پایه.**

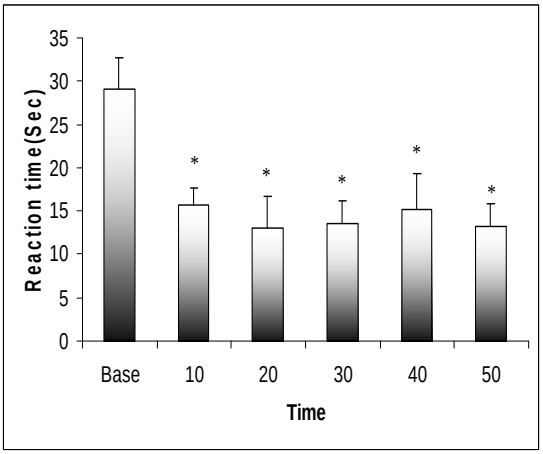
مقایسه‌ی زمان واکنش به درد در گروه شاهد (Sham) و گروه اوارکتومی (OVX): زمان تأخیر در واکنش نسبت به درد در زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ دقیقه بعد از تزریق ۵ mg/kg مرفین در گروه شاهد و اوارکتومی در نمودار ۳ نشان داده شده است. مقایسه‌ی مقادیر مربوط به ۲ گروه با استفاده از Repeated measure ANOVA و تست تعقیبی توکی نشان داد که زمان تأخیر در پاسخ به درد در گروه شاهد به میزان معنی‌داری بیشتر از گروه اوارکتومی بود ($P < ۰/۰۰۱$). نمودار نشان می‌دهد که پاسخ به درد در گروه شاهد پس از دریافت ۵ mg/kg مرفین نسبت به گروه اوارکتومی در سطح بالاتری قرار دارد. مرفین سبب تأخیر در پاسخ به محرک دردناک شده اما این پاسخ در موش‌های صحرایی سالم بیشتر بوده است.



نمودار ۳. مقایسه‌ی زمان واکنش به درد در گروه شاهد (Sham) و گروه اوارکتومی (OVX). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده و تعداد حیوان در این گروه ۱۰ سر بوده است.
***** P < ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه اوارکتومی**

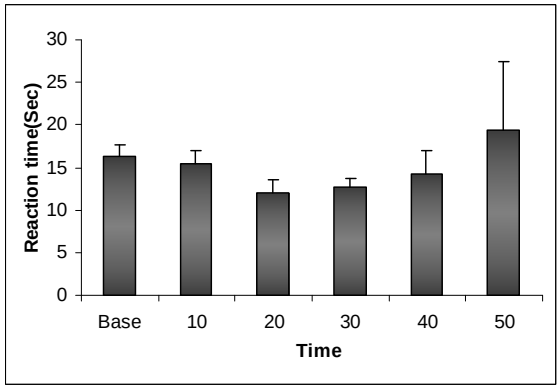
مقایسه‌ی زمان پایه و زمان‌های بعد از تزریق ۵ mg/kg مرفین در گروه شاهد- تحمل (Sham-Tol): همان طور که در نمودار ۴ نشان داده شده است، زمان پایه در گروه شاهد-تحمل، که در آن‌ها در طی ۴ روز با دریافت روزانه ۲۰ mg/kg مرفین تولرانس ایجاد شد، در روز ۵ قبل از دریافت ۵ mg/kg مرفین، ۳/۵۵ ± ۲۹/۰۸ ثانیه بود. در این گروه، زمان واکنش به درد ۱۰ دقیقه بعد از تزریق ۵ mg/kg مرفین به ۱/۹ ± ۱۵/۷۳ کاهش یافت و تفاوت معنی‌داری با زمان پایه داشت. زمان واکنش به درد در ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ دقیقه تفاوت معنی‌داری با زمان پایه داشت ($P < ۰/۰۵$). نمودار ۴ می‌تواند نشان دهنده‌ی تحمل به مرفین باشد.

مقایسه‌ی زمان پایه و زمان‌های بعد از تزریق ۵ mg/kg مرفین در گروه اوارکتومی-تحمل (OVX-Tol): همان طور که در نمودار ۵ مشاهده می‌شود، گروه اوارکتومی- تحمل، که در آن‌ها ۴ روز قبل از تست پایه، با تزریق ۲۰ میلی‌گرم مرفین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تحمل ایجاد شد، زمان پایه ۱/۴۱ ± ۱۶/۲۱ ثانیه بود. در این گروه زمان واکنش به درد در زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دقیقه بعد از تزریق ۵ mg/kg مرفین به ترتیب ۱/۶۵ ± ۱۵/۳۸، ۱/۴۷ ± ۱۲/۰۴، ۰/۹۸ ± ۱۲/۶۷ و ۲/۷۷ ± ۱۴/۲۵ ثانیه بود که تفاوت معنی‌داری با زمان پایه نداشت. ۵۰ دقیقه بعد از تزریق مرفین زمان تأخیر پاسخ به درد ۲/۴۹ ± ۳۰/۹۹ ثانیه بود که آن هم تفاوت معنی‌داری با زمان پایه نداشت. این نتیجه می‌تواند نشان دهنده‌ی ایجاد تحمل باشد.

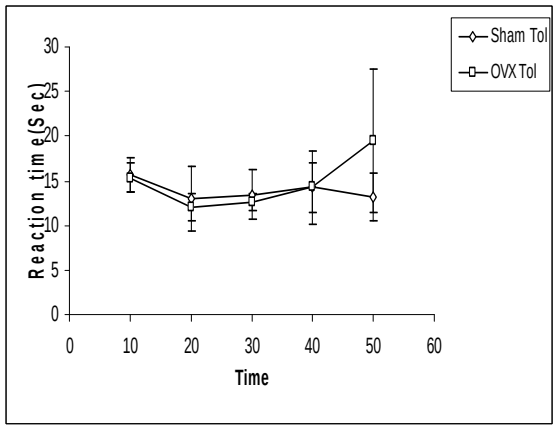


نمودار ۴. مقایسه‌ی زمان پایه و زمان‌های بعد از تزریق ۵ mg/kg مرفین در گروه شاهد-تحمل (Sham-Tol). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده و تعداد حیوان در این گروه ۱۰ سر بوده است.
*** P < ۰/۰۵ در مقایسه با زمان پایه.**

مقایسه‌ی زمان واکنش به درد در گروه شاهد- تحمل (Sham-Tol) و گروه اوارکتومی- تحمل (OVX-Tol): در نمودار ۶ نشان داده شده است که در گروه شاهد-تحمل زمان واکنش به درد در زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دقیقه بعد از تزریق ۵ mg/kg مرفین زمان تأخیر در پاسخ به درد در هر دو گروه، تفاوت معنی‌داری با هم ندارد.



نمودار ۵. مقایسه‌ی زمان پایه و زمان‌های بعد از تزریق ۵ mg/kg مرفین در گروه اوارکتومی- تحمل (OVX-Tol). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده و تعداد حیوان در این گروه ۱۰ سر بوده است.



نمودار ۶. مقایسه‌ی زمان واکنش به درد در گروه شاهد- تحمل (Sham-Tol) و گروه اوارکتومی- تحمل (OVX-Tol). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده و تعداد حیوان در این گروه ۱۰ سر بوده است.

بحث

در این مطالعه زمان تأخیر در واکنش به درد بعد از تزریق ۵ mg/kg مرفین در موش‌های سالم و تخمدان برداری شده با یکدیگر مقایسه شد. سپس زمان تأخیر در واکنش به درد در موش‌های سالم و تخمدان برداری شده که در آن‌ها نسبت به مرفین تحمل ایجاد شده بود نیز با یکدیگر مقایسه شد. همچنان که نمودار ۱ نشان می‌دهد مرفین سبب تأخیر در پاسخ به محرک دردناک شد. تزریق ۵ mg/kg مرفین در گروه شاهد باعث افزایش معنی‌دار زمان پاسخ به محرک دردناک در زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دقیقه بعد از تزریق، نسبت به زمان پایه شد؛ اگرچه این اثر، ۵۰ دقیقه بعد از تزریق مرفین کاهش یافت.

اثر ضد درد مرفین ناشی از باند شدن مرفین به گیرنده‌های اپیوئیدی در مناطقی از مغز از قبیل تالاموس، ساقه‌ی مغزی و نخاع که در مسیر درد قرار دارند، می‌باشد؛ متصل شدن مرفین به این مناطق در مسیر درد منجر به اثرات ضد دردی یا آنالژزی می‌شود. بسیاری از محققین معتقدند که مرفین (با دوز ۵ mg/kg) از طریق مهار آنزیم آدنیلات اثر ضد دردی را ایجاد می‌کند (۲۳-۲۲).

نمودار ۲ نشان می‌دهد که تزریق مرفین در گروه اوارکتومی نیز باعث افزایش زمان پاسخ به درد شده است اما بر خلاف گروه شاهد این اثر فقط در ۱۰ دقیقه‌ی اول پس از تزریق مرفین نشان داده شده و در زمان‌های دیگر اثر ضد دردی آن کاهش یافته است.

نمودار ۳ مقایسه‌ی زمان واکنش به درد در گروه شاهد و گروه اوارکتومی را نشان می‌دهد. زمان تأخیر در پاسخ به درد در گروه شاهد به میزان معنی‌داری بیشتر از گروه اوارکتومی بود. Fillingim و همکاران نشان دادند که هورمون‌های جنسی بر روی درد و پاسخ‌های ضد دردی تأثیر می‌گذارند (۶). ارتباط بین استروژن و درد به وسیله‌ی محققین نشان داده شده است. وجود گیرنده‌های استروژن و پروژسترون در مناطقی از مغز که در حساسیت درد دخیل هستند و وجود mRNAی گیرنده‌های استروژن در لایه‌های ۱ و ۲ نخاع، که در انتقال درد دخیل هستند، نشان داده شده است (۶). مطالعات نشان می‌دهد مناطقی از نواحی دور

قنات خاکستری (PAG) و طناب نخاعی که رسپتورهای اوپیوئیدی وجود دارند، گیرنده‌های هورمون‌های استروئیدی جنسی (از جمله استروژن) نیز وجود دارد (۲۴).

در بعضی از مطالعات گزارش شده که در موش‌های صحرایی اوارکتومی شده، پاسخ‌های ضد دردی مرفین افزایش یافته است (۲۶-۲۵). Terner و همکاران نشان دادند که اثر ضد دردی مرفین به دنبال حذف تخمدان‌ها نسبت به گروه شاهد افزایش می‌یابد (۱۶). البته این محققین یک ماه بعد از حذف تخمدان‌ها اثر ضد دردی مرفین را در موش‌های صحرایی نژاد F344 بررسی کردند که می‌تواند دلیل تفاوت با نتایج مطالعه‌ی حاضر باشد؛ چرا که مطالعه‌ی حاضر ۸ هفته بعد از اوارکتومی و در نژاد ویستار انجام شده است. بعضی از محققین نیز کاهش در پاسخ ضد دردی اوپیوئیدها به دنبال حذف تخمدان‌ها را گزارش کرده‌اند. Banerjee و همکاران نشان دادند که حذف تخمدان‌ها اثرات ضد دردی مرفین را کاهش می‌دهد و تزریق استرادیول اثری بر آن ندارد (۲۷). این در حالی است که Craft و همکاران نشان دادند که اثر استروژن بر پاسخ ضد دردی به مورفین به صورت وابسته به دوز بوده، در دوزهایی که قادر به تغییر رفتار جنسی می‌باشد، دیده می‌شود (۱۷). بعضی از محققین نیز آن را بی‌اثر دانستند (۱۸). این محققین DAMGO، یعنی آگونیست اختصاصی گیرنده‌ی μ را به صورت مرکزی استفاده کردند. علت کاهش اثر ضد دردی مرفین که در این مطالعه در موش‌های اوارکتومی شده در مقایسه با گروه شاهد مشاهد شد و در مطالعات دیگر نیز نشان داده شده است، می‌تواند ناشی از ارتباط بین هورمون‌های استرویيدی و اثرات ضد دردی مرفین باشد (۸). البته کاهش آستانه‌ی درد بعد از حذف تخمدان‌ها، که به وسیله‌ی محققین دیگر گزارش شده است (۲۷) و در این آزمایش نیز با مقایسه‌ی زمان پایه بین دو گروه شاهد و اوارکتومی تأیید می‌شود، نباید از نظر دور بماند. در دو مطالعه‌ی دیگر Forman و همکاران (۲۸) و Kepler و همکاران (۲۹) نشان دادند که اوارکتومی زمان واکنش به محرک دردناک را در تست صفحه‌ی داغ کاهش می‌دهد که نشان دهنده‌ی کاهش آستانه‌ی درد می‌باشد و درمان با استرادیول آن را به مقدار طبیعی بر می‌گرداند. نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز نشان داد که حذف تخمدان‌ها آستانه‌ی درد را کاهش می‌دهد؛ چرا که زمان پایه در گروه شاهد به میزان معنی‌داری از گروه اوارکتومی بیشتر بود. مطالعات دیگری نیز وجود دارند که این مطلب را تأیید نکرده‌اند (۲۶). Mogil و همکاران نشان دادند که حذف بیضه‌های موش سوری نر و حذف تخمدان‌های موش سوری ماده هیچ اثری در زمان واکنش به محرک حرارتی در تست صفحه‌ی داغ ندارد (۵). دلیل تفاوت نتایج این مطالعات می‌تواند به خاطر تفاوت در حیوان استفاده شده یا سن حذف تخمدان‌ها باشد. همچنین متغیرهای متعددی از قبیل نوع اوپیوئید، شدت محرک استفاده شده و گونه‌ی حیوانی مورد آزمایش ممکن است در شدت تفاوت وابسته به جنس در پاسخ به اثرات ضد دردی اوپیوئیدها نقش داشته باشد (۳۰، ۱۴). بعضی از محققین معتقدند که اثر گنادکتومی حیوان بر اثر ضد دردی به سن حیوان و دوز اوپیوئید بستگی دارد (۱۶، ۸، ۵).

شواهد نشان می‌دهد که استروژن همچنین بر رسپتورهایی که در فرایند درد شرکت می‌کنند، مانند رسپتور B_2 برادی‌کینین، و به احتمال زیاد بر آورانهای درد اثر می‌گذارند (۲۴). در نورون‌های هیپوتالاموسی

نشان داده شده است که استرادیول توانایی رسپتور اوپیوئیدی μ را در فعال کردن مسیر سیگنالینگ داخل سلولی کاهش می‌دهد (۲۵). تحقیقات دیگر نشان داده است که موادی که گیرنده‌ی استروژنی بتا را تحریک می‌کند، باعث تسکین درد نیز می‌شود. بنابراین به نظر می‌رسد که استروژن‌ها بسیاری از مناطق سیستم عصبی دخیل در درد را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

مطالعات انسانی که توسط Miaskowski و همکاران انجام گرفت نشان داد که در جنس ماده، اثر ضد دردی اوپیوئیدی قوی‌تر از جنس نر است (۳۱). Miaskowski و همکاران (۳۱) و Erin و همکاران (۸) پیشنهاد کردند که ممکن است مکان‌هایی در سیستم عصبی مرکزی، به خصوص در مسیر نزولی مهار درد، وجود داشته باشد که هورمون‌های جنسی می‌توانند مانند اوپیوئیدها درد را تعدیل کنند.

نمودار ۴ نشان می‌دهد که زمان واکنش به درد بعد از تزریق مرفین در گروه شاهد– تحمل کمتر از زمان پایه می‌باشد که مؤید این مطلب است که تزریق ۲۰ mg/kg مرفین در طی ۴ روز سبب ایجاد تحمل به مرفین در موش‌های صحرایی سالم شده است. این یافته مطابق با نتایج دیگران است که با استفاده از تزریق مرفین به همین روش و با همین دوز تحمل (تولرانس) ایجاد کرده بودند (۲۱). تزریق مکرر مرفین سبب ایجاد تحمل به اثرات ضد دردی این دارو و حتی هیپرالژی می‌شود (۳۲). تحمل پس از مصرف مکرر دارو، باعث می‌شود که نیاز به میزان بیشتری از دارو برای رسیدن به همان تأثیرات اولیه احساس شود (۳۳) و این یکی از مشکلاتی است که استفاده از داروهای اوپیوئیدی و از جمله مرفین را به عنوان داروی ضد درد مؤثر محدود می‌کند (۳۴). تحمل به داروها ممکن است به وسیله‌ی مکانیسم‌های مختلفی ایجاد شود اما در مورد مرفین یا هروئین تحمل در سطح سلول هدف ایجاد می‌شود؛ برای مثال، وقتی مرفین به رسپتورهای اوپیوئیدی متصل شد، مهار آنزیم ادنیلات سیکلاز را راه اندازی می‌کند که مکانیسم‌های متعددی را هماهنگ و از شلیک و صدور ایمپالس‌ها جلوگیری می‌کند. بعد از فعال شدن مکرر رسپتورهای اوپیوئیدی به وسیله‌ی مرفین، آنزیم به قدری آداپته می‌شود که مرفین نمی‌تواند موجب تغییرات طولانی در شلیک ایمپالس‌های سلولی شود. بنابراین اثر دوز معین مرفین کاهش می‌یابد. اغلب تحمل نسبت به اپیوئیدها به سرعت ایجاد می‌شود. تحمل برای همه‌ی انواع اپیوئیدها رخ می‌دهد و شدت آن به میزان و تکرار مصرف بستگی دارد. همان طور که نمودار ۳ نشان می‌دهد، تفاوت معنی‌داری بین زمان پایه و زمان‌های بعد از تزریق مرفین در گروه اوارکتومی– تحمل نیز وجود نداشت که نشان دهنده‌ی ایجاد تحمل می‌باشد. نکته‌ی جالب توجه این که تفاوت معنی‌داری بین دو گروه شاهد– تحمل و اورکتومی– تحمل وجود نداشت. نتایج اغلب مطالعات بیانگر این مطلب است که میزان تحمل به مرفین بین دو جنس متفاوت است؛ این تفاوت ممکن است به دلیل وجود سیستم‌های متعدد هیپرالژزیک باشد (۳۵، ۳۲). بدین صورت که تحمل به مرفین در جنس مؤنث از جنس مذکر بیشتر است (۳۵)؛ در صورتی که برخی مطالعات دیگر عکس این نتیجه را ارائه می‌دهند و در آزمایش آن‌ها موش‌های صحرایی نر تحمل بیشتری نشان داده‌اند (۱۸–۱۷). از نتایج Cicinelli و همکاران می‌توان استنباط کرد که هورمون‌های جنسی زنانه میزان تحمل به مرفین را کاهش می‌دهد و حذف این هورمون‌ها به دنبال اوارکتومی می‌تواند تحمل به مرفین را کاهش دهد

(۳۶). اگرچه این مطلب به وسیله‌ی نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر تأیید نشد و تحمل در حضور و عدم حضور تخمدان‌ها تفاوت نداشت.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از جناب آقای دکتر علایی استاد نوروفیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که داروی مرفین را برای انجام این تحقیق اهدا نمودند و از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد به دلیل تأمین هزینه‌ی این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. McEwen BS, Alves SE. Estrogen actions in the central nervous system. Endocr Rev 1999; 20(3): 279-307.
2. Belcher SM, Zsarnovszky A. Estrogenic actions in the brain: estrogen, phytoestrogens, and rapid intracellular signaling mechanisms. J Pharmacol Exp Ther 2001; 299(2): 408-14.
3. Belcher SM. Rapid signaling mechanisms of estrogens in the developing cerebellum. Brain Res Rev 2008; 57(2): 481-92.
4. Amandusson A, Hermanson O, Blomqvist A. Colocalization of oestrogen receptor immunoreactivity and preproenkephalin mRNA expression to neurons in the superficial laminae of the spinal and medullary dorsal horn of rats. Eur J Neurosci 1996; 8(11): 2440-5.
5. Mogil JS, Sternberg WF, Kest B, Marek P, Liebeskind JC. Sex differences in the antagonism of swim stress-induced analgesia: effects of gonadectomy and estrogen replacement. Pain 1993; 53(1):17-25.
6. Fillingim RB, Ness TJ. Sex-related hormonal influences on pain and analgesic responses. Neurosci Biobehav Rev 2000; 24(4): 485-501.
7. Craft RM. Sex differences in opioid analgesia: "from mouse to man". Clin J Pain 2003; 19(3): 175-86.
8. Stoffel EC, Ulibarri CM, Craft RM. Gonadal steroid hormone modulation of nociception, morphine antinociception and reproductive indices in male and female rats. Pain 2003; 103(3): 285-302.
9. Fundytus ME, Coderre TJ. Effect of activity at metabotropic, as well as ionotropic (NMDA), glutamate receptors on morphine dependence. Br J Pharmacol 1994; 113(4): 1215-20.
10. Meller ST, Gebhart GF. Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord. Pain 1993; 52(2): 127-36.
11. Koppenol WH, Traynham JG. Say NO to nitric oxide: nomenclature for nitrogen- and oxygen-containing compounds. Methods Enzymol 1996; 268: 3-7.
12. Xu H, Gouras GK, Greenfield JP, Vincent B, Naslund J, Mazzarelli L, et al. Estrogen reduces neuronal generation of Alzheimer beta-amyloid peptides. Nat Med 1998; 4(4): 447-51.
13. Giamberardino MA, Affaitati G, Valente R, Iezzi S, Vecchiet L. Changes in visceral pain reactivity as a function of estrous cycle in female rats with artificial ureteral calculosis. Brain Res 1997; 774(1-2): 234-8.
14. Homayoun H, Khavandgar S, Namiranian K, Dehpour AR. The effect of cyclosporin A on morphine tolerance and dependence: involvement of L-arginine/nitric oxide pathway. Eur J Pharmacol 2002; 452(1): 67-75.
15. Islam AK, Cooper ML, Bodnar RJ. Interactions among aging, gender, and gonadectomy effects upon morphine antinociception in rats. Physiol Behav 1993; 54(1): 45-53.
16. Terner JM, Barrett AC, Grossell E, Picker MJ. Influence of gonadectomy on the antinociceptive effects of opioids in male and female rats. Psychopharmacology (Berl) 2002; 163(2): 183-93.
17. Craft RM, Ulibarri C, Leitl MD, Sumner JE. Dose- and time-dependent estradiol modulation of morphine antinociception in adult female rats. Eur J Pain 2008; 12(4): 472-9.
18. Cicero TJ, Nock B, Meyer ER. Gender-related differences in the antinociceptive properties of morphine. J Pharmacol Exp Ther 1996; 279(2): 767-73.
19. Kiefel JM, Bodnar RJ. Roles of gender and gonadectomy in pilocarpine and clonidine analgesia in rats. Pharmacol Biochem Behav 1992; 41(1): 153-8.
20. Hosseini M, Sharifi MR, Alaei H, Shafei MN, Karimooy HA. Effects of angiotensin II and captopril on rewarding properties of morphine. Indian J Exp Biol 2007; 45(9): 770-7.
21. Davoodi F, Javan M, Ahmadiani A. The Effect of Morphine Tolerance Development and the Possible Role of Nitric Oxide in this Process. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 2005; 4: 167-73.

22. Harrison LM, Kastin AJ, Zadina JE. Opiate tolerance and dependence: receptors, G-proteins, and antiopiates. Peptides 1998; 19(9): 1603-30.

23. Tang LC, Cotzias GC. Morphine sulfate stimulates the adenylate cyclase in mouse caudate nuclei. Proc Natl Acad Sci U S 1978; 75(3): 1546-8.

24. Greene RA. Measurement of estrogen's effects on the brain using modern imaging techniques. Menopausal Med 1999; 7(4): 9-12.

25. Kelly MJ, Lagrange AH, Wagner EJ, Ronnekleiv OK. Rapid effects of estrogen to modulate G protein-coupled receptors via activation of protein kinase A and protein kinase C pathways. Steroids 1999; 64(1-2): 64-75.

26. Beatty WW, Fessler RG. Gonadectomy and sensitivity to electric shock in the rat. Physiol Behav 1977; 19(1): 1-6.

27. Banerjee P, Chatterjee TK, Ghosh JJ. Ovarian steroids and modulation of morphine-induced analgesia and catalepsy in female rats. Eur J Pharmacol 1983; 96(3-4):291-294.

28. Forman LJ, Tingle V, Estilow S, Cater J. The response to analgesia testing is affected by gonadal steroids in the rat. Life Sci 1989; 45(5): 447-54.

29. Kepler KL, Kest B, Kiefel JM, Cooper ML, Bodnar RJ. Roles of gender, gonadectomy and estrous phase in the analgesic effects of intracerebroventricular morphine in rats. Pharmacol Bi ochem Behav 1989; 34(1): 119-27.

30. Kest B, Wilson SG, Mogil JS. Sex differences in supraspinal morphine analgesia are dependent on genotype. J Pharmacol Exp Ther 1999; 289(3): 1370-5.

31. Miaskowski C, Levine JD. Does opioid analgesia show a gender preference for females? Pain Forum 1999; 8: 34-44.

32. Juni A, Klein G, Kowalczyk B, Ragnauth A, Kest B. Sex differences in hyperalgesia during morphine infusion: effect of gonadectomy and estrogen treatment. Neuropharmacology 2008; 54(8): 1264-70.

33. Acheson A, Waraczynski M, Perkins M. Lesions and inactivation implicate dorsolateral hindbrain in MFB self-stimulation. Physiol Behav 2000; 71(1-2): 159-171.

34. Hess RA, Bunick D, Lee KH, Bahr J, Taylor JA, Korach KS et al. A role for oestrogens in the male reproductive system. Nature 1997; 390(6659): 509-512.

35. Holtman JR, Jr., Sloan JW, Wala EP. Morphine tolerance in male and female rats. Pharmacol Biochem Behav 2004; 77(3): 517-523.

36. Cicinelli E, Ignarro LJ, Schonauer LM, Matteo MG, Galantino P, Balzano G. Effects of short-term transdermal estradiol administration on plasma levels of nitric oxide in postmenopausal women. Fertil Steril 1998; 69(1): 58-61.

Journal of Isfahan Medical School **Original Article**

Vol 28, No 107, July 2010 Received: 13.5.2009 Accepted: 19.1.2010

The Difference of Analgesic Effect and Tolerance to Morphine between Ovariectomized and Intact Female Rats

Sayed Mahmood Hosseiny[1], Reza Karami[2], Zahra Gholamnejad[1], Efat Khoshnoud[1]

Abstract

Background: Estrogens have numerous non-reproductive neurobiological effects on the brain through the nuclear hormone receptor activities of intracellular ERα and ERβ. Some of these receptors involve in pain modulation and conduction. In the present study, the morphine tolerance and its analgesic effect in ovariectomized (OVX) rats was investigatedy.

Methods: Fourty female rats were divided into 4 groups: Sham, OVX, Sham-Tolerance, and OVX-Tolerance. Eight weeks after surgery, morphine tolerance was induced by daily injection of 20 mg/kg morphine during 4 consecutive days in animals of groups 3 and 4. Animals of groups 1 and 2 were simultaneously treated with 1 ml/kg saline, respectively. Hotplate test was carried out in 5th day as a base record, then the animals received 5 mg/kg morphine and antinociceptive effect was evaluated every 10 minutes.

Findings: The reaction times after morphine (5 mg/kg) injection was higher than base time in sham and OVX groups but there was not difference in OVX-Tolerance and Sham-Tolerance. However the reaction time after injection of morphine (5 mg/kg) in sham group was higher than OVX group and there was not difference between Sham- Tolerance and OVX-Tolerance.

Conclusion: The result showed that repeated administration of morphine can lead to tolerance. However there were not difference between tolerance in the presence and absence of female gonadal hormones.

Keywords: Rat, Ovariectomized, Pain, Tolerance.

[1] Department of Physiology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
[2] Medical Student, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
Corresponding Author: Sayed Mahmood Hosseiny, Email: mhosseini49@yahoo.com