

اثر تزریق حاد کافئین بر هیپرآلژزیا و آلوداینیای ناشی از درد نوروپاتیک در موش صحرایی

منیره نادری تهرانی (M.Sc)، اژدر حیدری (Ph.D)، سعیده نصرالهی (M.Sc)، زهرا اسماعیلی (M.Sc)، غلامعلی حمیدی* (Ph.D)

مرکز تحقیقات فیزیولوژی، پژوهشکده علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۲۱

hamiidi@yahoo.com

۰۹۱۳۱۶۳۱۶۸۵

* نویسنده مسئول، تلفن:

چکیده

هدف: آسیب به سیستم عصبی مرکزی و محیطی سبب ایجاد درد نوروپاتیک می‌شود. کافئین آلکالوئیدی گیاهی و آنتاگونیست غیر اختصاصی گیرنده‌های A1, A2a, A2b آدنوزین است. گزارش شده است که تزریق کافئین آستانه‌ی درد را افزایش داده و اثر محافظتی بر درد دارد. در این مطالعه اثر دریافت کافئین بر پاسخ‌های رفتاری درد نوروپاتیک در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: مطالعه‌ی حاضر بر روی ۵۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۲۵۰-۲۲۰ گرم انجام شد، درد نوروپاتیک به روش CCI Chronic constriction injury (CCI) القاء شد. حیوانات به صورت تصادفی به ۷ گروه (n=۸) تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه شم، گروه CCI، گروه سالین + CCI و گروه‌های آزمایش CCI که دوزهای ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین را به صورت حاد داخل صفاقی دریافت کردند. هیپرآلژزیای حرارتی، آلوداینیای مکانیکی و حرارتی در روزهای ۲۸، ۲۱، ۱۴، ۷، ۴، پس از جراحی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: موش‌های نوروپاتیک کاهش در آستانه‌ی درد را نشان دادند دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین به طور معنی‌داری آلوداینیای حرارتی را افزایش داد. دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آن، هیپرآلژزیای حرارتی و آلوداینیای مکانیکی به طور معنی‌داری کاهش داد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که اثرات کافئین روی درد وابسته به دوز می‌باشد. احتمالاً مهار گیرنده‌ی A1 آدنوزین در اثر تشدیدکننده‌ی درد و مهار گیرنده‌های A2a و A2b آدنوزین در اثر حفاظتی کافئین بر درد دخالت دارد.

واژه‌های کلیدی: درد نوروپاتیک، هیپرآلژزیا، آلوداینیا، کافئین، موش‌های صحرایی نژاد ویستار

مقدمه

محرک‌های غیر آسیب‌رسان تظاهر پیدا می‌کند [۲]. به علت مکانیسم‌ها و عوامل مختلفی که در این بیماری دخیل هستند درمان‌های دارویی حاضر اثربخشی مناسبی بر این نوع درد ندارند و گسترش مطالعات در این زمینه امری ضروری به نظر می‌رسد.

کافئین (۱، ۳، ۷ تری متیل گزانتین) آلکالوئیدی گیاهی متعلق به خانواده‌ی آلکالوئیدهای پورینی است که یکی از رایج‌ترین ترکیبات محرک سیستم عصبی است و ترکیب اصلی قهوه، چای و نوشیدنی‌های انرژی‌زا است، مقدار کافئین موجود در یک قوطی از این نوشابه‌ها به ۷۰ تا ۸۰ میلی‌گرم می‌رسد که حدود سه برابر کافئین موجود در نوشابه‌های گازدار محتوی کولا است. در کشورهای توسعه‌یافته در حدود ۹۰ درصد افراد روزانه کافئین مصرف می‌کنند و مصرف روزانه‌ی آن به ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر شخص می‌رسد [۳]. اثرات سودمند کافئین در پیشگیری از بیماری‌هایی همچون آلزایمر و پارکینسون با محافظت از

درد نوروپاتیک نوعی درد مزمن است که در اثر آسیب به سیستم عصبی مرکزی و محیطی به وجود می‌آید، آسیب‌های نخاعی و مغزی، بیماری‌های متابولیک از جمله دیابت و بیماری ایدز از جمله عوامل ایجادکننده‌ی این بیماری است و میزان شیوع تقریبی ۸ تا ۱/۵ درصد را در جهان دارد [۱]. در هنگام آسیب به بافت عصبی تحریک‌پذیری نورونی و ترشح ترکیبات التهابی مختلف هم‌چون نوروترانسمیترهای مختلف، سیتوکاین‌ها، اسیدآمینهای گلوتامات و نیتریک اکسید در بافت عصبی آسیب‌دیده افزایش می‌یابد و با ایجاد حساس‌شدگی مرکزی و محیطی منجر به ایجاد تغییراتی مزمن در فیبرهای حسی درد می‌شود، مجموعه‌ی این تغییرات سبب ایجاد دو پدیده‌ی هیپرآلژزیا و آلوداینیا می‌شود که به ترتیب به صورت افزایش حساسیت به محرک‌های آسیب‌رسان و افزایش حساسیت به

مطالعه‌ی حاضر به منظور بررسی اثر تجویز حاد غلظت‌های مختلف کافئین بر درد نوروپاتی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

حیوانات

این مطالعه به روش تجربی بر روی ۵۶ سر موش صحرانی نر بالغ نژاد Wistar در محدوده‌ی وزنی ۲۵۰-۲۲۰ گرم انجام شد، حیوانات در قفس‌های چهارتایی نگهداری می‌شدند، آب و غذا به صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار می‌گرفت و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی- تاریکی با درجه حرارت 23 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند [۱۷]. کلیه‌ی حیوانات از مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان تهیه شدند و همه‌ی مراحل آزمایش شامل تکثیر، انجام آزمایش و معدوم کردن حیوانات مطابق با قوانین کار با حیوانات آزمایشگاهی و اصول مصوب کمیته‌ی اخلاق معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان و با کد اخلاق (IR.KAUMS.MEDNT.REC.1397.040) صورت گرفت. محدودیت‌های مطالعه شامل مرگ و میر محدود حیوانات در حین جراحی بود که با حیوانات جدید جایگزین می‌شد.

گروه‌بندی

حیوانات به صورت تصادفی به ۷ گروه ($n=8$) تقسیم شدند: ۱. گروه کنترل (Naive) که مداخله‌ای در عصب سیاتیک آن‌ها صورت نگرفت، ۲. گروه شم (Sham) که در این گروه حیوانات جراحی شده، پوست و عضله در ناحیه بالای ران برش داده شد و پس از نمایان شدن عصب سیاتیک پوست و عضله بدون دست‌کاری عصب با نخ نایلون ۰-۴ بخیه زده شد، ۳. گروه CCI که حیوانات آن جراحی شده و عصب سیاتیک به وسیله‌ی چهار گره تحت فشار مزمن قرار گرفت، ۴. گروه CCI و دریافت‌کننده‌ی سالیین که حلال کافئین (نرمال سالیین) را ۳۰ دقیقه قبل از انجام تست‌های رفتاری دریافت می‌کردند، ۵. گروه‌های آزمایش CCI که غلظت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین (سیگما، آمریکا) را به صورت حاد داخل صفاقی ۳۰ دقیقه قبل از انجام تست‌های رفتاری در روزهای ۴، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸ پس از جراحی دریافت می‌کردند [۱۲، ۱۶، ۱۷].

انجام جراحی

جهت ایجاد مدل (Chronic constriction injury) CCI از روش Bennett و Xie استفاده گردید، بعد از بی‌هوشی کامل حیوان با استفاده از کتامین ۵۰ mg/kg و گزپولوزین ۱۰ mg/kg موهای بالا و پشت ران حیوان کاملاً تراشیده و با استفاده از تیغ بیستوری شکافی به طول ۲ سانتی‌متر بر روی ران پای چپ حیوان ایجاد گردید، پس از بریدن عضلات، قسمت مشترک سه شاخه عصب سیاتیک نمایان شد، سپس با استفاده از ۲ میله

سلول‌های عصبی در مطالعاتی تأیید شده است، هم‌چنین در بهبود فعالیت بدنی، عملکرد شناختی و افزایش هوشیاری نیز مؤثر است [۴]. کافئین اثرات فارماکولوژیک متعددی دارد و مهم‌ترین اثر بیولوژیک آن مهار گیرنده‌های A1 و A2a, A2b آدنوزین در سیستم عصبی مرکزی است [۵]. کافئین آنتاگونیست غیر اختصاصی گیرنده‌های A1 و A2a آدنوزین است، که خود محصول تجزیه‌ی AMP (آدنوزین -۵- مونوفسفات) است و به عنوان یک تعدیل‌کننده‌ی عصبی دارای چهار گیرنده‌ی A1, A2a, A2b, A3 است [۶]. آدنوزین به عنوان یک ترکیب ضد درد با منشأ داخلی عمل می‌کند، به این ترتیب که در غلظت‌های پائین در حد نانومولار با اثر بر گیرنده‌های A1 منجر به کاهش درد می‌شود و در غلظت‌های بالاتر با اثر بر گیرنده‌های A2a و A1 هر دو اثر افزایش‌دهنده و کاهنده‌ی درد را نشان می‌دهد [۷]. گیرنده‌های A1 و A2 در نورون‌های پس‌سیناپسی لایه‌های سطحی شاخ خلفی نخاع، در (Dorsal root ganglion) DRG و به صورت محیطی نیز در سلول‌های گلیال و سلول‌های ایمنی حضور دارند [۸]. مطالعات مختلفی نیز در رابطه با اثرات کافئین بر درد انجام گرفته است، برخی از مطالعات انسانی و حیوانی پیشنهاد می‌کنند که کافئین می‌تواند در برخی از دوزها یک ترکیب ضد درد باشد [۹، ۱۰]. در برخی مطالعات حیوانی نشان داده شده است که تجویز حاد دوزهای ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین سبب بهبود کامل آلوداینیای مکانیکی شده است و مصرف مزمن غلظت‌های ۶۱ و ۲۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه‌ی کافئین به مدت ۱۴ روز به صورت خوراکی در آب آشامیدنی تأثیری بر پیشرفت و تشدید هیپرالژزیای حرارتی نداشته است [۱۱]. از سوی دیگر برخی مطالعات حیوانی و انسانی نشان داده‌اند که تجویز حاد کافئین در دوزهای ۵، ۷ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به تنهایی و در ترکیب با برخی از داروهای ضد درد سبب کاهش آستانه‌ی درد و کاهش اثربخشی ضد دردی داروهائی هم‌چون آمی‌تریپتیلین، کاربامازپین و ونلافاکسین می‌شود [۱۲، ۱۳]. این اثرات متناقض کافئین تا حدی می‌تواند به اثرات آن بر گیرنده‌های آدنوزینی به خصوص گیرنده‌های A1 و A2a, A2b آدنوزین مربوط باشد [۱۴]. گیرنده‌ی A1 گیرنده‌ای مهاری است و تحریک آن احتمالاً توسط کاهش سطح cAMP (آدنوزین مونوفسفات حلقوی)، کاهش ترشح سیتوکین‌ها و نوروترانسمیترهای تحریکی سبب کاهش درد می‌شود در حالی‌که گیرنده‌ی A2a, A2b یک گیرنده‌ی تحریکی است و تحریک آن در اغلب موارد سبب تشدید درد می‌شود [۱۵، ۱۶]. با توجه به اثرات متناقض کافئین بر درد نوروپاتی و با توجه به پیچیدگی مکانیسم‌های دخیل در درد نوروپاتی

به منظور ارزیابی حساسیت حیوان به آلودینای حرارتی از پاشیدن استون به کف پا بر اساس روش Choi و همکاران استفاده شد، در این تست حیوانات بر روی شبکه‌های سیمی قرار می‌گرفتند و مقدار ۲۵۰ میکرولیتر استون به‌وسیله‌ی سرنگ انسولین به کف پای چپ حیوان پاشیده می‌شد. این کار در روز تست ۵ مرتبه و به فاصله‌ی ۳ تا ۵ دقیقه تکرار می‌شد، تکرار عقب کشیدن پا به صورت درصد گزارش می‌شد، این تست به نحوی انجام می‌گرفت که حرکت پا ناشی از فشار وارده بر پا بر اثر پاشیدن استون نباشد. پاسخ نتایج ما به صورت تعداد پاسخ مثبت (عقب کشیدن پا) تقسیم بر تعداد تحریکات ضرب در ۱۰۰ گزارش می‌شد [۲].

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شد، پس از بررسی توزیع نرمال داده‌های آماری از آزمون واریانس دوطرفه تکراری و تست تعقیبی توکی جهت مقایسه‌ی گروه‌ها استفاده شد. در تمام گروه‌ها معنی‌داری در سطح $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

بررسی هیپراآلژزیای حرارتی (Radiant heat plantar test)
طبق نتایج به‌دست آمده از آزمون واریانس دو طرفه تکراری و آزمون تعقیبی توکی میانگین آستانه‌ی درد نوروپاتیک (زمان عقب کشیدن پا) در گروه شم نسبت به گروه دست‌نخورده ($P = 0.01$) تفاوت معنی‌داری نداشت، در گروه CCI نسبت به گروه شم آستانه‌ی درد کاهش پیدا کرد و در روزهای ۲۸، ۲۱، ۱۴، ۷، ۴، ۲ و ۱ ($P = 0.0001$) و ۱۴ ($P = 0.001$) تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت، میانگین آستانه‌ی درد در گروه CCI و دریافت‌کننده‌ی نرمال سالین نسبت به گروه CCI ($P = 0.03$)، تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۱).

بررسی آلودینای مکانیکی (von-Frey Test)

میانگین آستانه‌ی درد نوروپاتیک (آستانه‌ی عقب کشیدن پا) در گروه شم نسبت به گروه دست‌نخورده ($P = 1$) تفاوت معنی‌داری نداشت، در گروه CCI نسبت به گروه شم آستانه‌ی درد کاهش پیدا کرد و در روزهای ۲۱ ($P = 0.003$) و ۲۸ ($P = 0.007$) تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت، میانگین آستانه‌ی درد در گروه CCI و دریافت‌کننده‌ی نرمال سالین نسبت به گروه CCI ($P = 0.07$)، تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۲)

کوچک شیشه‌ای بافت‌های اطراف عصب جدا و به‌وسیله‌ی نخ بخیه‌ی کرومیک ۰-۴ چهار گره‌ی شل به فواصل یک میلی‌متر قبل از سه شاخه شدن عصب زده شد، گره‌ها به شکلی زده شد که اختلالی در جریان خون عصب به‌وجود نیارد. سپس با استفاده از نخ بخیه ۰-۴ نایلون عضله و پوست به صورت جداگانه بسته شدند [۱۸].

ارزیابی‌های رفتاری درد نوروپاتیک

آزمایشات رفتاری بررسی هیپراآلژزیای و آلودینای در روزهای ۲۸، ۲۱، ۱۴، ۷، ۴ پس از جراحی انجام می‌گرفت. تزریق دارو (کافئین) و حلال دارو (نرمال سالین) ۳۰ دقیقه قبل از ارزیابی‌های رفتاری انجام می‌شد. تمامی آزمایشات در فاصله‌ی ساعت ۱۴-۹ و پس از عادت کردن حیوان به محیط آزمایش انجام می‌شد.

۱. بررسی هیپراآلژزیای حرارتی (Radiant Heat/ Plantar test)

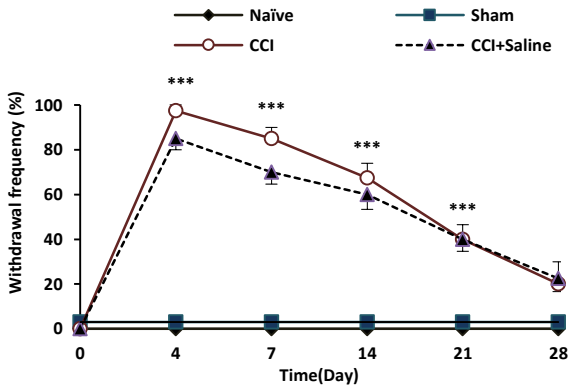
با استفاده از دستگاه (Plantar test (Ugo Bassil, Italy) و تاباندن اشعه‌ی مادون قرمز به کف پای چپ حیوان (پای آسیب‌دیده) میزان تحمل نسبت به محرک آسیب‌رسان حرارتی مورد سنجش قرار می‌گرفت. این آزمایش توسط Hargreaves و همکارانش معرفی شده است، بدین ترتیب که پس از شروع تحریک، با حرکت پای عقبی یا رفلکس زمان تأخیر عقب کشیدن پا (Paw Withdrawal Latency) (PWL) تابش نور قطع شده و تایمر دستگاه متوقف می‌شد، تحریکات حرارتی سه مرتبه و با فواصل ۳ تا ۵ دقیقه تکرار می‌شد، در صورتی‌که حیوان رفلکسی نشان نمی‌داد زمان پایان (Cut Off) آزمایش ۲۲ ثانیه منظور می‌شد [۱۹].

۲. بررسی آلودینای مکانیکی (von-Frey filament)

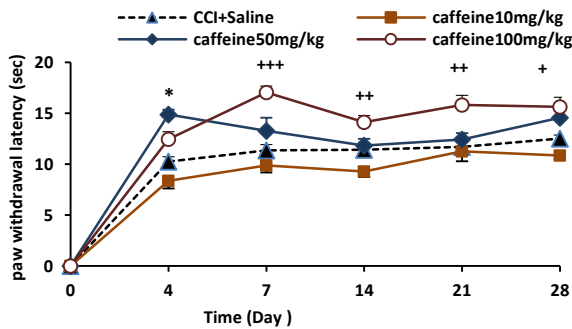
به منظور ارزیابی آلودینای مکانیکی از الیاف von-Frey در محدوده‌ی وزنی ۲ تا ۶۰ گرم، ساخت شرکت Stolting آمریکا استفاده شد. در این روش حیوانات بر روی یک شبکه‌ی سیمی و داخل یک محفظه‌ی پلاستیکی گلاسه‌ی شیشه‌ای به ابعاد ۲۰×۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر قرار می‌گرفتند و از تارهای مختلف با میزان نیروی ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۵، ۲۶، ۶۰ گرم جهت سنجش آلودینای مکانیکی استفاده می‌شد، هر تار سه مرتبه به مدت ۱ ثانیه و به فاصله‌ی ۵ ثانیه به کف پای چپ حیوان با فشار اندکی تماس داده می‌شد و در صورتی‌که حیوان در یکی از تارهای مورد استفاده دو مرتبه واکنش عقب کشیدن پا را نشان می‌داد آن تار به عنوان آستانه‌ی پاسخ در نظر گرفته می‌شد و در صورتی‌که حیوان به تار ۶۰ گرم هم پاسخ نمی‌داد تار ۶۰ گرم به عنوان آستانه‌ی پاسخ در نظر گرفته می‌شد [۱۹].

۳. بررسی آلودینای حرارتی (Acetone test)

($P=0/02$) تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت. نتایج حاصل از این آزمون نشان می‌دهد که کافئین در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب افزایش آستانه‌ی درد می‌شود و دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تأثیر بیشتری بر کاهش درد دارد، دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با وجود عدم معنی‌داری با گروه کنترل تمایل به کاهش آستانه‌ی درد را نشان می‌دهد. (شکل ۴).



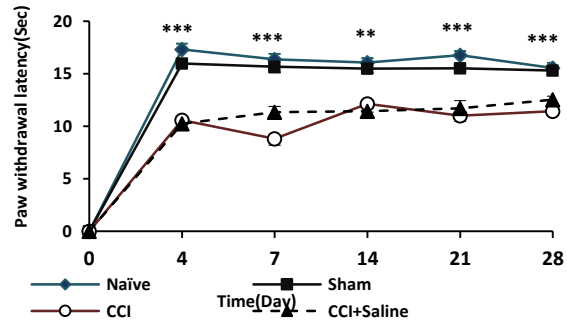
شکل ۳. مقایسه آلوداینیای حرارتی در گروه‌های کنترل، شام، CCI، CCI و دریافت کننده‌ی نرمال سالین. $P<0.001$ *** مقایسه‌ی گروه CCI با گروه شام ($p<0.05$, Mean \pm SEM, n=8).



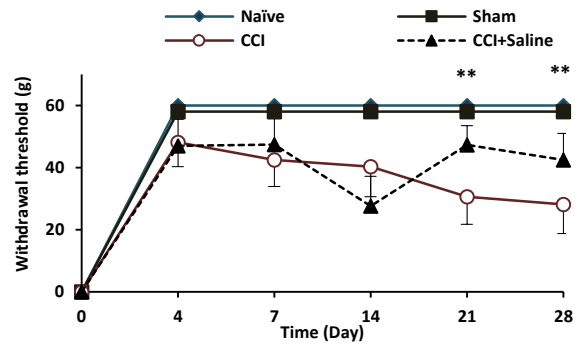
شکل ۴. اثر دریافت حاد غلظت‌های مختلف کافئین بر هیپرالژزیا حرارتی در مدل CCI. $P<0.05$ * مقایسه گروه کافئین ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل. $P<0.01$ ++ و $P<0.001$ +++ مقایسه‌ی گروه کافئین ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل ($p<0.05$, Mean \pm SEM, n=8).

اثر دریافت حاد غلظت‌های مختلف کافئین بر آلوداینیای مکانیکی در مدل CCI

میانگین آستانه‌ی درد نوروپاتیک در گروه کافئین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل سالین ($P=0/02$) تفاوت معنی‌داری نداشت، در گروه کافئین ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل سالین آستانه‌ی درد افزایش پیدا کرد و در روز ۱۴ ($P=0/0001$) تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت، در گروه کافئین ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل سالین آستانه‌ی درد افزایش پیدا کرد و در روز



شکل ۱. مقایسه هیپرالژزیا حرارتی در گروه‌های کنترل، شام، CCI، CCI و دریافت کننده‌ی نرمال سالین. $P<0.01$ ** و $P<0.001$ *** مقایسه‌ی گروه CCI با گروه شام ($p<0.05$, Mean \pm SEM, n=8).



شکل ۲. مقایسه آلوداینیای مکانیکی در گروه‌های کنترل، شام، CCI، CCI و دریافت کننده‌ی نرمال سالین. $P<0.01$ *** مقایسه‌ی گروه CCI با گروه شام ($p<0.05$, Mean \pm SEM, n=8).

بررسی آلوداینیای حرارتی (Acetone Test)

میانگین آستانه‌ی درد نوروپاتیک (تکرار عقب کشیدن پا) در گروه شام نسبت به گروه دست‌نخورده ($P=1$) تفاوت معنی‌داری نداشت، در گروه CCI نسبت به گروه شام آستانه‌ی درد کاهش پیدا کرد و در روزهای ۴، ۷، ۱۴، ۲۱ ($P=0/0001$) تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت، میانگین آستانه‌ی درد در گروه CCI و دریافت‌کننده‌ی نرمال سالین نسبت به گروه CCI ($P=0/03$)، تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۳).

اثر دریافت حاد غلظت‌های مختلف کافئین بر هیپرالژزیا حرارتی در مدل CCI

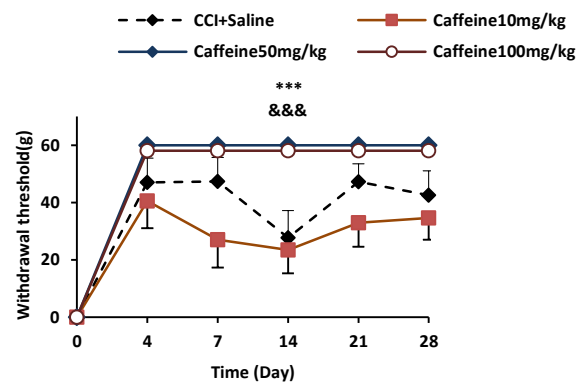
آستانه‌ی درد نوروپاتیک در گروه کافئین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل سالین (CCI+Saline) ($P=0/05$) تفاوت معنی‌داری نداشت، در گروه کافئین ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل سالین آستانه‌ی درد افزایش پیدا کرد و در روز ۴ ($P=0/0001$) تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت، در گروه کافئین ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل سالین آستانه‌ی درد افزایش پیدا کرد و در روزهای ۷ ($P=0/0001$)، ۱۴ ($P=0/005$)، ۲۱ ($P=0/004$) و ۲۸

هیپراآلژیا و آلوداینیا می‌شود. علاوه بر این نتایج مطالعه نشان داد تجویز حاد کافئین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منجر به کاهش آستانه‌ی درد و هیپراآلژیا و آلوداینیا می‌شود، از سوی دیگر غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین هیپراآلژیا و آلوداینیا ایجاد شده در این مدل را کاهش می‌دهد و به عبارتی اثر محافظت‌کننده بر درد نوروپاتیکی دارد.

مطالعات مختلفی بر روی انسان‌ها و حیوانات جهت بررسی اثر کافئین بر درد نوروپاتیکی انجام شده است و نتایج حاصل از این مطالعات نیز متناقض بوده است، به نحوی که برخی از این مطالعات نقش دردزای کافئین را گزارش داده‌اند در حالی که برخی مطالعه‌ها نشان می‌دهند کافئین می‌تواند سبب افزایش آستانه‌ی درد شود و اثر محافظت‌کننده در برابر درد نوروپاتیکی داشته باشد [۲۰، ۱۳]. مطالعات مختلفی اثر دردزای کافئین را گزارش کرده‌اند [۲۲، ۲۱].

مکانیسم‌های متعددی در ارتباط با اثر حفاظتی غلظت‌های بالای کافئین بر درد وجود دارد. کافئین میل ترکیبی متفاوتی به گیرنده‌های A1 و A2a, A2b آدنوزینی دارد، از این رو اثر متناقض مشاهده شده بر اثر کافئین بر درد می‌تواند در نتیجه‌ی اثر متفاوت آن بر این گیرنده‌ها باشد [۲۳]. گیرنده‌های A2a, A2b در شاخ خلفی نخاع در نورون‌های پس‌سیناپسی لایه‌های سطحی شاخ خلفی، در DRG و به صورت محیطی نیز در سلول‌های گلیال و سلول‌های ایمنی حضور دارند و این نواحی در بروز درد دخیل هستند [۲۴، ۸]. با توجه به این‌که کافئین آنتاگونیست غیر اختصاصی گیرنده‌های آدنوزین می‌باشد به نظر می‌رسد که بخش عمده‌ی اثرات آن بر درد از طریق آنتاگونیست کردن گیرنده‌های آدنوزینی باشد [۱۴]. آدنوزین در غلظت‌های پائین در حد نانومولار سبب فعال کردن گیرنده‌ی A1 آدنوزین می‌شود، گیرنده‌ی A1 با مهار آدنیل سیکلاز سیتوزولی و کاهش آدنوزین مونوفسفات حلقوی (cAMP) سبب مهار پتانسیل عمل و کاهش تحریک‌پذیری سلول می‌شود [۲۵]. آگونیست‌های این گیرنده‌ی آدنوزین در ایسکمی، صرع، سکنه‌ی مغزی و آریتمی قلبی نقش حفاظتی دارند، به نظر می‌رسد که رهایش موضعی آدنوزین به‌واسطه‌ی فعال کردن گیرنده‌ی A1 در کاهش درد نقش داشته باشد [۲۷، ۲۶]. در همین زمینه برخی از مطالعات نشان داده‌اند که تجویز حاد کافئین در دوزهای پائین سبب تشدید درد به‌واسطه‌ی مهار گیرنده‌ی A1 شده است [۱۲]. از طرفی در مطالعه‌ای دیگر تجویز حاد غلظت‌های بالاتر کافئین تأثیری در پیشرفت هیپراآلژیا و حرارتی در مدل PSNL (آسیب نسبی عصب سیاتیکی) نداشته است [۲۸]. کاهش آستانه‌ی درد و تشدید هیپراآلژیا و آلوداینیا در موش‌های سوری که گیرنده‌ی A1 آن‌ها حذف شده بود بیانگر نقش ضد دردی گیرنده‌ی A1 آدنوزین

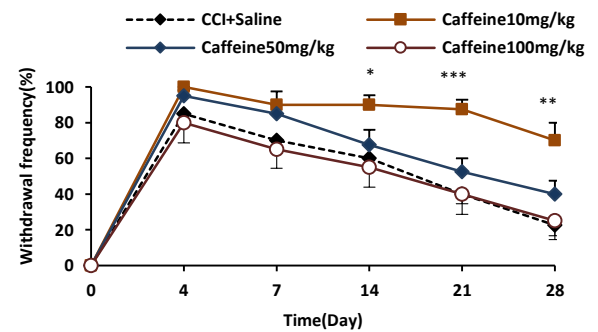
۱۴ (P=۰/۰۰۰۱) تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت (شکل ۵).



شکل ۵. اثر دریافت حاد غلظت‌های مختلف کافئین بر آلوداینیا مکانیکی در مدل CCI $p < 0.001$ *** مقایسه‌ی گروه کافئین ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل. $p < 0.001$ &&& مقایسه‌ی گروه کافئین ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل (p<0.05, Mean \pm SEM, n=8)

اثر دریافت حاد غلظت‌های مختلف کافئین بر آلوداینیا حرارتی در مدل CCI

میانگین آستانه‌ی درد نوروپاتیکی در گروه کافئین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل سالیین کاهش پیدا کرد و در روزهای ۱۴ (P=۰/۰۰۴)، ۲۱ (P=۰/۰۰۰۱) و ۲۸ (P=۰/۰۰۰۱) تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت، میانگین آستانه‌ی درد در گروه کافئین ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل سالیین (P=۰/۰۰۴) و در گروه کافئین ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل سالیین (P=۰/۰۰۹) تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۶).



شکل ۶. اثر دریافت حاد غلظت‌های مختلف کافئین بر آلوداینیا حرارتی در مدل CCI $p < 0.001$ *** مقایسه‌ی گروه کافئین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل. $p < 0.05$ *، $p < 0.01$ **، $p < 0.001$ *** مقایسه‌ی گروه کافئین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل (P<0.05, Mean \pm SEM, n=8)

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی اثر تجویز حاد کافئین بر آستانه‌ی درد نوروپاتیکی در مدل CCI بود. نتایج این مطالعه نشان داد، انجام مدل CCI منجر به القاء درد نوروپاتیکی و ایجاد

- [2] Abbadie C, Bhangoo S, De Koninck Y, Malcangio M, Melik-Parsadaniantz S, White FA, et al. Chemokines and pain mechanisms. *Brain Res Rev* 2009; 60: 125-134.
- [3] Butt MS, Sultan MT. Coffee and its consumption: benefits and risks. *Crit Rev Food Sci Nut* 2011; 51: 363-373.
- [4] de Mejia EG, Ramirez-Mares MV. Impact of caffeine and coffee on our health. *Trends Endocrinol Metab* 2014; 25: 489-492.
- [5] BONILHA L, LI LM. Heavy coffee drinking and epilepsy. *Seizure* 2004; 13: 284-285.
- [6] Antoniolli L, Csoka B, Fornai M, Colucci R, Kokai E, Blandizzi C, Haskó G. Adenosine and inflammation: what's new on the horizon? *Drug Discov Today* 2014; 19: 1051-1068.
- [7] Guntz E, Dumont H, Pastijn E, d'Exaerde Ade K, Azdad K, Sosnowski M, et al. Expression of adenosine A2A receptors in the rat lumbar spinal cord and implications in the modulation of N-methyl-d-aspartate receptor currents. *Anesth Analg* 2008; 106: 1882-1889.
- [8] Fredholm BB. Adenosine receptors as drug targets. *Exp Cell Res* 2010; 316: 1284-1288.
- [9] Chroscinska-Krawczyk M, Jargiello-Baszak M, Walek M, Tylus B, Czuczwar SJ, et al. Caffeine and the anticonvulsant potency of antiepileptic drugs: experimental and clinical data. *Pharmacol Rep* 2011; 63: 12-18.
- [10] Sawynok J. Caffeine and pain. *Pain* 2011; 152: 726-729.
- [11] Wu WP, Hao JX, Fredholm BB, Wiesenfeld-Hallin Z, Xu XJ. Effect of acute and chronic administration of caffeine on pain-like behaviors in rats with partial sciatic nerve injury. *Neurosci Lett* 2006; 402: 164-166.
- [12] Martins DF, Prado MR, Daruge-Neto E, Batisti AP, Emer AA, Mazzardo-Martins L, et al. Caffeine prevents antihyperalgesic effect of gabapentin in an animal model of CRPS-I: evidence for the involvement of spinal adenosine A1 receptor. *J Peripher Nerv Syst* 2015; 20: 403-409.
- [13] Baratloo A, Rouhipour A, Forouzanfar MM, Safari S, Amiri M, Negida A. The Role of caffeine in pain management: a brief literature review. *Anesth Pain Med* 2016; 6: e33193.
- [14] Tavares C, Sakata RK. Caffeine in the treatment of pain. *Rev Bras Anesthesiol* 2012; 62: 387-401.
- [15] Luongo L, Guida F, Imperatore R, Napolitano F, Gatta L, Cristino L, et al. The A1 adenosine receptor as a new player in microglia physiology. *Glia* 2014; 62: 122-132.
- [16] Tzabazis A, Kim PH, Sweitzer SM, Yeomans DC. Ameroid rings for gradual chronic constriction of the sciatic nerve in rats: contribution of different nerves to neuropathic pain. *Brain Res Bull* 2004; 64: 127-132.
- [17] Pottabathini R, Kumar A, Bhatnagar A, Garg S. Possible involvement of nitric oxide modulatory mechanism in the protective effect of retigabine against spinal nerve ligation-induced neuropathic pain. *Cell Mol Neurobiol* 2015; 35: 137-146.
- [18] Banafshe HR, Hajhashemi V, Minaian M, Mesdaghinia A, Abed A. Antinociceptive effects of maprotiline in a rat model of peripheral neuropathic pain: possible involvement of opioid system. *Iran J Basic Med Sci* 2015; 18: 752-757.
- [19] Hamidi GA, Manaheji H, Janahmadi M, Noorbakhsh SM, Salami M. Co-administration of MK-801 and morphine attenuates neuropathic pain in rat. *Physiol Behav* 2006; 88: 628-635.
- [20] Martins DF, Prado MR, Daruge-Neto E, Batisti AP, Emer AA, Mazzardo-Martins L, et al. Caffeine prevents antihyperalgesic effect of gabapentin in an animal model of CRPS-I: evidence for the involvement of spinal adenosine A1 receptor. *J Peripher Nerv Syst* 2015; 20: 403-409.
- [21] Esser MJ, Chase T, Allen GV, Sawynok J. Chronic administration of amitriptyline and caffeine in a rat model of neuropathic pain: multiple interactions. *Eur J Pharmacol* 2001; 430: 211-218.
- [22] Tomic MA, Vuckovic SM, Stepanovic-Petrovic RM, Ugresic N, Prostran MS, Boskovic B, et al. The anti-hyperalgesic effects of carbamazepine and oxcarbazepine are attenuated by treatment with adenosine receptor antagonists. *Pain* 2004; 111: 253-260.
- [23] Ongini E, Fredholm BB. Pharmacology of adenosine A2A receptors. *Trends Pharmacol Sci* 1996; 17: 364-372.
- [24] Sawynok J. Adenosine receptor activation and nociception. *Eur J Pharmacol* 1998; 347: 1-11.
- [25] Jacobson KA. Introduction to adenosine receptors as therapeutic targets. *Handb Exp Pharmacol* 2009; 193: 1-24.
- [26] Fedele DE, Li T, Lan JQ, Fredholm BB, Boison D. Adenosine A1 receptors are crucial in keeping an epileptic focus localized. *Exp Neurol* 2006; 200: 184-190.

می‌باشد [۲۸]. با توجه به این گزارشات این احتمال وجود دارد که اثر دردزای غلظت پائین کافئین تا حدی به‌واسطه‌ی مهار گیرنده‌ی A1 آدنوزین باشد. نتایج حاصل از دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین گزارشات قبلی در خصوص این‌که برخی از دوزهای کافئین می‌تواند اثر محافظتی بر درد داشته باشد را تأیید کرد [۲۸]. قبلاً نیز گزارش شده بود که تجویز حاد دوزهای ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب بهبود آلوداینیایی مکانیکی ایجاد شده در مدل حیوانی PSNL شده است، علاوه بر این تجویز مزمن کافئین در دوزهای ۶۱/۵-۲۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به صورت خوراکی در آب آشامیدنی به مدت ۱۴ روز تأثیری بر پیشرفت هیپرآلژزیای حرارتی نداشته است [۲۸]. با توجه به این‌که دوز پائین کافئین سبب تشدید درد می‌شود و دوزهای بالاتر کافئین سبب افزایش آستانه‌ی درد می‌شود این احتمال وجود دارد که دوزهای مختلف کافئین به صورت متفاوتی گیرنده‌های آدنوزین را مهار می‌کنند. از آن‌جایی‌که گیرنده‌های A2a و A2b آدنوزین تحریکی هستند، این احتمال وجود دارد که غلظت‌های بالاتر کافئین با اثر مهاری بر این گیرنده‌ها اثر ضد دردی خود را اعمال کرده باشد [۲۹]. از طرفی دیگر کافئین علاوه بر گیرنده‌های آدنوزین از طریق سایر مسیرها از جمله تغییر در سطح نیتریک اکسید، مهار آنزیم سیکلوآکسیژناز و مهار آنزیم فسفودی استراز هم می‌تواند اثرات خود را اعمال کند [۲۹، ۱۴، ۱۳].

در مجموع نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که اثر کافئین بر آستانه‌ی درد می‌تواند وابسته به غلظت باشد، به گونه‌ای که غلظت‌های پائین آن می‌تواند اثر تشدیدکننده بر درد نوروپاتیکی داشته باشد و دریافت دوزهای بالاتر سبب افزایش آستانه‌ی درد شده و اثر محافظت‌کننده در برابر درد داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از نتایج طرح تحقیقاتی و پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد تحت عنوان "تأثیر تجویز حاد کافئین بر آستانه‌ی درد نوروپاتیکی ناشی از آسیب فشاری مزمن عصب سیاتیک در موش صحرایی نر" مصوب دانشگاه علوم پزشکی کاشان در سال ۹۷ با شماره‌ی ۹۷۶۵ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی کاشان اجرا شده است. بدین‌وسیله نویسندگان از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه برای حمایت از این پژوهش تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

- [1] Alles SR, Smith PA. Etiology and pharmacology of neuropathic pain. *Pharmacol Rev* 2018; 70: 315-347.

[29] Bruce C, Yates DH, Thomas PS. Caffeine decreases exhaled nitric oxide. *Thorax* 2002; 57: 361-363.

[27] Gouder N, Fritschy JM, Boison D. Seizure suppression by adenosine A1 receptor activation in a mouse model of pharmaco-resistant epilepsy. *Epilepsia* 2003; 44: 877-885.

[28] Sawynok J, Reid AR, Doak GJ. Caffeine antinociception in the rat hot-plate and formalin tests and locomotor stimulation: involvement of noradrenergic mechanisms. *Pain* 1995; 61: 203-213.

Effect of acute caffeine administration on hyperalgesia and allodynia in a rat neuropathic pain model

Monireh Naderi Tehrani (M.Sc), Azhdar Heydari (Ph.D), Saeedeh Nasrollahi (M.Sc), Zahra Esmaili (M.Sc), GHolamali Hamidi (Ph.D)*

Physiology Research Center, Institute for Basic Sciences, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R. Iran

* Corresponding author. +98 9131631685 hamidi@yahoo.com

Received:22 Apr 2019; Accepted: 13 Oct 2019

Introduction: Damage to the central and peripheral nervous system causes neuropathic pain. Caffeine is a plant alkaloid and non-selective antagonist of A1, A2a and A2b adenosine receptors. It is reported that caffeine increases the threshold of pain. In this study, the effect of acute caffeine on behavioral responses of neuropathic pain was investigated.

Materials and Methods: The present study was conducted on 56 adult male Wistar rats in the weight range of 220-250 g. Neuropathic pain was induced by chronic constriction injury (CCI). Animals were randomly divided into 7 groups (n = 8): Control, Sham, CCI, CCI + Saline, and CCI + Caffeine (10, 50 and 100 mg/kg). Thermal hyperalgesia, mechanical and thermal allodynia has been done on days 4, 7, 14, 21, 28 after CCI.

Results: Neuropathic rats demonstrated increased pain thresholds. Notably, caffeine at a dose of 10 mg/kg significantly increased the thermal allodynia, but at doses of 50 and 100 mg/kg, it significantly decreased the thermal hyperalgesia and mechanical allodynia.

Conclusion: Our findings indicated that the effects of caffeine on pain responses are dose-dependent. Probably the inhibition of adenosine A1 receptors by caffeine increases pain responses, while the inhibition of A2a and A2b adenosine receptors is associated with protective effect of caffeine against pain responses.

Keywords: Neuropathic pain, Hyperalgesia, Allodynia, Caffeine, Wistar Rats.
