اثرات تجویز نخاعی کپسایسین و تجویز صفاقی نالوکسان بر عملکرد ضددردی عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت‌دیده گیاه ماده شاهدانه *(Cannabis sativa)*

بهرام فرهادی مقدم، مسعود فریدونی*

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

چکیده

دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۱۹ ویرایش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۶ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۲۱ آنلاین: ۱۳۹۹/۰۹/۰۱

زمینه و هدف: سیستم اندوکانابینوییدی با سیستم‌های وانیلوییدی و اپیوییدی برهم‌کنش دارد. این تحقیق به بررسی اثر عصاره گل‌های حرارت‌دیده پایه ماده شاهدانه با کپسایسین در سطح‌نخاعی و نالوکسان در سطح سیستمیک بر شدت احساس دردهای شیمیایی و حرارتی می‌پردازد.

روش بررسی: این مطالعه تجربی در گروه زیست‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد، از فروردین تا اسفند ۱۳۹۳ بر روی موش‌های صحرایی نر بالغ ویستار (۲۰۰ تا ۲۵۰ g) در گروه های هفت‌تایی انجام گردید. افزون‌بر گروه‌های کنترل و شم، گروه‌هایی با تجویز صفاقی دوز ۵۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی، دوز ۲ mg/kg نالوکسان و عصاره به همراه نالوکسان ارزیابی گردیدند. همچنین، گروه‌های تجویز نخاعی غلظت ۰/۰۱ mg/۱۰µl عصاره، غلظت ۰/۰۰۲ mg/۱۰ µl کپسایسین و عصاره به‌همراه کپسایسین ارزیابی شدند. برای سنجش آستانه درد حرارتی از آزمون پرش دم و برای سنجش شدت درد شیمیایی از آزمون فرمالین استفاده شد و داده‌ها مورد بررسی آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: تجویز نخاعی عصاره با کپسایسین موجب کاهش حس پردردی حرارتی ($P<0/001$) و شیمیایی ($P<0/001$) ناشی از کپسایسین گردید. از طرف دیگر تجویز صفاقی نالوکسان به‌همراه عصاره تأثیری بر تغییر در آستانه درد حرارتی ناشی از تجویز عصاره نداشت. در حالیکه تجویز نالوکسان شدت درد حاد شیمیایی را نسبت به گروه تیمار شده با عصاره به تنهایی افزایش داد ($P<0/01$).

نتیجه‌گیری: احتمالاً کانابینوییدهای عصاره با فعال‌کردن گیرنده‌های کانابینوییدی و غیرحساس نمودن گیرنده $TRPV_1$ پردردی ناشی از کپسایسین را مهار کرده است. همچنین تجویز نالوکسان اثر ضددردی عصاره را در مرحله حاد درد شیمیایی تضعیف کرده است. گمان می‌رود عصاره بخشی از تأثیر ضددردی را از طریق گیرنده های اپیوییدی اعمال نموده است.

کلمات کلیدی: آگونیست‌های گیرنده کانابینوییدی، شاهدانه، گیرنده اپیوید، درد، گیرنده وانیلوییدی نوع ۱.

*نویسنده مسئول: مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی.

تلفن: ۳۶۲۱۴۰۲۶-۰۵۱

E-mail: fereidoni@um.ac.ir

مقدمه

شاهدانه *(Cannabis sativa)* گیاهی است پر برگ و گل، یک ساله و معمولاً دو پایه، به‌ندرت به‌صورت تک‌پایه یافت می‌شود، با برگ‌های پنجه‌ای شکل و دارای دسته‌هایی از گل‌های کوچک سبز که به‌صورت وحشی در نواحی با آب و هوای معتدل یا گرمسیری رشد می‌کند.[1] این گیاه مدت‌هاست که به‌عنوان گیاه موثر بر سیستم عصبی و حالات مربوط به استرس شناخته شده و از مشتقات آن برای هزاران سال به‌منظور اهداف دارویی نظیر ضداسپاسم، ضدرعشه و ضدالتهاب استفاده شده است.[2-5] ۴۸۳ ترکیب طبیعی از گیاه شاهدانه

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-13]

به‌دست آمده است که ٦٦ ترکیب کانابینوییدی (Cannabinoids) و بقیه غیرکانابینوییدی هستند و شامل ترپنوییدها (Terpenophenolic)، هیدروکربن‌ها، ترکیبات نیتروژن‌دار، کربوهیدرات‌ها، فلاونوییدها، اسیدهای‌چرب، فنول‌های غیرکانابینوئیدی، الکل‌های ساده، آلدهیدها، کتون‌ها، اسیدها، استرها، لاکتون‌ها و سایر ترکیبات دیگر می‌باشند.[٦] کانابینوییدهای طبیعی گروهی از ترکیبات ترپنوفنولیک غیرقطبی هستند که به میزان بسیار زیادی در گل‌های پایه ماده گیاه شاهدانه تولید می‌گردند و اصلی‌ترین آنها Tetrahydrocannabinolic acid, (THCA) و (Cannabidiolic acid, CBDA) می‌باشند.[۱و۷] این ترکیبات در اثر حرارت و با خروج گاز CO2 دکربوکسیله شده و به فرم فعال خود یعنی (Tetrahydrocannabinol, THC) و (Cannabidiol, CBD) تبدیل می‌شوند.[۸]

سیستم اندوکانابینوییدی، سیستم سیگنالینگ تعدیل‌گر و درون‌زاد مشتق شده از لیپید است که در سیستم‌های عصبی مرکزی، محیطی و برخی از اندام‌ها حضور داشته و فعالیت دارد.[۹-۱۱]

کانابینوییدها اثرات خود را با اتصال به گیرنده‌های کانابینوییدی (CB_1, CB_2) و غیرکانابینوییدی (Transient receptor potential vanilloid1, $TRPV_1$) هم به‌صورت مستقیم و هم در بر هم‌کنش با سایر سیستم‌ها مثل سیستم‌های اپیوییدی و وانیلوییدی اعمال می‌نماید.[۲و۱۴-۱۲]

باتوجه به یافته‌های عنوان شده و نتایج پژوهش‌های پیشین محققین پژوهش پیش رو مشخص شد که تجویز درون صفاقی دوز ۵۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت‌دیده منجر به کاهش احساس دردهای شیمیایی، حرارتی و التهاب ناشی از تجویز کف‌پایی فرمالین در موش صحرایی با اعمال کمترین عوارض جانبی نسبت به سایر عصاره‌ها می‌گردد، این فرضیه مطرح می‌گردد که عصاره هیدروالکلی گل‌های پایه ماده گیاه شاهدانه، ممکن است به‌طور مرکزی و از طریق تأثیر بر نخاع موجب کاهش احساس دردهای حرارتی و شیمیایی گردد.[۱۵و۱۶]

از طرفی، مطالعات نشان می‌دهد، کپسایسین به‌عنوان آگونیست گیرنده‌کانال‌های کاتیونی دریچه‌دار $TRPV_1$ روی فیبرهای آوران Aδ و C موجب افزایش ورود کاتیون‌های سدیم و کلسیم به درون نورون و افزایش حساسیت و تحریک‌پذیری فیبرهای عصبی می‌گردد که با آزادسازی مرکزی و محیطی میانجی‌های پپتیدی ماده P و (Calcitonin gene related peptide, CGRP) مثلا در محیط منجر به گشادی عروق و القای محیطی پردردی‌های مکانیکی، حرارتی و شیمیایی می‌گردد.[۱۷و۱۹-۲۱]

و به‌طور مرکزی حساسیت پروجکشن نورون‌های درد در سطح نخاع را افزایش داده و منجر به انواع پردردی می‌گردد.[۲۲] به‌همین منظور برای بررسی صحت این فرضیه اثر عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت‌دیده پایه ماده گیاه شاهدانه بر دردهای حرارتی و شیمیایی می‌تواند از طریق مهار گیرنده‌های $TRPV_1$ در سطح مرکزی (نخاع) صورت پذیرد و برای القای پردردی مرکزی از کپسایسین استفاده شد.[۲۲و۲۳]

سیستم درون‌زاد اوپیوییدی شامل خانواده‌ای از پپتیدها و گیرنده‌های اوپیوییدی است و گیرنده‌های این سیستم با سیستم کانابینوییدی از نظر ساختار، محل و مکانیسم فعالیت مشابه یکدیگر هستند.[٤] به‌طوری‌که گیرنده‌های هر دو سیستم به جی پروتیین (G protein) جفت می‌شوند.[٢٤] و تحریک آنها فعالیت آنزیم آدنلیل سیکلاز را مهار نموده و به‌دنبال آن میزان AMP حلقوی (cAMP) کاهش یافته، فعالیت مسیر Mitogen-activated protein kinase, (MAPK) را افزایش داده و منجر به افزایش نفوذپذیری کانال‌های پتاسیمی و کاهش ورود کلسیم به سلول می‌شود.[٤]

گیرنده کانابینوییدی CB_1 و اوپیوییدی μ در نورون‌های پیش‌سیناپسی یکسانی در لامینای دو شاخ پشتی نخاع که در انتقال درد دخالت دارد حضور دارند و با فعالیت خود آزادسازی میانجی‌های درد همچون گلوتامات و استیل کولین را مهار می‌نمایند و موجب بروز اثرات ضددردی می‌گردند.[۱۱و۲۵]

به‌منظور بررسی فرضیه مشارکت احتمالی سیستم اپیوییدی درون‌زاد در بی‌دردی ناشی از تجویز نخاعی عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت‌دیده، از نالوکسان (Naloxone) به‌عنوان آنتاگونیست ممتاز گیرنده‌های اوپیوییدی، استفاده گردید.[۱۲] در این مطالعه اثرات تجویزهای درون صفاقی دوز عصاره به تنهایی، نالوکسان به تنهایی و برهم‌کنش عصاره به همراه نالوکسان مورد بررسی قرار گرفت. همچنین اثرات تجویزهای نخاعی عصاره به تنهایی، محلول کپسایسین به تنهایی و برهم‌کنش عصاره به همراه کپسایسین بر درد حرارتی در آزمون پرش دم (Tail flick test) و مراحل مختلف درد شیمیایی، ناشی از تزریق فرمالین، مطالعه شد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-13]

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (Wistar) با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ g که در حیوانخانه گروه زیست‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد در شرایط استاندارد با درجه حرارت ۲۱ °C، رطوبت ۵۰٪ و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و امکان دسترسی آزاد به آب و غذای کافی، نگهداری شدند، استفاده گردید. حیوانات به‌صورت تصادفی در دو دسته بزرگ الف: در بر دارنده پنج گروه هفت‌تایی شامل گروه کنترل (بدون تیمار)، گروه شم (دریافت کننده حلال شامل ترکیب اتانول (Ethanol, Simintak, Iran)، (Tween® 80, Merck, Germany) و (Saline, Samenco, Iran) به‌ترتیب با نسبت‌های ۸:۱:۱، گروه دریافت‌کننده دوز ۵۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده، گروه دریافت‌کننده دوز (Naloxane, 2mg/kg Caspiantamin, Iran) و گروه دریافت‌کننده هم‌زمان عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت‌دیده و نالوکسان پس از گذشت ۲۰ دقیقه از تجویز عصاره.[۲۶و۲۷] تمامی تجویزها در این دسته بصورت درون‌صفاقی انجام گرفت، و دسته ب: در بر دارنده پنج گروه هفت‌تایی شامل گروه کنترل (جراحی و کانول‌گذاری بدون تیمار)، گروه شم (همچون دسته الف)، گروه دریافت‌کننده غلظت ۰/۰۱ mg/۱۰ µl عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت‌دیده، گروه دریافت‌کننده غلظت ۰/۰۰۲ mg/۱۰ µl محلول کپسایسین، گروه دریافت‌کننده همزمان عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت‌دیده (۰/۰۱ mg/۵ µl) و کپسایسین (۵ µl/ ۰/۰۰۲mg) پس از گذشت پنج دقیقه از تجویز عصاره.[۲۸] به‌منظور مشخص کردن غلظت تجویز نخاعی عصاره، ابتدا قطعه کمری نخاع که محدوده مشخص دارورسانی بود، پس از قربانی‌کردن حیوان، جداسازی و توزین شد (وزن تقریبی قطعه کمری نخاع معادل ۰/۲ g بوده است). سپس براساس وزن بخش قطعه کمری نخاع و دوز مؤثر تجویز صفاقی (۵۰ mg/kg) که حاصل پژوهش‌های پیشین ما است، دوز قابل تجویز از طریق تناسب و معادل‌سازی تهیه شد. که بر همین اساس، تمامی تجویزهای نخاعی در حجم ۱۰ µl انجام شد و عصاره نیز در غلظت ۰/۰۱ mg/۱۰ µl برای تجویز نخاعی مورد استفاده قرار گرفت. کلیه مراحل انجام آزمایش‌ها تحت مقررات بین‌المللی رعایت حقوق حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت.[۲۹]

به‌منظور عصاره‌گیری، از گل‌های پایه ماده گیاه شاهدانه که توسط آزمایشگاه بیوسیستماتیک گیاهی تهیه و با کد هرباریومی ٤٤٦٩٠ توسط پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی تأیید و نگهداری شده بود، استفاده گردید. ابتدا گل‌ها عاری از برگ و ساقه شده و به منظور خشک‌کردن در مکانی تاریک و خشک به مدت دو هفته نگهداری شدند و سپس برای هر بار عصاره‌گیری مقدار ۵۰ g از ماده خشک مورد استفاده قرار گرفت. جهت تهیه عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده، ماده خشک به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۸۰ °C در (Oven, Razi Distribution Company, Iran) حرارت داده شد و سپس با استفاده از اتانول ۷۰٪ و روش ماسراسیون (خیساندن) (Maceration) عصاره‌گیری و سپس توسط کاغذ صافی، صاف گردید. پس از عصاره‌گیری حلال‌ها به‌طور کامل تبخیر شدند.[۳۰و۳۱]

جهت تجویز نخاعی، کانول‌گذاری در فضای تحت عنکبوتیه (Sub Arachnoid) براساس روشی انجام شد که Yaksh و همکاران وی در سال ۱۹۷٦ به‌کار گرفته بوده‌اند.[۳۲] در این روش ابتدا موش‌ها توسط تجویز درون‌صفاقی کتامین (Ketamine) (۱۰۰ mg/kg) و زایلازین (Xylazine) (۲۰ mg/kg) (Alfasan-Weorden, Netherlands) بیهوش شدند. سپس موهای پشت سر حیوان تراشیده شد و سر در دستگاه استریوتاکس (Stereotax, Narishige Scientific Instrument Lab, Japan) ثابت گردید. آن‌گاه در فاصله بین گوش‌ها و به طرف پایین برشی به اندازه ۲ cm ایجاد گردید و عضلات به آرامی کنار زده شدند تا غشا اطلس اکسی‌پیتال نمایان شود. پس از سوراخ کردن این غشا، یک لوله پلی‌اتیلن ۱۰ (PE10, Becton Dickinson, Germany) به طول ۱۱ cm که در فاصله ۸ cm از یک طرف آن توسط پارافیلم (Bemis, USA) برجستگی کوچکی ایجاد شده بود، به آرامی به فضای (Subarachnoid) وارد شد. به‌طوری‌که انتهای کانول بین قطعات کمری چهار و پنج قرار می‌گرفت. ۳ cm از لوله که خارج از نخاع بود جهت تجویزها استفاده گردید. پس از جراحی و کانول‌گذاری و گذشت دوره زمانی پنج تا هفت روزه به منظور بهبودی و اطمینان از سالم بودن حیوان و انجام فعالیت‌های طبیعی توسط اندام‌های حرکتی، سایر مراحل آزمایش‌ها انجام شد. به منظور تجویزها از لوله رابط و (Hamilton Syringe 50 µl, Hamilton, USA) استفاده گردید.[۳۲]

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-13]

آزمون پرش دم: برای سنجش آستانه درد حرارتی در موش صحرایی از (Tail flick test) استفاده گردید. این آزمون اولین بار توسط D'Amour (1941) و Smith معرفی شد. در این آزمون حیوان در رسترینر (Restrainer) (تیوب محدودکننده) قرار گرفت به‌صورتی‌که دم آن بیرون باشد. شدت نور دستگاه (Sparco, Iran) طوری تنظیم گردید که زمان متوسط پاسخدهی پایه بین چهار تا شش ثانیه باشد و زمان ۱۵ ثانیه نیز به‌عنوان زمان قطع تابش نور (Cut of time) به یک سوم میانی دم حیوان برای جلوگیری از هر گونه ایجاد آسیب بافتی، در نظر گرفته شد. زمان پاسخدهی پیش و ۳۰ دقیقه پس از تجویز درون‌صفاقی عصاره‌ها اندازه‌گیری شد، این زمان حاصل میانگین سه بار اندازه‌گیری متوالی با فواصل یک دقیقه‌ای بود و این میانگین به‌عنوان آستانه درد (Tail flick latency) در نظر گرفته شد.[۳۳]

آزمون فرمالین: مدلی معتبر برای سنجش شدت درد شیمیایی است که به رده‌های متنوعی از داروهای ضددرد حساس است.[۲۰] بدین صورت که پس از گذشت ۳۰ دقیقه از هر تجویز درون‌صفاقی، محلول فرمالین ۲/۵٪ به میزان ۰/۰۵ ml به کف پای حیوان تزریق شد و رفتار حیوان به مدت ۶۰ دقیقه، هر ۱۵ ثانیه یک‌بار مورد بررسی و ثبت قرار گرفت.

پاسخ رفتاری در جوندگان طی آزمون فرمالین دو مرحله‌ای است. درد در مرحله اول (نوروژنیک یا درد حاد) وابسته به مکانیسم‌های نوروژنیک است و پاسخ درد در این مرحله ناشی از تحریک مستقیم فرمالین بر روی پایانه‌های عصبی محیطی می‌باشد که در صفر تا ۱۵ دقیقه اول تزریق رخ می‌دهد.[۳۴و۳۵] درحالی‌که مرحله دوم (دقایق ۱۵ تا ۶۰) پاسخ درد در نتیجه التهاب و آزاد شدن میانجی‌های التهابی بروز می‌کند (مرحله درد التهابی).[۳۴و۳۵]

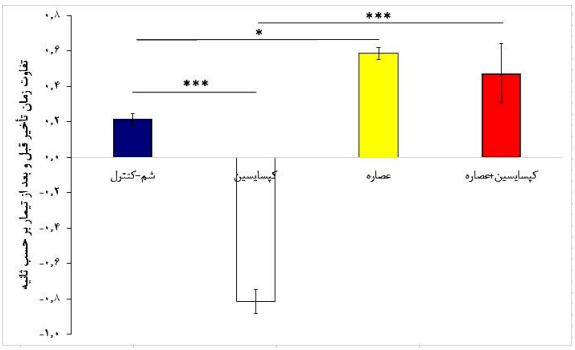
همچنین می‌توان شدت درد را در این آزمون به‌صورت کمیتی از صفر تا سه درجه‌بندی کرد، به‌طوری‌که عدد صفر زمانی است که حیوان هیچ دردی ندارد، در عدد یک حیوان در اثر درد می‌لنگد، در عدد دو حیوان پای مورد تزریق فرمالین را در تمام مدت بالا نگه می‌دارد و در عدد سه حیوان پا را به شدت تکان می‌دهد، گاز می‌گیرد یا لیس می‌زند.[۳۶]

نتایج به‌صورت Mean±SEM ارایه شدند. معناداری تفاوت بین میانگین‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و با استفاده از (GraphPad Prism, version 6, GraphPad Software, California, USA) و به‌دنبال آن مقایسه میانگین‌ها با آزمون Tukey و با حداقل سطح معناداری (P<۰/۰۵) برآورد شدند.

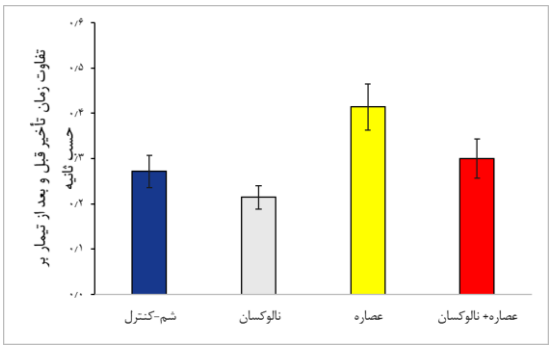
یافته‌ها

بررسی نتایج حاصل از آزمون پرش دم به‌منظور مقایسه سنجش آستانه درد حرارتی بین گروه‌های تجویز نخاعی محلول ۰/۰۱mg/۱۰µl عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت‌دیده و شم (تجویز نخاعی حلال) کنترل نشان می‌دهد که عصاره توانسته است به‌صورت معناداری (P<۰/۰۵) نسبت به گروه شم کنترل موجب افزایش تفاوت زمان تأخیر میان پیش و پس از تیمار در آزمون پرش دم گردد و آستانه درد حرارتی را افزایش دهد (نمودار ۱). تجویز نخاعی غلظت ۰/۰۰۲ mg/۱۰ µl محلول کپسایسین در قیاس با گروه شم کنترل توانسته است تا به‌صورت معناداری (P<۰/۰۰۱) آستانه درد حرارتی را کاهش داده و موجب پردردی حرارتی گردد (نمودار ۱). بررسی نتایج حاصل از تجویز نخاعی عصاره (۰/۰۱ mg/۵ µl) به همراه کپسایسین (۰/۰۰۲ mg/۵ µl) مشخص می‌کند که زمان تأخیر در پرش دم نسبت به گروه کپسایسین افزایش چشمگیری (P<۰/۰۰۱) یافته است (نمودار ۱). نتایج به‌دست آمده از تحقیق پیش‌رو نشان می‌دهد که تجویز نخاعی محلول ۰/۰۱ mg/۱۰ µl عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت‌دیده در مقایسه با گروه شم کنترل موجب کاهش معنادار احساس درد در مراحل حاد (دقایق ۱۵-۰) (P<۰/۰۱) و التهابی (دقایق ۶۰-۱۵) (P<۰/۰۰۱) درد شیمیایی شده است (نمودار ۲). همچنین تجویز نخاعی غلظت ۰/۰۰۲ mg/۱۰ µl محلول کپسایسین موجب افزایش معنادار احساس درد در مراحل حاد (P<۰/۰۵) و التهابی (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه شم کنترل شده است (نمودار ۲). تجویز نخاعی عصاره (۰/۰۱ mg/۵ µl) به‌همراه کپسایسین (۰/۰۰۲ mg/۵ µl) در مقایسه با گروه دریافت‌کننده کپسایسین توانسته است به‌صورت معناداری موجب کاهش شدت درد در مراحل حاد (P<۰/۰۰۱) و التهابی (P<۰/۰۰۱) ناشی از تجویز فرمالین گردد (نمودار ۲). سنجش آستانه درد حرارتی در گروه های دریافت کننده تجویز درون‌صفاقی دوز ۵۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده نشان می‌دهد که هر چند عصاره توانسته است آستانه درد حرارتی را در قیاس با گروه شم کنترل افزایش دهد اما این

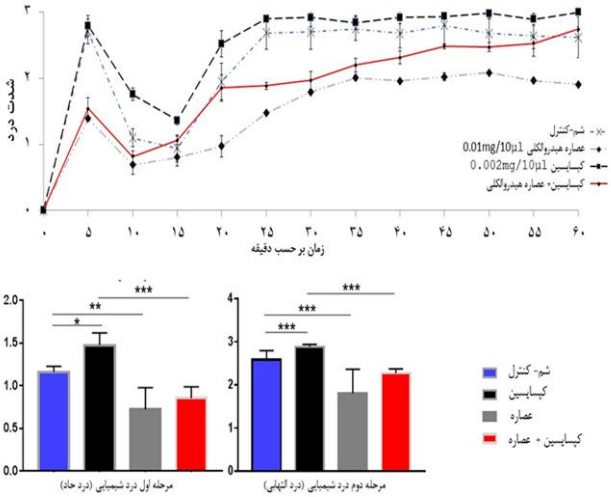
[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-13]



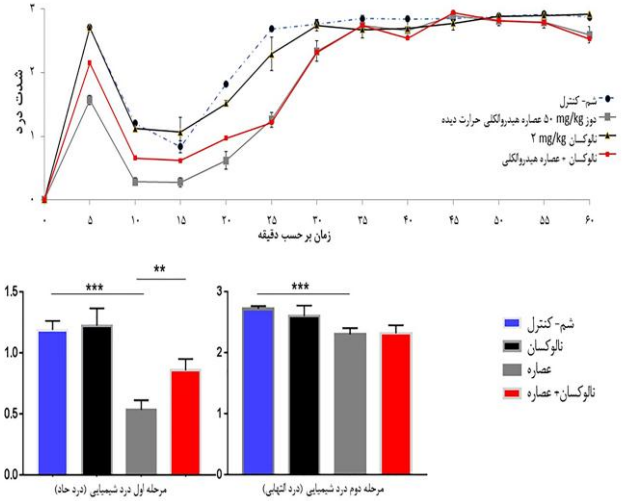
نمودار ۱: مقایسه آستانه درد حرارتی بین گروه‌های شم کنترل، دریافت‌کننده نخاعی غلظت معادل عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت‌دیده (۱۰ µl/ ۰/۰۱mg)، دریافت‌کننده نخاعی کپسایسین (۰/۰۰۲ mg/۱۰ µl) و دریافت‌کننده نخاعی عصاره (۰/۰۱ mg/۵ µl) به‌همراه کپسایسین (۰/۰۰۲ mg/۵ µl) در آزمون پرش دم. تجویز نخاعی عصاره و عصاره همراه با کپسایسین موجب افزایش تفاوت زمان تأخیر پیش و پس از تیمار در مقایسه با گروه شم‌کنترل شده است. همچنین تجویز نخاعی کپسایسین در مقایسه با گروه شم کنترل، با کاهش قابل‌توجه آستانه درد حرارتی موجب پردردی شده است. سطح معناداری اختلاف در مقایسه با گروه کنترل به‌صورت (*** P<۰/۰۰۱، * P<۰/۰۵) نشان داده شده است. داده‌ها به‌صورت Mean±SEM ارایه شده و (n=۷) می‌باشد.



نمودار ۳: مقایسه آستانه درد حرارتی بین گروه‌های شم کنترل، دریافت‌کننده صفاقی دوز ۵۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت‌دیده، دوز ۲ mg/kg نالوکسان و عصاره همراه با نالوکسان در آزمون پرش دم. تجویز صفاقی نالوکسان آستانه درد حرارتی را کاهش داده است. تجویز صفاقی عصاره توانسته است آستانه درد حرارتی را در قیاس با گروه شم کنترل افزایش دهد. تجویز عصاره همراه با نالوکسان در قیاس با گروه دریافت‌کننده عصاره موجب افزایش قابل توجهی در حساسیت نسبت به درد حرارتی نشده است. داده‌ها به‌صورت Mean±SEM ارایه شده و (n=۷) می‌باشد.



نمودار ۲: مقایسه شدت احساس درد بین گروه‌های شم کنترل، دریافت‌کننده نخاعی غلظت معادل عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده (۱۰ µl/ ۰/۰۱ mg)، دریافت‌کننده نخاعی کپسایسین (۰/۰۰۲ mg/۱۰ µl) و دریافت‌کننده عصاره و کپسایسین به همراه هم در آزمون فرمالین. تجویز نخاعی کپسایسین منجر به افزایش شدت دردهای حاد و التهابی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین در قیاس با گروه شم کنترل شد. تجویز نخاعی عصاره به‌تنهایی شدت درد را در مراحل اولیه و ثانویه آزمون فرمالین در قیاس با گروه شم کنترل کاهش داده است. تجویز نخاعی عصاره همراه با کپسایسین منجر به کاهش شدت درد ناشی از تزریق کف پایی فرمالین در تمامی مراحل درد نسبت به گروه دریافت‌کننده کپسایسین شد. سطح معناداری اختلاف در مقایسه با گروه کنترل به صورت (*** P<۰/۰۰۱، ** P<۰/۰۱، * P<۰/۰۵) نشان داده شده است. داده‌ها به‌صورت Mean±SEM ارایه شده و (n=۷) می‌باشد.



نمودار ٤: مقایسه شدت احساس درد بین گروه‌های شم کنترل، دریافت‌کننده صفاقی دوز ۵۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده، دوز ۲ mg/kg نالوکسان و دریافت‌کننده صفاقی عصاره به همراه نالوکسان در آزمون فرمالین. تفاوت معناداری میان گروه‌های شم کنترل و دریافت‌کننده نالوکسان به تنهایی وجود ندارد. اما تجویز عصاره در قیاس با گروه شم کنترل موجب کاهش شدت احساس درد در مراحل درد شیمیایی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین شد. تجویز عصاره همراه با نالوکسان موجب افزایش احساس درد در مرحله حاد در قیاس با گروه دریافت‌کننده عصاره شده است. اما تجویز عصاره همراه با نالوکسان در احساس شدت درد التهابی تفاوت معناداری را در مقایسه با گروه دریافت‌کننده عصاره از خود نشان نمی‌دهد. سطح معناداری اختلاف در مقایسه با گروه کنترل به صورت (*** P<۰/۰۰۱) نشان داده شده است. داده‌ها به‌صورت Mean±SEM ارایه شده و (n=۷) می‌باشد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-13]

افزایش معنادار نیست (نمودار ۳). تجویز صفاقی دوز mg/kg ۲ نالوکسان نیز تأثیر قابل‌توجهی بر سطح آستانه درد حرارتی نسبت به گروه شم کنترل نگذاشته است (نمودار ۳). تجویز صفاقی عصاره همراه با نالوکسان موجب افزایش قابل توجهی در آستانه درد حرارتی نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره نشده است (نمودار ۳). مقایسه نتایج حاصل از آزمون فرمالین پس از تجویز صفاقی دوز mg/kg ۵۰ عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت‌دیده با گروه شم‌کنترل نشان داد که شدت درد شیمیایی در هر دو فاز نوروژنیک و التهابی کاهش معناداری (P<۰/۰۰۱) یافته است (نمودار٤). از نظر تأثیر بر شدت مراحل متفاوت درد شیمیایی، تجویز صفاقی دوز mg/kg ۲ نالوکسان در قیاس با گروه شم‌کنترل تفاوت معناداری را از خود بروز نداده است (نمودار ٤). تجویز درون‌صفاقی عصاره و نالوکسان به همراه هم توانسته است تا در مقایسه با گروه دریافت‌کننده عصاره موجب افزایش معنادار احساس شدت درد حاد (P<۰/۰۱) شود. اما تأثیر چشمگیری را بر شدت احساس درد التهابی ناشی از تجویز کف پایی فرمالین در مقایسه با گروه دریافت‌کننده عصاره نگذاشته است (نمودار ٤).

بحث

هر سه گروه کانابینوییدهای درون‌زاد، گیاهی و صنعتی توسط سیستم اندوکانابینوییدی در بدن شناسایی شده و این سیستم را تحت تأثیر قرار می‌دهند.[۲و۱٤و۳۷] گیرنده CB_1 به‌طور غالب در سیستم عصبی مرکزی و CB_2 به‌عنوان گیرنده محیطی کانابینوییدی در بافت‌هایی مثل بافت لنفوییدی، سلول‌های خون‌ساز، سیستم‌ایمنی و در سیستم اعصاب مرکزی حضور دارند و در تعدیل آزادسازی سایتوکین‌های محرک نوسی سپتورها و پاسخ ایمنی به التهاب نقش دارد.[۳۸]

نتایج حاصل از تجویز نخاعی محلول mg/۱۰ µl ۰/۰۱ و صفاقی دوز mg/kg ۵۰ عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت‌دیده پایه ماده گیاه شاهدانه نشان داده است که این عصاره به تنهایی توانسته در مراحل مختلف درد شیمیایی اثرات ضددردی قابل‌توجهی از خود بروز دهد (نمودارهای ۲ و ٤). مقایسه نمودارهای ۱ و ۳ نشان می‌دهد که تجویز نخاعی عصاره نسبت به تجویز صفاقی اثرات کاهشی معناداری را بر درد حرارتی ناشی از آزمون پرش دم نسبت به گروه شم کنترل از خود بروز داده است. نتایج سایر تحقیقات بیان می‌کند که تجویز نخاعی آگونیست‌های گیرنده‌های کانابینوییدی حساسیت به مدل‌های درد مختلف را کاهش می‌دهد. به نحوی‌که استفاده از آنتاگونیست‌ها در مدلی از درد تأثیری را بر تجویز نخاعی کانابینوییدها نگذاشته است.[۳۹و٤۰] این احتمال نیز مطرح می‌شود که ممکن است عصاره در تجویز صفاقی پس از جذب توسط عروق مزانتریک به کبد رسیده و در آنجا متابولیزه شده باشد و همین اتفاق می‌تواند بر اثربخشی عصاره تأثیر گذاشته باشد.[٤۱]

احتمال می‌رود کانابینوییدهای دکربوکسیله موجود در عصاره به‌ویژه THC و CBD از راه‌های مختلف و متعددی موجب کاهش احساس دردهای حرارتی و شیمیایی شوند که مواردی بیان می‌گردد، کانابینوییدهای دکربوکسیله با اتصال به گیرنده CB_1 در سطح مرکزی سیستم اندوکانابینوییدی را فعال کرده موجب تسکین درد حاد می‌گردند.[٤۲و٤۳] به‌این‌صورت‌که فعال‌شدن این گیرنده باعث مهار آزادسازی گلوتامات می‌شود که در انتقال سیگنال‌های درد نقش کلیدی دارد.[۱۳]

کانابینوییدهای دکربوکسیله به‌ویژه CBD می‌تواند به‌طور مستقیم با اتصال به گیرنده‌های $TRPV_1$ و (Transient receptor potential ankyrin 1, $TRPA_1$) نوعی گیرنده‌کانال‌یونی که بر روی نورون‌های حسی قرار دارد و با محرک‌های حرارتی و شیمیایی فعال شده و در ادراک سرما و گرما شرکت دارد) فعالیت آنها را تغییر دهند.[٤٤و٤۵]

همچنین در مسیرهای درد و نواحی ماده خاکستری اطراف قنات مغزی و به‌ویژه بخش رسترال شکمی میانی بصل‌النخاع که به‌طور مستقیم با شاخ پشتی نخاع در تماس است علاوه بر گیرنده‌های اپیوییدی، گیرنده‌های CB_1 نیز حضور دارند که در بر هم‌کنش با یکدیگر بر رهایش گلوتامات تأثیر دارند.[٤٦] اتصال کانابینوییدهایی چون THC به گیرنده های CB_2 می‌تواند منجر به کاهش حساسیت به تحریکات مکانیکی، حرارتی و دردهای التهابی گردد.[٤۷و٤۸] همچنین در ریشه پشتی نخاع که منبع آوران‌های ورودی به نخاع است، گیرنده‌های $CB_{1,2}$ حضور دارند. مطالعات صورت گرفته بر روی اثر آنتاگونیست‌های این دو گیرنده نشان دهنده اثر گذاری غالب CB_2 بر سرکوب التهاب و دردالتهابی است. ترکیباتی نظیر فرمالین به‌عنوان محرک درد و التهاب، منجر به تغییر آستانه درد و القای بیان فوری ژن پروتیین Fos در شاخ پشتی ناحیه کمری نخاع می‌گردند.[٤۸] Fos پروتیینی است که می‌تواند منجر به پیشرفت درد و التهاب گردد و

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-13]

به‌عنوان یک نشانگر در این فرآیندها شناخته می‌شود.[۴۹] احتمالاً کانابینوییدهای دکربوکسیله با اتصال به گیرنده CB_2 و فعال‌سازی آن موجب مهار آنزیم آدنلیل سیکلاز و به تبع مهار آزادسازی میانجی‌های التهابی محرک‌های نوسی سپتورها می‌گردد که به سرکوب بیان ژن پروتیین Fos و مهار تولید فاکتور رشد عصبی از ماست‌سل‌ها و تجمع نوتروفیل‌ها منتهی می‌شود.[۴۸] با توجه به سازوکارهای فوق احتمال درگیری سیستم‌های اوپیوییدی و نیز گیرنده‌های $TRPV_1$ در بروز اثر ضددردی عصاره حرارت‌دیده گل‌های پایه ماده گیاه شاهدانه مشاهده شده و در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفته است. با توجه به نمودارهای ۱ و ۲ مشخص می‌شود که تجویز نخاعی کپسایسین در آزمون‌های درد شیمیایی و حرارتی ایجاد پردردی نموده است. کپسایسین با فعال کردن گیرنده‌های $TRPV_1$ روی آوران‌های نوسی سپتیو فیبرهای Aδ و بدون میلین C موجب افزایش ورود یون کلسیم به سلول و آزاد سازی گلوتامات و پپتیدهای عصبی CGRP و P می‌گردد که منجر به تحریک و افزایش حساسیت نورون‌های نخاع به محرک‌های درد حرارتی و ترکیبات شیمیایی می‌شود.[۱۷و۱۹و۲۱و۵۰] آزادسازی گلوتامات با تحریک گیرنده‌های گلوتاماتی متابوتروپیکی در سطح شاخ پشتی نخاع همراه است که در ادراک درد مشارکت دارد.[۵۰] همچنین گلوتامات با فعال‌کردن گیرنده‌های خود موجب آزادسازی نوروپپتیدهای P و CGRP می‌شود که با تحریک گیرنده‌های نوروکینین همراه است.[۵۱] این گیرنده‌ها با افزایش جریان ورودی CA^{2+} موجب کاهش آستانه شلیک و دپلاریزاسیون نورون‌های نوسی سپتیو شاخ پشتی نخاع شده و بدین ترتیب نقش مهمی در انتقال درد و ایجاد التهاب ایفا می‌کنند که منجر به پردردی می‌شود.[۱۷و۵۲] افزون‌بر آن کپسایسین با فعال‌سازی cAMP، پروتیین کینازها را فعال کرده که با افزایش بیان آنزیم‌های COX2 و تولید پروستاگلاندین E در پیشرفت درد التهابی نقش دارد.[۱۳]

بررسی نتایج نشان می‌دهد که تجویز نخاعی عصاره به‌همراه کپسایسین در قیاس با تجویز نخاعی کپسایسین به تنهایی توانسته است به‌طور قابل‌توجهی پردردی حرارتی و شیمیایی ناشی از کپسایسین را خنثی نماید (نمودارهای ۱ و ۲). کانابینوییدها با فعال‌نمودن گیرنده CB_1 احتمالا می‌توانند بطور غیرمستقیم از راه‌های مختلفی پردردی ناشی از فعالیت گیرنده‌های $TRPV_1$ را کاهش دهند، ۱- احتمالا با مهار آنزیم آدنیلیل سیکلاز و مهار تولید cAMP مسیر فعالیت کپسایسین به واسطه $TRPV_1$ را مختل می‌نماید ۲- با کاهش فسفریلاسیون کانال‌ها، خروج یون پتاسیم از سلول افزایش یافته و ورود یون کلسیم از انواع کانال‌های کلسیمی N, P, Q کاهش می‌یابد که منجر به کاهش تحریک‌پذیری و اگزوسیتوز میانجی‌های مؤثر در درد و التهاب (گلوتامات، گابا، P، CGRP) از فیبرهای آوران درد در سطح نخاع می‌گردد.[۱۳و۱۸] به‌این ترتیب حضور گیرنده‌های CB_1 همراه با $TRPV_1$ در نورون‌های شاخ پشتی نخاع موجب می‌گردد تا در صورت فعال‌سازی گیرنده CB_1، فعالیت گیرنده $TRPV_1$ تعدیل گردد.[۱۳و۵۳و۵۴] افزون‌براین اثرات، کانابینوییدها احتمالا به‌طور مستقیم از طریق اتصال به گیرنده‌های $TRPV_1$، این گیرنده‌ها را در سطح نخاع غیرحساس می‌نمایند.[۴۶] ازاین‌رو در یافته‌های این پژوهش می‌توان پیشنهاد کرد که احتمالا کانابینوییدهای گیاهی دکربوکسیله موجود در عصاره توانسته‌اند به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم فعالیت گیرنده‌های $TRPV_1$ را تعدیل و فعالیت نوسی سپتورهای فیبرهای C که ناشی از کپسایسین است، را کاهش داده و پردردی را مهار کنند. همچنین این گیرنده‌ها بر روی نورون‌های پرتابی (پروجکشن نورون‌ها) نیز حضور داشته و فعالیت می‌کنند.[۵۵]

تحقیقات انجام شده بیان می‌کند که اوپیوییدهای درون‌زاد نظیر اندورفین و انکفالین و همچنین اوپیوییدهای برون‌زاد نظیر مورفین مقدار قابل‌توجهی از اثرات ضددردی را به‌صورت مرکزی اعمال می‌کنند که نشان‌دهنده نقش سیستم اوپیوییدی در تعدیل حساسیت به درد می‌باشد.[۲۷و۵۶] استرس‌های فیزیکی نظیر درد موجب افزایش سطح تولید و رهایش اوپیوییدهای درون‌زادی نظیر انکفالین در سیستم عصبی مرکزی می‌شود که تعدیل حساسیت به درد را در پی دارد .[۲۷]و ازاین‌رو تجویز نالوکسان می‌تواند با آنتاگونیزه کردن گیرنده‌های اوپیوییدی ایجاد پردردی نماید.[۵۶] با این‌وجود، اینکه تجویز صفاقی دوز ۲ mg/kg نالوکسان به تنهایی بر آستانه احساس درد حرارتی و مراحل مختلف درد شیمیایی ناشی از تجویز کف پایی فرمالین تأثیر معناداری را نداشته است (نمودارهای ۳ و ٤) این احتمال را مطرح می‌کند که اوپیوییدهای درون‌زاد برای آزاد شدن نیازمند شرایط خاصی هستند که آزمون فرمالین ممکن است نتوانسته باشد شرایط و حساسیت لازم را ایجاد نماید. لازم به بیان است که سیستم اوپیوییدی به‌طور معمول خاموش و در حالت آماده‌باش است. بنابراین مسدود کردن گیرنده‌های اوپیوییدی با نالوکسان فقط زمانی می‌تواند مؤثر

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-13]

باشد که سیستم پیش از آن توسط محرک‌های مناسب نظیر تحریکات الکتریکی ماده خاکستری اطراف قنات مغزی فعال شده باشد.[۵۶] احتمالا در این آزمایش، درد و استرس تولید شده توسط تزریق فرمالین شرایط مناسبی را برای آزادسازی اوپیوییدهای درون‌زاد ایجاد نکرده است.[۵۷و۵۸] به‌این ترتیب احتمال می‌رود که نالوکسان به تنهایی بر پاسخ‌های برخی از محرک‌های درد اثرگذار است نه بر همه آنها و یا این‌که سیستم اوپیوییدی ممکن است به‌طور نسبی اثرات انتخابی بر روی مودالیته‌های حسی خاص اعمال نماید نیز احتمال دیگری است که نباید آن را از نظر دور داشت و تحقیقات بیشتری در این زمینه پیشنهاد می‌گردد. نتایج حاصل از این مطالعه مشخص می‌کند که تجویز صفاقی عصاره به همراه نالوکسان توانسته است در مقایسه با تجویز عصاره به تنهایی به‌طور قابل‌توجهی موجب افزایش شدت احساس درد شیمیایی در مرحله حاد آن گردد (نمودار ٤)، اما تأثیر چشمگیری را بر مرحله درد التهابی و آستانه درد حرارتی نسبت به گروه دریافت‌کننده صفاقی عصاره نگذاشته است (نمودارهای ۳ و ٤). مرحله حاد درد شیمیایی که به واسطه نفوذ سوزن به کف پا شروع می‌شود با فعال‌سازی فیبرهای C و Aδ همراه است اما مرحله التهابی به‌واسطه حضور فرمالین در بافت‌های محیطی است.[۵۹] با توجه به حضور گیرنده‌های کانابینوییدی (CB_2, CB_1) و اوپیوییدی (μ، κ، δ) در سیستم عصبی مرکزی (مسیرهای نخاعی و فوق نخاعی) و همچنین تمرکز گیرنده‌های کانابینوییدی CB_1 و اوپیوییدی در فیبرهای C و Aδ و با توجه به بررسی‌های گذشته می‌توان بیان نمود که با آنتاگونیزه کردن نوعی از گیرنده‌های اوپیوییدی کاپا که گیرنده‌های کانابینوییدی نیز با آن برهم‌کنش دارند، موجب کاهش اثرات ضددردی عصاره توسط نالوکسان در مرحله درد حاد شده است.[٤و٦٤-٦٠] همچنین مطالعات دارویی نشان داده است که سیستم اوپیوییدی درون‌زاد در پاسخ‌های بی‌دردی ناشی از کانابینوییدها مشارکت دارد به‌نحوی‌که گیرنده‌های کاپا در سطح نخاعی موجب تقویت اثرات ضددردی مورفین توسط THC می‌گردد. این نتیجه حاصل آن است که تجویز کانابینوییدهایی نظیر THC موجب افزایش تولید و آزادسازی پپتیدهای اوپیوییدی درون‌زاد از جمله انکفالین و داینورفین در سطوح مختلف سیستم عصبی مرکزی به‌ویژه نخاع به‌عنوان ساختار اصلی کنترل پیام درد شده است و بخشی از اثرات ضددردی خود را نظیر مهار آزادسازی ماده P از طریق مکانیسم‌های وابسته به سیستم اوپیوییدی بروز می‌دهد.[٤و٦٠و٦١] به‌همین دلیل است که نالوکسان می‌تواند به‌طور مؤثری اثرات ضددردی حاصل از کانابینوییدها نظیر THC را تضعیف نماید.[٤و٦٠و٦١] اما نتایج حاصل از بررسی احساس درد التهابی در آزمون فرمالین (نمودار ٤) نشان می‌دهد که در مرحله درد التهابی احتمالا فعال‌سازی گیرنده‌های CB_2 توسط کانابینوییدهای موجود در عصاره موجب کاهش احساس درد شده است.[۵۹] با توجه به عدم تأثیرگذاری نالوکسان بر اثرات ضددردی عصاره در مرحله التهابی می‌توان بیان کرد که این اثرات مستقل از مکانیسم‌های ضددردی وابسته به اوپیوییدها بوده و توسط گیرنده‌های کانابینوییدی به‌ویژه CB_2 انجام شده است.[۵۹و٦۵] به‌این‌ترتیب این احتمال مطرح می‌گردد که کانابینوییدهای دکربوکسیله شده موجود در عصاره گیاه حرارت‌دیده در این پژوهش هم افزون‌بر فعال‌کردن سیستم کانابینوییدی به عنوان مسیر اصلی، سیستم اوپیوییدی را نیز فعال کرده و برخی از اثرات ضددردی خود را از طریق این سیستم اعمال نموده اند. از این‌رو نالوکسان بخشی از اثرات ضددردی عصاره را تغییر داده است (نمودار ٤). در ادامه نتایج به‌دست آمده از این تحقیق و تأثیرات متفاوت دوزهای بسیار پایین (Ultra-low dose) برخی از ترکیبات ضددردی نظیر مورفین، می‌توان به بررسی دوزهای بسیار پایین عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت‌دیده پایه ماده شاهدانه بر روند درد و التهاب پرداخت. همچنین پیشنهاد می‌شود با تجویز هم‌زمان عصاره و آنتاگونیست‌های اختصاصی گیرنده‌های $TRPV_1$، نتایج حاصل بر آستانه احساس درد و التهاب بررسی شود تا درک بهتری از ارتباط میان عصاره و گیرنده‌های وانیلوییدی به‌دست آید. کانابینوییدهای گیاهی دکربوکسیله شده موجود در عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت‌دیده در سطح نخاعی شاید با فعال‌نمودن گیرنده‌های کانابینوییدی CB_1 و CB_2 و مهار فعالیت گیرنده‌های $TRPV_1$ موجب کاهش پردردی حرارتی و شیمیایی ناشی از تجویز نخاعی کپسایسین بشوند و در عین حال تجویز صفاقی نالوکسان می‌تواند موجب تضعیف اثرات ضددردی حاصل از تجویز صفاقی عصاره گردد که نشان‌دهنده برهم‌کنش سیستم‌های کانابینوییدی دکربوکسیله شده و اوپیوییدی در مسیر کنترل دردهای حرارتی و شیمیایی است. در مجموع تحقیقاتی از این قبیل می‌تواند به تولید داروهای ترکیبی درمان‌کننده درد منجر گردد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی تحت عنوان

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-13]

"مطالعه‌ای بر اثر تجویز نخاعی عصاره گل‌های پایه ماده گیاه شاهدانه (Cannabis sativa) بر درد حرارتی و شیمیایی در موش صحرایی نژاد ویستار، مصوب دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۳ به کد ۳۰۷۷٤ می‌باشد که با حمایت دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شده است.

References

1. Mander L, Liu H-W. Comprehensive natural products II: Chemistry and Biology: Elsevier; 2010.
2. Svíženská I, Dubový P, Šulcová A. Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB_1 and CB_2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures a short review. *Pharmacol Biochem Behav* 2008;90(4):501-11.
3. Parolaro D, Realini N, Vigano D, Guidali C, Rubino T. The endocannabinoid system and psychiatric disorders. *Exp Neurol* 2010;224(1):3-14.
4. Maldonado R, Valverde O. Participation of the opioid system in cannabinoid-induced antinociception and emotional-like responses. *Eur Neuropsychopharmacol* 2003;13(6):401-10.
5. Comelli F, Giagnoni G, Bettoni I, Colleoni M, Costa B. Antihyperalgesic effect of a Cannabis sativa extract in a rat model of neuropathic pain: mechanisms involved. *Phytother Res* 2008;22(8):1017-24.
6. Burns TL, Ineck JR. Cannabinoid analgesia as a potential new therapeutic option in the treatment of chronic pain. *Ann Pharmacother* 2006;40(2):251-60.
7. Citti C, Linciano P, Russo F, Luongo L, Iannotta M, Maione S, et al. A novel phytocannabinoid isolated from Cannabis sativa L. with an in vivo cannabimimetic activity higher than Δ 9-tetrahydrocannabinol: Δ 9-Tetrahydrocannabiphorol. *Sci Rep* 2019;9(1):1-13.
8. Takeda S, Misawa K, Yamamoto I, Watanabe K. Cannabidiolic acid as a selective cyclooxygenase-2 inhibitory component in cannabis. *Drug Metab Dispos* 2008;36(9):1917-21.
9. Cavuoto P, Wittert GA. The role of the endocannabinoid system in the regulation of energy expenditure. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2009;23(1):79-86.
10. Haj-Dahmane S, Shen R-Y. Modulation of the serotonin system by endocannabinoid signaling. *Neuropharmacology* 2011;61(3):414-20.
11. Gyombolai P, Pap D, Turu G, Catt KJ, Bagdy G, Hunyady L. Regulation of endocannabinoid release by G proteins: a paracrine mechanism of G protein-coupled receptor action. *Mol Cell Endocrinol* 2012;353(1-2):29-36.
12. Schoffelmeer A, Hogenboom F, Wardeh G, De Vries T. Interactions between CB_1 cannabinoid and μ opioid receptors mediating inhibition of neurotransmitter release in rat nucleus accumbens core. *Neuropharmacology* 2006;51(4):773-81.
13. Oshita K, Inoue A, Tang H-B, Nakata Y, Kawamoto M, Yuge O. CB_1 cannabinoid receptor stimulation modulates transient receptor potential vanilloid receptor 1 activities in calcium influx and substance P release in cultured rat dorsal root ganglion cells. *J Pharm Sci* 2005;97(3):377-85.
14. Izzo AA, Sharkey KA. Cannabinoids and the gut: new developments and emerging concepts. *Pharmacol Ther* 2010;126(1):21-38.
15. Moghadam B, Fereidoni M, Asadollahi A. Effect of hexanic and hydroalcoholic extract of Cannabis sativa flowers on inflammatory paw edema in rats. *J Gorgan Univ Med Sci* 2016;17(4).
16. Moghaddam F, Fereydoni M, Asadollahi, Ali. The effect of intraperitoneal administration of hydroalcoholic and hexane extracts of cannabis-based heated flowers on anxiety behavior, balance and locomotor activity in male rats. *J Yazd Shahid Sadoughi Univ Med Sci* 2016;23(10):932-42.
17. Lin Q, Wu J, Willis WD. Dorsal root reflexes and cutaneous neurogenic inflammation after intradermal injection of capsaicin in rats. *J neurophysiol* 1999;82(5):2602-11.
18. Ko M-C, Woods JH. Local administration of Δ9-tetrahydrocannabinol attenuates capsaicin-induced thermal nociception in rhesus monkeys: a peripheral cannabinoid action. *Psychopharmacology* 1999;143(3):322-6.
19. Rukwied R, Watkinson A, McGlone F, Dvorak M. Cannabinoid agonists attenuate capsaicin-induced responses in human skin. *Pain* 2003;102(3):283-8.
20. Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain* 1987;30(1):103-14.
21. Simone DA, Baumann TK, LaMotte RH. Dose-dependent pain and mechanical hyperalgesia in humans after intradermal injection of capsaicin. *Pain* 1989;38(1):99-107.
22. Guo S-H, Lin J-P, Huang L-E, Yang Y, Chen C-Q, Li N-N, et al. Silencing of spinal $TRPV_1$ attenuates neuropathic pain in rats by inhibiting CAMKII expression and ERK2 phosphorylation. *Sci Rep* 2019;9(1):1-9.
23. Uta D, Yoshimura M, Koga K. Chronic pain models amplify transient receptor potential vanilloid 1 ($TRPV_1$) receptor responses in adult rat spinal dorsal horn. *Neuropharmacology* 2019;160:107753.
24. Schiavi S, Manduca A, Segatto M, Campolongo P, Pallottini V, Vanderschuren LJ, et al. Unidirectional opioid-cannabinoid cross-tolerance in the modulation of social play behavior in rats. *Psychopharmacology* 2019;236(9):2557-68.
25. Sidhpura N, Parsons LH. Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity and addiction-related behavior. *Neuropharmacology* 2011;61(7):1070-87.
26. Zamani N, Hassanian-Moghaddam H, Bayat AH, Haghparast A, Shadnia S, Rahimi M, et al. Reversal of opioid overdose syndrome in morphine-dependent rats using buprenorphine. *Toxicol Lett* 2015;232(3):590-4.
27. Berntson GG, Walker JM. Effect of opiate receptor blockade on pain sensitivity in the rat. *Brain Res Bull* 1977;2(2):157-9.
28. Trevisan G, Rossato MF, Hoffmeister C, Oliveira SM, Silva CR, Matheus FC, et al. Mechanisms involved in abdominal nociception induced by either $TRPV_1$ or TRPA1 stimulation of rat peritoneum. *Eur J Pharmacol* 2013;714(1-3):332-44.
29. Zimmermann M. Ethical considerations in relation to pain in animal experimentation. *Acta Physiol Scand Suppl* 1986;554:221-33.
30. Makkizadeh TM, Farhoudi R, Rabii M, Rastifar M. Evaluation allelopathic effect of Hemp (Cannabis sativa L.) on germination and growth of three kinds of weeds. 2011.
31. Samsam Shariat S. Extraction of effective components of herbal medicine, determination and evaluation methods. Mani Press. Esfahan. Iran. pp; 1993.
32. Yaksh TL, Rudy TA. Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Behav Physiol* 1976;17(6):1031-6.
33. D'amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther* 1941;72(1):74-9.
34. Nalepa I, Vetulani J, Borghi V, Kowalska M, Przewłocka B, Roman A, et al. Changes induced by formalin pain in central α 1-adrenoceptor density are modulated by adenosine receptor agonists. *J Neural Transm* 2010;117(5):549-58.
35. Tavakoli Rod T. Morphine-induced analgesia subsequent to formalin injection in female Wistar rat. *J Basic and Clinical Pathophysiology* 2016;4(1):19-22.
36. Tjølsen A, Berge O-G, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 1992;51(1):5-17.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-13]

37. Fisar Z. Phytocannabinoids and endocannabinoids. *Curr Drug Abuse Rev* 2009;2(1):51-75.
38. Borgelt LM, Franson KL, Nussbaum AM, Wang GS. The P harmacologic and C linical E ffects of M edical C annabis. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* 2013;33(2):195-209.
39. Romero-Sandoval A, Eisenach JC. Spinal cannabinoid receptor type 2 activation reduces hypersensitivity and spinal cord glial activation after paw incision. *Anesthesiology* 2007;106(4):787-94.
40. Lu Ce, Shi L, Sun B, Zhang Y, Hou B, Sun Ye, et al. A single intrathecal or intraperitoneal injection of CB_2 receptor agonist attenuates bone cancer pain and induces a time-dependent modification of GRK2. *Cell Mol Neurobiol* 2017;37(1):101-9.
41. Turner PV, Pekow C, Vasbinder MA, Brabb T. Administration of substances to laboratory animals: equipment considerations, vehicle selection, and solute preparation. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2011;50(5):614-27.
42. Cox ML, Haller VL, Welch SP. The antinociceptive effect of Δ9-tetrahydrocannabinol in the arthritic rat involves the CB_2 cannabinoid receptor. *Eur J Pharmacol* 2007;570(1-3):50-6.
43. Moghaddam F, Fereydoni M, Asadollahi, Ali. The effect of intraperitoneal administration of hydroalcoholic extracts of heated and unheated and hexanic extract of heated Cannabis sativa flowers on pain in rats. *Daneshvar Medicine* 2016;23(6):53-60.
44. Laursen WJ, Bagriantsev SN, Gracheva EO. TRPA1 channels: chemical and temperature sensitivity. Current topics in membranes. 74: Elsevier; 2014. p. 89-112.
45. Lowin T, Straub RH. Cannabinoid-based drugs targeting CB 1 and $TRPV_1$, the sympathetic nervous system, and arthritis. *Arthritis Res Ther* 2015;17(1):1-13.
46. Maione S, Piscitelli F, Gatta L, Vita D, De Petrocellis L, Palazzo E, et al. Non-psychoactive cannabinoids modulate the descending pathway of antinociception in anaesthetized rats through several mechanisms of action. *Br J Pharmacol* 2011;162(3):584-96.
47. Craft RM, Kandasamy R, Davis SM. Sex differences in anti-allodynic, anti-hyperalgesic and anti-edema effects of Δ9-tetrahydrocannabinol in the rat. *PAIN*® 2013;154(9):1709-17.
48. Nackley A, Makriyannis A, Hohmann A. Selective activation of cannabinoid CB_2 receptors suppresses spinal fos protein expression and pain behavior in a rat model of inflammation. *Neuroscience* 2003;119(3):747-57.
49. Briso EM, Guinea-Viniegra J, Bakiri L, Rogon Z, Petzelbauer P, Eils R, et al. Inflammation-mediated skin tumorigenesis induced by epidermal c-Fos. *Genes Dev* 2013;27(18):1959-73.
50. Soliman AC, Jonathan S, Coderre TJ. mGlu and NMDA receptor contributions to capsaicin-induced thermal and mechanical hypersensitivity. *Neuropharmacology* 2005;48(3):325-32.
51. Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new theory. *Science* 1965;150(3699):971-9.
52. Beirith A, Santos AR, Calixto JB. The role of neuropeptides and capsaicin-sensitive fibres in glutamate-induced nociception and paw oedema in mice. *Brain Res* 2003;969(1-2):110-6.
53. Galdino G, Romero TR, Silva JFP, Aguiar DC, de Paula AM, Cruz JS, et al. The endocannabinoid system mediates aerobic exercise-induced antinociception in rats. *Neuropharmacology* 2014;77:313-24.
54. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Biochemistry Do, Jessell MBT, Siegelbaum S, et al. Principles of neural science: McGraw-hill New York; 2000.
55. Choi SI, Lim JY, Yoo S, Kim H, Hwang SW. Emerging Role of Spinal Cord $TRPV_1$ in Pain Exacerbation. *Neural Plast* 2016;2016:5954890.
56. North MA. Naloxone reversal of morphine analgesia but failure to alter reactivity to pain in the formalin test. *Life Sci* 1978;22(4):295-302.
57. Nikbakhty H, Fereidoni M, Asadollahi A. The Effect of Copper Chloride (CuCl2) on Pain and Inflammatory Paw Edema in Rats. *J Babol Univ Med Sci* 2016;18(12):64-70.
58. Tamaddonfard E, Erfanparast A, Taati M, Dabbaghi M, editors. Role of opioid system in verapamil-induced antinociception in a rat model of orofacial pain. Veterinary Research Forum: an International Quarterly Journal; 2014: Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
59. Yuill MB, Hale DE, Guindon J, Morgan DJ. Anti-nociceptive interactions between opioids and a cannabinoid receptor 2 agonist in inflammatory pain. *Mol Pain* 2017;13:1744806917728227.
60. Reche I, Fuentes JA, Ruiz-Gayo M. Potentiation of Δ9-tetrahydrocannabinol-induced analgesia by morphine in mice: involvement of μ-and κ-opioid receptors. *Eur J Pharmacol* 1996;318(1):11-6.
61. Tulunay F, Ayhan I, Portoghese P, Takemori A. Antagonism by chlornaltrexamine of some effects of Δ9-tetrahydrocannabinol in rats. *Eur J Pharmacol* 1981;70(2):219-24.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-13]

TUMJ Tehran University Medical Journal, December 2020; Vol. 78, No. 9: 562-572 Original Article

Effects of Intrathecal administration of capsaicin and intraperitoneal administration of naloxone on anti-nociceptive function of heated *Cannabis sativa* female flowers hydroalcoholic extract

Bahram Farhadi Moghadam M.Sc.
Masoud Fereidoni Ph.D.*

Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Abstract

Received: 08 Jun. 2020 Revised: 15 Jun. 2020 Accepted: 11 Nov. 2020 Available online: 21 Nov. 2020

Background: The endocannabinoid system interacts with the vanilloid and opioid systems. The current study aims to investigate the effects of the extract obtained from the heated *Cannabis Sativa* female flower base either with capsaicin at the spinal cord level or naloxone at the systemic level on the intensity of chemical and thermal pain sensation.

Methods: This experimental study was performed in the Department of Biology at Ferdowsi University of Mashhad from April 2014 to March 2015 using adult male Wistar rats (200-250 g) categorized into groups of 7 animals. In addition to the control and sham (solvent of chemicals) groups, groups with intraperitoneal administration of 50 mg/kg of the hydroalcoholic extract, 2 mg/kg of naloxone alone and naloxone together with extract were investigated. Moreover, intrathecal administration groups including the concentration of 0.01 mg/ 10 µl of extract, the concentration of 0.002 mg/10 µl of capsaicin alone and the extract together with capsaicin were evaluated. To measure the thermal pain threshold, a tail-flick test was used and to measure the chemical pain intensity, the formalin test was utilized. The obtained data were analyzed statically.

Results: Intrathecal administration of the extract together with capsaicin led to a significant reduction of thermal hyperalgesia ($P<0.001$) and chemical hyperalgesia ($P<0.001$) induced by intrathecal administration of capsaicin. On the other hand, intraperitoneal administration of naloxone together with the extract did not effect on the thermal pain threshold. While the administration of naloxone increased the severity of chemical pain during the acute phase compared to the group treated with the extract alone ($P<0.01$).

Conclusion: The phytocannabinoids of the flower extract may have inhibited capsaicin-induced hyperalgesia via cannabinoid receptors activation and the $TRPV_1$ receptor desensitization. Naloxone administration has also been able to attenuate the analgesic effect of hydroalcoholic flower extract during the acute phase of chemical pain. Probably the extract is thought to exert part of its effect on pain through opioid receptors.

Keywords: cannabinoid receptor agonists, *cannabis sativa*, opioid receptor, pain, transient receptor potential vanilloid 1.

*Corresponding author: Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
Tel: +98-51-36214026
E-mail: fereidoni@um.ac.ir

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-13]