اثر کادمیوم بر ایجاد تحمل به اثر ضد دردی مرفین در موش صحرایی

محمد امین شرافت[۱]- امیر ضارب کهن[۲]- جمال قربی[۳]- صباح مظفری[۱]- محمد جوان[٤]

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 6:45 +0330 on Friday October 20th 2017

چکیده

زمینه و هدف: کادمیوم کاتیونی است که در همه محصولات تنباکو و از جمله دود سیگار وجود دارد. شواهدی وجود دارد که این کاتیون می‌تواند موجب تداخل با تکوین تحمل به مرفین شود. در این مطالعه سعی شده است اثر کادمیوم بر تکوین تحمل به اثر ضد دردی مرفین بررسی شود.

روش تحقیق: برای القای تحمل به مرفین، دوز ۱۵ میکروگرم مرفین دو بار در روز به مدت پنج روز به شیوه داخل نخاعی به موشهای صحرایی نر تزریق شد. امکان ایجاد تحمل به کادمیوم nmol/rat ۲۰ به روش مشابه بررسی شد. برای بررسی اثر کادمیوم بر ایجاد تحمل به مرفین، در گروه دیگری از موشهای صحرایی ۱۵ دقیقه قبل از مرفین، کادمیوم تجویز گردید. اثرات ضددردی درمانهای مختلف توسط آزمون Tail Flick سنجیده شد.

یافته ها: تجویز داخل نخاعی کادمیوم باعث بی دردی گردید که تا ۱۲ ساعت بعد نیز ادامه داشت. در گروهی از حیوانات که به مدت پنج روز کادمیوم دریافت می کردند، تجویز مرفین به تنهایی در روز ششم بی دردی بارزی ایجاد نکرد. همچنین مصرف مکرر کادمیوم باعث ایجاد تحمل به اثر ضد دردی آن شد. مقایسه زمان تأخیر Tail Flick روز ششم (بعد از تزریق مرفین با دوز .µg/rat-i.t ۱۵) در گروه دریافت کننده مرفین و گروه دریافت کننده کادمیوم همراه با مرفین، حاکی از این بود که کادمیوم توان مهار روند ایجاد تحمل به مرفین را ندارد.

نتیجه گیری: بر اساس این یافته ها، کادمیوم در کاربرد داخل نخاعی موجب تکوین تحمل به اثر ضد دردی مرفین می‌شود. به نظر می رسد کادمیوم موجود در دود سیگار که خود تسکین دهنده است، باعث تکوین تحمل به مرفین و پیشبرد اعتیاد به آن می شود.

کلید واژه ها: مرفین؛ تحمل؛ کادمیوم؛ نخاع کمری؛ موش صحرایی

افق‌دانش؛ فصلنامه دانشگاه علوم‌پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گناباد (دوره۱۴؛ شماره ۱؛ بهار سال ۱۳۸۷)

دریافت: ۱۳۸۷/۳/۲۷ اصلاح نهایی: ۱۳۸۷/۶/۱۴ پذیرش: ۱۳۸۷/۶/۱۸

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی، مربی گروه علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی گناباد

۳- کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۴- **نویسنده مسؤول**؛ استادیار فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

آدرس: گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

تلفن: ۸۲۸۸۴۵۲۲-۰۲۱ پست الکترونیکی: mjavan@modares.ac.ir

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 6:45 +0330 on Friday October 20th 2017

مقدمه

اپیوئیدها از دیر باز برای ایجاد بی دردی استفاده می شدند در حالیکه تجویز آنها به مدت طولانی می تواند منجر به ایجاد تحمل شود. در تحمل اپیوئیدی اثر ضد دردی یک دوز مشخص از مرفین تدریجاً کاهش می یابد و برای رسیدن به همان اثر بی دردی اولیه باید دارو در مقادیر بالاتری مصرف گردد (۱). بنابراین هر مطالعه‌ای که باعث شود عوامل و مکانیسم‌های دخیل در آن بهتر شناخته شود مفید خواهد بود.

کادمیوم فلز سنگینی می باشد که در سال ۱۸۱۸ توسط فلز شناس آلمانی Strohmeyer کشف شد. نام این فلز به این خاطر کادمیوم نهاده شد که منبع اصلی آن Zinc-flowers (رسوبهای موجود بر دیواره کوره های بازیافت فلز روی) بود (۲,۳). کادمیوم آلاینده محیطی و صنعتی می باشد که توسط آژانس بین المللی تحقیقات سرطان (IARC)[1] در گروه I مواد سرطانزای انسانی طبقه بندی می شود (۴). منابع اصلی کادمیوم شامل تنباکو، ضایعات صنعتی و رژیم غذایی می باشد (۲). مهمترین منابع غذایی آن سبزیجات برگ دار، نرم تنان، بافت کبد و کلیه، غلات و کاکائو است. نیمه عمر کادمیوم در خون انسان ۳-۲ ماه می باشد که البته پس از جذب برای دهها سال به شکل ذخیره ای باقی می ماند (۲). این عنصر برای گیاهان، حیوانات و انسانها ضروری نبوده و حضور آن در موجودات زنده ناخواسته و مضر است و می‌تواند از طریق غذا، آب و دود سیگار وارد بدن شود (۵). تنباکو در کسانی که دخانیات مصرف می‌کنند منبع مهم جذب کادمیوم است (۲). در واقع دود سیگار بزرگترین منبع مواجهه با کادمیوم است (۵). در انسان و حیوانات آزمایشگاهی جذب آن از طریق ریه‌ها از جذب آن از طریق دستگاه گوارش بیشتر است و حدود ۵۰٪ کادمیوم تنفس شده جذب می‌شود (۶). در سیگاری‌ها در مقایسه با غیر سیگاری‌ها جذب روزانه کادمیوم بیش از دو برابر است (۲).

از آنجایی که زنان ذخیره آهن کمتری دارند و جذب کادمیوم در ذخایر پایین آهن افزایش می‌یابد، این عنصر در بدن زنان بیشتر از مردان است (۷). از نظر تجمع در بافتهای بدن، علاوه بر کبد و کلیه مشخص شده است که اتساع کمری نخاع نسبت به اتساع سینه‌ای دارای کادمیوم بیشتری است (۸).

Marlowe و Jacobs در سال ۱۹۸۳ گزارش کردند که کادمیوم به شکل چشمگیری موجب افزایش تولد تعداد کودکان دچار عقب ماندگی ذهنی و یا دارای ضریب هوشی نسبتا پایین می گردد (۲,۹,۱۰). مواجهه با کادمیوم موجب ایجاد اختلالات عصبی رفتاری مانند اختلال در توجه، سایکوموتور و حافظه می شود (۱۱).

کادمیوم فعالیت پروتئین کینازها، فسفاتازها و فاکتورهای نسخه‌برداری متصل‌شونده به DNA را هدف گرفته و در تحریک حرکت کلسیم بوسیله تشکیل IP_3 نقش دارد. همچنین کادمیوم سطوح داخل سلولی cGMP را افزایش می دهد (از طریق مهار فسفودی‌استراز) و MAPK (پروتئین کیناز فعال شده مرتبط با میتوژن)، PKC (پروتئین کیناز وابسته به کلسیم) و c-Jun کیناز را فعال می‌کند (۱۲). مهار Jak کیناز بوسیله کادمیوم مکانیسم جدیدی از عمل کادمیوم می باشد که ممکن است بوسیله آن موجب نروتوکسیسیتی شود (۱۳). علاوه بر این مشخص شده است که کادمیوم در رهایش نروترنسمیترها در نرونها رقابت می کند و چون غیر اختصاصی می باشد موجب اختلال در عملکرد نروترنسمیترها می شود. از طرف دیگر کادمیوم می تواند موجب کاهش زمان باز ماندن کانالهای کلسیمی واقع در غشا سلولی نرونها شده و موجب کاهش جریان ورودی کلسیم و در نتیجه محدودیت رهایش نروترنسمیترها گردد (۲).

با توجه به شواهد فوق بنظر می رسد کادمیوم که به وفور در دود سیگار وجود دارد بر مسیر انتقال درد و تکوین تحمل به اثر ضد دردی مرفین موثر باشد. با توجه به اینکه اثر سیگار کشیدن بر بروز زمینه اعتیاد به مواد مخدر به اثبات رسیده و درصد بالایی از افراد جوامع بشری دخانیات مصرف می کنند و برای کنترل درد بیماران بخصوص بیماران با دردهای مزمن (بیماران سرطانی و انواع شکستگیها) از مرفین و مشتقات آن استفاده می شود، در این مطالعه سعی شده ضمن مطالعه اثر کادمیوم بر رفتار درد، با افزایش غلظت کادمیوم مرکزی، اثر این کاتیون روی تکوین تحمل به مرفین بررسی گردد. به دلیل اینکه سد خونی - مغزی مانعی برای ورود مقادیر دلخواه کادمیوم به CNS است و برای پرهیز از اثرات وسیع آن در مصرف سیستمیک، از تزریق داخل نخاعی[2] (i.t.) و موضعی کادمیوم ($CdSO_4$) استفاده شد.

1 - International Agency for Research on Cancer

2- Intratechal

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 6:45 +0330 on Friday October 20th 2017

روش تحقیق

حیوانات: موشهای صحرایی نر نژاد Wistar با محدوده وزنی ۲۲۰-۱۸۰ گرم که تصادفی در گروههای حداقل پنج تایی قرار گرفتند، مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات محدودیتی از نظر دسترسی به آب و غذا نداشتند و در شرایط کنترل شده نوری و گرمایی نگهداری می شدند (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، روشنایی از ساعت ۷ صبح بود). برای تزریقات داخل نخاعی، حیوانات بعد از کانول گذاری، جداگانه نگهداری می شدند و به آنها اجازه داده می شد تا به مدت ۴۸ ساعت قبل از تیمار با دارو بهبود یابند. برای پرهیز از القای استرس، حیوانات قبل از آزمایش دست آموز می شدند. هر حیوان تنها یک بار استفاده می شد. پروتکل های اخلاقی موجود در خصوص کار با حیوان آزمایشگاهی مد نظر قرار گرفت تا رنج و درد احتمالی آنها به حداقل برسد.

مواد: مرفین سولفات (شرکت تماد ایران) در سالین (۰/۹٪) حل شده و بصورت داخل نخاعی در حجم ۱۰µl/rat (با دوز ۱۵ µg/rat) تزریق می شد. سولفات کادمیوم ($CdSO_4$) نیز بصورت داخل نخاعی و در حجم ۱۰ µl/rat (با دوز ۲۰ nmol/rat) تزریق می شد.

تزریق داخل نخاعی: کانول گذاری فضای زیر عنکبوتیه نخاعی در موش صحرایی، تکنیک رایج مطالعه مکانیسم نخاعی درد و بی دردی است (۱۴). تزریق داخل نخاعی بر اساس روش Yaksh و Ruddy (سال ۱۹۷۶) انجام گرفت. بطور خلاصه، دو روز قبل از آزمایشهای رفتاری، حیوانات با تزریق کتامین (۱۰۰mg/kg) و زایلازین (۲mg/kg) به طریق داخل صفاقی بیهوش می شدند. سپس سر حیوان در دستگاه استریوتاکس جهت انجام جراحی ثابت می شد. یک برش کوچک به طول ۲ سانتی متر از بین گوشها به طرف پایین ایجاد و عضلات گردنی کنار زده شده و به آرامی از روی تیغه اکسی پیتال جمجمه آزاد می شدند. سپس وسط غشاء اطلس- اکسی پیتال سوراخ کوچکی ایجاد می شد که منجر به خروج مایع مغزی- نخاعی می گردید که نشانه ای از دسترسی به فضای زیر عنکبوتیه بود. یک لوله پلی اتیلن ۱۰ به طول ۱۱ سانتی متر آماده و ۸ سانتی متر آن به آرامی در فضای زیر عنکبوتیه به طرف قطعه کمری نخاع پیش برده می شد. لوله پلی اتیلن قبل از استفاده، به وسیله اتانول ۷۰٪ استریل و کاملاً با سالین استریل شسته می شد. موشهای صحرایی دارای کانول تغییر معنی داری را در زمان تأخیر Tail Flick قبل و بعد از جراحی نشان نمی دادند. ۳ سانتی متر از لوله خارج از نخاع قرار می گرفت و برای تزریق دارو استفاده گردید. تنها حیواناتی که بعد از کانول گذاری نقص حرکتی پیدا نمی کردند مورد آزمایش قرار می گرفتند (۱۵). دارو یا سالین به صورت داخل نخاعی در حجم 10 µl/rat تزریق می شد.

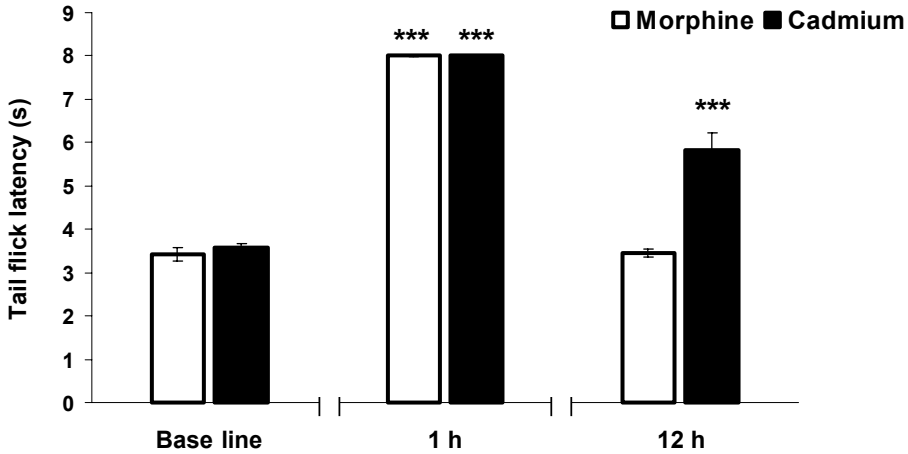
القای تحمل به مرفین و کادمیوم: از تزریق مکرر مرفین به صورت داخل نخاعی، (۱۵ µg/rat در حجم ۱۰µl) دو بار در روز (صبح و عصر) به مدت ۵ روز برای القای تحمل به مرفین استفاده شد (۱۷) و برای بررسی اثر کادمیوم روی تکوین تحمل به مرفین، گروه اول از موشهای صحرایی ۱۰ µl/rat سالین و ۱۵ دقیقه بعد از آن ۱۵ µg/rat مرفین را به صورت داخل نخاعی دریافت می کردند. گروه دوم ۱۵ µg/rat-i.t. مرفین را ۱۵ دقیقه بعد از تزریق ۲۰ nmol/rat کادمیوم (در حجم ۱۰ µl/rat) دریافت می کردند. دو گروه دیگر سالین (۱۰ µl/rat-i.t.) را بعد از تزریق داخل نخاعی کادمیوم یا سالین دریافت می کردند. این روند به مدت ۵ روز تکرار می شد. در روز ششم (۱۶ ساعت پس از آخرین تزریق مرفین) اثر ضد دردی ۱۵ g/rat-i.t. مرفین توسط آزمون Tail Flick (16) و محاسبه درصد بی دردی از حداکثر بی دردی ممکن، بررسی می شد.

تجزیه و تحلیل آماری: نتایج بصورت میانگین± خطای معیار ارائه شده اند. تفاوت آماری بین زمان تأخیر در آزمون Tail Flick در قبل و بعد از مصرف دارو با آزمون Paired t-student برآورد شده است. تفاوت بین میانگین اثر بی دردی از حداکثر اثر ممکن در گروههای مختلف با کمک آزمون ANOVA یک طرفه و بدنبال آن آزمون Tukey برآورد شد. $p<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی دار بودن تفاوت میانگین ها مورد استفاده قرار گرفته است.

یافته ها

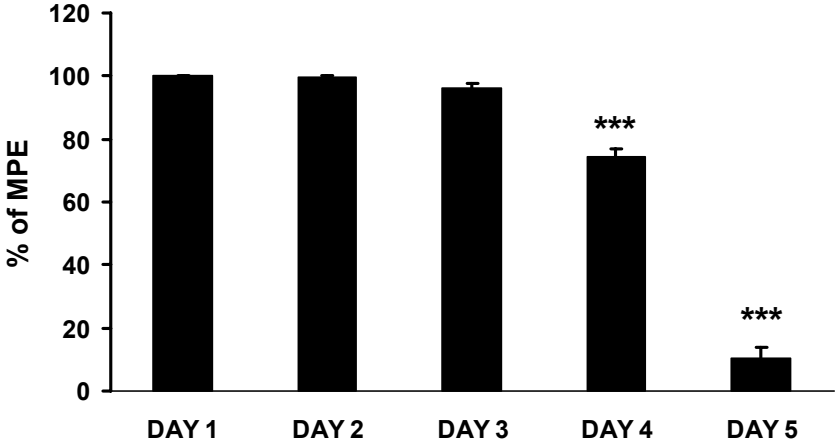
همانطور که در نمودار ۱ نشان داده شده است، در دو گروه از موشهای صحرایی اثر تک دوز مرفین و کادمیوم بر درد حاد توسط آزمون Tail Flick بررسی گردید. یک ساعت پس از تزریق مرفین با دوز ۱۵ µg/rat-i.t.، بی دردی قوی ایجاد شد که ۱۲ ساعت بعد قابل مشاهده نبود اما تزریق تک دوز کادمیوم باعث بی دردی قوی گردید که تا ۱۲ ساعت بعد نیز ادامه داشت. تزریق ۱۵ µg/rat-i.t. مرفین پس از یک ساعت باعث افزایش بارز زمان تأخیر پس کشیدن دم در آزمون Tail Flick گردید. اما پس از ۲۴ ساعت، این اثر ضد دردی بطور کامل از بین رفته بود. تزریق ۲۰ nmol/rat-i.t. کادمیوم پس از یک ساعت باعث افزایش بارز زمان تأخیر پس کشیدن دم گردید که پس از ۱۲ ساعت، این اثر ضد دردی ادامه داشت ($p<۰/۰۰۱, n=۵$).

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 6:45 +0330 on Friday October 20th 2017



نمودار۱: اثرات ضد دردی مرفین و کادمیوم در ۱ و ۱۲ ساعت پس از تزریق داخل نخاعی

نمودار۲ نشان دهنده ایجاد تحمل به اثر ضد دردی کادمیوم به دنبال مصرف مکرر آن است. گروهی از حیوانات کاتیون کادمیوم را به مدت ۵ روز (با دوز ۲۰ nmol/rat و در حجم ۱۰ µl) دو بار در روز دریافت نمودند و میزان بی دردی حاصل از تزریقات صبح هر روز و عصر روز پنجم با کمک آزمون Tail Flick بررسی گردید. میزان بی دردی کادمیوم در روزهای ۴ و ۵ بطور معنی داری کاهش یافت که نشانه تکوین تحمل به اثر ضد دردی آن است.



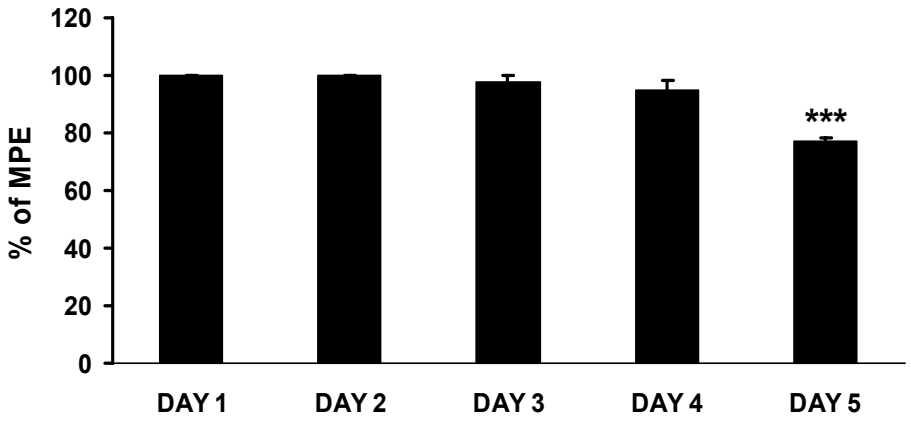
نمودار۲: ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی کادمیوم (p<۰/۰۰۱ , n=۵)

کادمیوم با دوز ۲۰ nmol/rat-i.t. دو بار در روز (صبح و عصر) به موشهای صحرایی بصورت داخل نخاعی تزریق شد. نمودار اثر ضد دردی کادمیوم را پس از تزریقات صبح در روزهای ۱ تا ۴ و پس از تزریق عصر در روز ۵ نشان می دهد. داده ها نشان دهنده بروز معنی دار تحمل در روزهای ۴ و ۵ است.

مصرف مزمن مرفین با دوز ۱۵ µg/rat-i.t. به مدت پنج روز باعث کاهش میزان بی دردی ناشی از همان دوز مرفین در روز ۵ گردید (نمودار۳) که نشانه تکوین تحمل به اثر ضد دردی آن است.

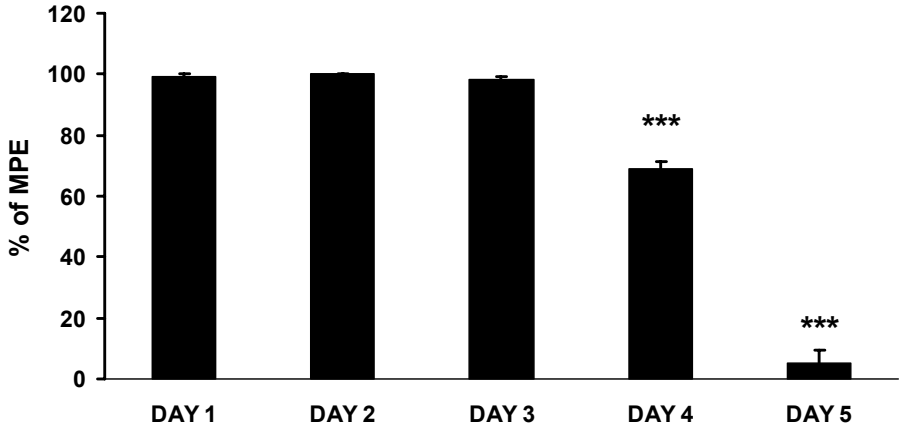
مرفین با دوز ۱۵ µg/rat-i.t. دو بار در روز (صبح و عصر) به موشهای صحرایی بصورت داخل نخاعی تزریق شد. نمودار اثر ضد دردی مرفین را پس از تزریقات صبح در روزهای ۱ تا ۴ و پس از تزریق عصر در روز ۵ نشان می دهد. داده ها نشان دهنده بروز معنی دار تحمل در روز ۵ است.

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 6:45 +0330 on Friday October 20th 2017



نمودار۳: ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین (n=۵ , p<۰/۰۰۱)

در گروهی از حیوانات که کاتیون کادمیوم را توام با مرفین به مدت ۵ روز دریافت کرده بودند بی دردی بارزی مشاهده شد که میزان آن در روزهای ۴ و ۵ کاهش چشمگیری داشت و نشانه ایجاد تحمل به اثر ضد دردی ناشی از مصرف همزمان مرفین و کادمیوم بود (نمودار ۴).

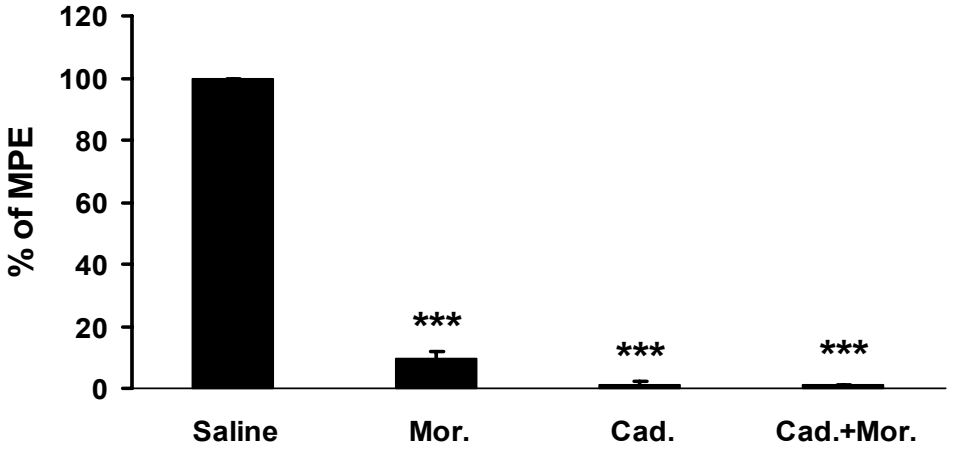


نمودار۴: ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی توام مرفین و کادمیوم (n=۵ , p<۰/۰۰۱)

مرفین با دوز ۱۵ μg/rat-i.t. به همراه کادمیوم ۲۰ nmol/rat-i.t. دو بار در روز (صبح و عصر) به موشهای صحرایی بصورت داخل نخاعی تزریق شد. نمودار میزان بی دردی ایجاد شده را پس از تزریقات صبح در روزهای ۱ تا ۴ و پس از تزریق عصر در روز ۵ نشان می دهد. داده ها نشان دهنده بروز معنی دار تحمل در روزهای ۴ و ۵ است.

نمودار ۴ میزان بی دردی از حداکثر بی دردی ممکن را در روز ۶ در گروههای مختلف از موشهای صحرایی نشان می دهد که طی روزهای ۱ تا ۵ تحت تیمارهای مختلف بوده اند. مرفین در گروه دریافت کننده سالین مزمن بی دردی کاملی را نشان داد. مصرف مرفین به تنهایی، کادمیوم به تنهایی و کادمیوم توام با مرفین در روزهای ۱ تا ۵ در مقایسه با گروه سالین باعث ایجاد تحمل به اثر ضد دردی مرفین گردید. این یافته ها در کنار تأیید ایجاد تحمل به اثرات ضد دردی مرفین به دنبال مصرف مکرر آن به تنهایی و همراه با کادمیوم، نشان دهنده تحمل متقابل به مرفین به دنبال مصرف مکرر کادمیوم نیز می باشد.

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 6:45 +0330 on Friday October 20th 2017



نمودار ۵: ایجاد تحمل متقابل نسبت به اثر ضد دردی مرفین به دنبال مصرف مکرر کادمیوم و یا مصرف مکرر مرفین و کادمیوم

(p<۰/۰۰۱ , n=۵)

نمودار ۵ اثر ضد دردی مرفین را در روز ۶ در گروههای مختلف از موشهای صحرایی نشان می دهد که در روزهای ۱ تا ۵ (دو بار در روز) تحت درمانهای گوناگون به شرح زیر بودند: گروه Saline به مدت ۵ روز فقط سالین، گروه .Mor به مدت ۵ روز فقط مرفین، گروه .Cad به مدت ۵ روز فقط کادمیوم و گروه .Cad.+Mor به مدت ۵ روز کادمیوم توام با مرفین. اثر ضد دردی مرفین در گروههای مختلف نسبت به گروه تحت تیمار با سالین کاهش معنی دار نشان داد.

بحث

در این مطالعه برای القای تحمل به مرفین در موش صحرایی از تزریق داخل نخاعی آن به میزان .µg/rat-i.t ۱۵ به مدت ۵ روز و دو بار در روز (صبح و عصر) استفاده شد. نتایج بدست آمده حاکی از کاهش معنی دار اثر ضد دردی مرفین در این گروه از حیوانات در روزهای پنجم و ششم بود و نشان داد که مصرف مکرر مرفین با الگوی مذکور قادر است تا نسبت به اثر ضد دردی همان دوز مرفین، ایجاد تحمل نماید.

بر اساس نتایج بدست آمده از این مطالعه کادمیوم موجب بی دردی می گردد که احتمالات زیر برای اثر ضد دردی آن قابل طرح است. مرفین پس از ورود به بدن گلوکورونیزه شده و به متابولیتهای خود یعنی M3G (مرفین ۳ گلوکورونیزه) و M6G (مرفین ۶ گلوکورونیزه) تبدیل می گردد، که M3G متابولیت غیر فعال و M6G فعال بوده و به عنوان آگونیست قوی اپیوئید شناخته می شود. نسبت این دو متابولیت به یکدیگر به صورت M3G/M6G نشان داده می شود (۱۸). مشخص شده است که کادمیوم موجب کاهش ساخت M3G می گردد ولی بر ساخت M6G اثر مستقیمی ندارد (۱۸). به این ترتیب ممکن است کادمیوم با کاهش ساخت M3G موجب افزایش نسبت دو متابولیت به یکدیگر شده و در نتیجه از این طریق موجب بی دردی و تسریع تکوین تحمل به اثر ضد دردی مرفین گردد.

مصرف مکرر مرفین موجب کاهش جریان کلسیم در نرونهای حسی و کاهش سیگنالینگ گیرنده µ-opioid می گردد (۲۸). کادمیوم ممکن است از طریق کاهش زمان باز ماندن کانالهای کلسیمی غشاء سلولی نرونها و در نتیجه کاهش جریان ورودی کلسیم، موجب محدودیت در رهایش نروترنسمیتر گردد (۲) و اثرات مرفین را در جهت کاهش درد و سیگنالینگ گیرنده µ-opioid و در نهایت تحمل تقلید و تقویت کند.

یافته مهم دیگر این مطالعه نقش تسریع کننده تحمل به اثر ضد دردی مرفین بدنبال تجویز کادمیوم می باشد که مکانیسم های مختلفی می تواند در این خصوص مورد بحث قرار گیرد. یکی از تئوریهای قوی مرتبط با ایجاد تحمل و وابستگی به مرفین ایجاد آپوپتوز در نرونهای سیستم عصبی می باشد. در روند تحمل به مرفین نشان داده شده که تجویز طولانی مدت مرفین موجب تنظیم افزایشی در بیان Caspase-3 (فسفاتاز پروآپوپتوتیک) و پروتئین های Bax (پروتئین پروآپوپتوتیک) در شاخ خلفی نخاع می گردد، و از طرفی موجب تنظیم کاهشی

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 6:45 +0330 on Friday October 20th 2017

پروتئین آنتی آپوپتوتیک Bcl-2 در شاخ خلفی نخاع می‌شود (۱۹). از طرف دیگر برخی مطالعات اخیر نشان می دهد کادمیوم نیز به شکل مشابهی موجب بروز آپوپتوز در نرونهای سیستم عصبی مرکزی می گردد، به این صورت که ۴ ساعت پس از مواجهه با کادمیوم بیان Bcl-2 بطور چشمگیری کاهش می یابد (۲۰). همچنین آپوپتوز القا شده توسط کادمیوم در انواع رده های سلولی به صورت وابسته به فعال سازی آبشارهای فسفاتازی داخل سلولی می باشد (۲۲-۲۰) و به شکل وابسته به زمان موجب افزایش فعالیت Caspase-3 می گردد (۴,۲۰). علاوه بر این مشخص شده که، آبشار سیگنالینگ JNK/c-Jun نقش حیاتی در آپوپتوز القا شده توسط کادمیوم در نرونهای سیستم عصبی بازی می کند (۴,۲۳,۲۴) که این گواه دیگری بر نقش کادمیوم در تخریب نرونهای سیستم عصبی می باشد. با توجه به توضیحات فوق اینگونه بر می آید که مرفین و کادمیوم از مسیری تقریباً مشترک موجب آسیب به سیستم عصبی مرکزی می گردند.

این آسیب بویژه آسیب سلولهای عصبی مهاری می تواند زمینه ساز بروز تحمل باشد. این تشابه عملکرد کادمیوم و مرفین، این احتمال را که کادمیوم از طریق مکانیسمی مشابه با مرفین موجب تسریع در تکوین تحمل به اثر ضد دردی آن می گردد را نشان می دهد. یکی دیگر از مکانیسم هایی که در تحمل به مرفین نقش دارد فعالیت PKC می باشد. PKC با فسفریلاسیون گیرنده های اپیوئیدی، پروتئین Gi و آدنیلیل سیکلاز در حساسیت زدایی، اینترنالیزاسیون و تنظیم کاهشی گیرنده های اپیوئید و همچنین در تنظیم حساسیت آدنیلیل سیکلاز نقش دارد (۲۵,۲۶). پروتئین کینازهای وابسته به کلسیم نه تنها به طور قوی در مکانیسمهای نخاعی حساسیت که منجر به شرایط آلودینا و هیپرآلژزیا می شود دخالت دارند بلکه همچنین در تکوین تحمل به اثرات مرفین هم دخالت دارند (۲۷). از طرفی نیز ذکر شد که کادمیوم موجب فعال شدن PKC می گردد که این امر تسریع تکوین تحمل به مرفین توسط این فلز را توجیه می کند. علاوه بر این مشخص شده است که کادمیوم قدرت دوزهای انتخابی نالوکسان و اثرات مهاری آن بر مرفین را کاهش می دهد و در نتیجه اثرات تحریکی مرفین را مهار می کند (۲۹). همچنین مواجهه مکرر با کادمیوم موجب تضعیف حساسیت زایی حرکتی ایجاد شده توسط مرفین می گردد (۳۰). کادمیوم در مصرف دراز مدت می تواند اتصال لیگاندهای میواپیوئیدی را به گیرنده هایشان مهار کند (۳۱). این مسیر دیگری است که ممکن است کادمیوم از طریق آن در ایجاد تحمل متقابل و تسریع روند تحمل ایفای نقش کند. سیستم دوپامینرژیک و گلوتاماترژیک در تحمل به مرفین نقش مهمی ایفا می کنند (۳۲,۳۳). همچنین مشخص شده است که مرفین موجب کاهش سطوح دوپامین مغز می گردد (۳۴). کادمیوم نیز در رت موجب کاهش سنتز محتوای دوپامین می‌شود (۲,۳۱). در نتیجه ممکن است کادمیوم از این طریق باعث تحمل متقابل شود. علاوه براین، فعالیت کانالهای NMDA[1] توسط کادمیوم مهار می‌شود (۲) و از آنجا که این کانالها در پردازش درد و ایجاد تحمل نقش کلیدی ایفا می کنند، ممکن است کادمیوم از طریق مهار این کانالها موجب مهار درد و ایجاد تحمل گردد.

نتیجه گیری

بر اساس یافته های این مطالعه، کادمیوم در کاربرد داخل نخاعی موجب تکوین تحمل متقابل به اثر ضد دردی مرفین می‌شود، ایجاد تحمل به مرفین را تسریع می کند و خود باعث بی دردی قوی می گردد. به نظر می رسد کادمیوم موجود در دود سیگار که خود تسکین دهنده است باعث تکوین تحمل به اثرات ضد دردی مرفین می گردد. تحمل یکی از جنبه های اعتیاد به مواد مخدر بوده و بر این اساس مصرف سیگار در افراد سیگاری در عمل برخی از ابعاد اعتیاد به اپیوئیدها را پیش می برد. این یافته یکی دیگر از آثار مضر مصرف سیگار را آشکار می سازد و تا حدی دلیلی برای افزایش گرایش به مواد مخدر را در بین افراد سیگاری ارائه می نماید. یکی از جنبه های با اهمیت این مطالعه همانطور که در مقدمه اشاره شد این است که مصرف سیگار موجب تسریع در ایجاد تحمل به اثر ضد دردی مرفین می گردد و این مسأله برای افراد دارای بیماریهای مزمن با دردهای مزمن (انواع شکستگیهای استخوانی و انواع سرطانها) که نیاز به مصرف طولانی مدت مرفین در جهت کنترل درد دارند بسیار حائز اهمیت می باشد. به عبارت دیگر پیشینه سیگار کشیدن فرد کارایی اپیوئیدها در کنترل درد آنها را تا حد زیادی تحت تأثیر قرار می دهد. بر این اساس پیشنهاد می شود در صورت امکان، حذف کادمیوم از محصولات تنباکو در دستور کار کارخانجات سازنده قرار گیرد و آگاهی لازم به بیماران دارای دردهای شدید و کادر درمانی داده شود.

1- N-methyl D-aspartat

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 6:45 +0330 on Friday October 20th 2017

References:

1- Foley KM. Opioids. Neurol Clin. 1993; 11: 503-22.

2- Hubbs TL. Cadmium, Neurotoxi, Micronutri, and Social Environ. 2006; 6: 97-101.

3- Yakimova ET, Kapchina-Toteva VM, Laarhoven LJ, Harren WFM. Involvement of ethylene and lipid signaling in cadmium-induced programmed cell death in tomato suspension cells. Plant Physiol and Biochem. 2006; 44: 581-9.

4- Liu Y, Zhang SP, Cai YQ. Cytoprotective effects of selenium on cadmium-induced LLC-PK1 cells apoptosis by activating JNK pathway. Toxicol in Vitro. 2007; 21: 677-84.

5- Gary DS, Mattson MP. Integrin signaling via the PI3 kinas/AKT pathway increases neuronal resistance to glutamate-induced apoptosis. J Neurochem. 2001; 76: 1458-96.

6- Volchegorskii IA, Telesheva IB, Turygin VV. Age-related changes in cadmium content and oxidative modification of proteins in different regions of human spinal cord. Bull Exp Biol Med. 2004; 137: 440-2.

7- Satarug S, Haswell-Elkins MR, Moore MR. Safe levels of cadmium intake to prevent renal toxicity in human subjects. Br J Nutr. 2000; 84: 791-802.

8- Lecoeur S, Huynh-Delerme C, Blais A, Duche, A, Tome D, Kolf-Clauw M. Implication of distinct proteins in cadmium uptake and transport by intestinal cells HT-29. Cell Biol Toxicol. 2002; 18: 409-23.

9- Mendez-Armenta M, Rıos C. Cadmium neurotoxicity. Environ Toxicol and Pharmacol. 2007; 23: 350-8.

10- Wim Wätjen HH, Biagioli M, Beyersmann D. Induction of Apoptosis in Mammalian Cells by Cadmium and Zinc. Environ Health Perspect. 2002; 110: 865-7.

11- Monroe RK, Halvorsen SW. Cadmium blocks receptor-mediated Jak/STAT signaling in neurons by oxidative stress. Free Radical Biol & Med. 2006; 41: 493-502.

12- Pogatzki EM, Zahn PK, Brennan TJ. Lumbar catheterization of the subarachnoid space with a 32-gauge polyurethane catheter in the rat. E J of Pain. 2000; 4: 111-3.

13- Yaksh TL, Ruddy TA. Chronic catheterization of the spinal sub-arachnoid space. physiol Biochem Behav. 1976; 17: 1031-6.

14- D'Amour FE, Smith DL. A method for detemination loss of pain sensation. J Pharmacol Exp Therap. 1941; 72: 74-9.

15- Javan M, Ahmadiani A, Motamadi F, Kazemi B. Changes in G proteins genes expression in rat lumbar spinal cord support the inhibitory effect of chronic pain on the development of tolerance to morphine analgesia. Neurosci Res. 2005; 53: 250–6.

16- Antonili L, Suriano C, Nencini P. Repeated exposure to heroin and/ or cadmium alters the rate of formation of morphine glucoronides in the rat. J Pharmacol and Exp Therap. 2006; 30: 651-7.

17- Mao J, Sung B, Ji RR, Lim G. Neuronal Apoptosis Associated with Morphine Tolerance: Evidence for an Opioid-Induced Neurotoxic Mechanism. J Neurosci. 2002; 22: 7650-61.

18- Ye JL, Mao WP, Wu AL., Zhang NN, Zhang C. Cadmium-induced apoptosis in human normal liver L-02 cells by acting on mitochondria and regulating Ca^{2+} signals. Environ Toxicol and Pharmacol. 2007; 24: 45-54.

19- Gennari A, Cortesse E, Boveri M, Casado J, Prieto P. Sensitive end points for evaluating cadmium-induced acute toxicity in LLC-PK1 cells. Toxicol. 2003; 183: 211-20.

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 6:45 +0330 on Friday October 20th 2017

20- Kim MS, Kim BJ, Woo HN, Kim KW, Kim KB, Kim IK, Jung YK. Cadmium-induced caspase-mediated cell death: suppression by Bcl-2. Toxicol. 2000; 145: 27-37.

21- Chuang SM, Wang IC, Yang JL. Roles of JNK, p38 and ERK mitogen-activated protein kinases in the growth inhibition and apoptosis induced by cadmium. Carcin. 2000; 21: 1423-32.

22- Kim J, Sharma RP. Calcium-mediated activation of c-Jun NH2- terminal kinase (JNK) and apoptosis in response to cadmium in murine macrophages. Toxicol Scie. 2004; 81: 518-27.

23- Chakrabarti S, Wang L, Tang WJ, Gintzler RA. Chronic morphine augments adenylyl cyclase phosphorylation: relevance to altered signaling during tolerance/dependence. Mol Pharmacol. 1998; 54: 949-53.

24- Lou LG, Pei G. Modulation of protein kinase C and cAMP- dependent protein kinase by d-opioid receptor. Biochem Biophys Res Commun. 1997; 219: 342-7.

25- Narita M, Mizoguchi H, Tseng LF. Inhibition of protein kinase C, but not of protein kinase A, blocks the development of acute antinociceptive tolerance to an intrathecally administered opioid receptor agonist in the mouse. E J Pharmacol. 1995; 280: R1-R3.

26- Johnson EE, Chieng B, Napier I, Connor M. Decreased μ-opioid receptor signaling and a reduction in calcium current density in sensory neurons from chronically morphine- treated mice. B J Pharmacol. 2006; 148: 947-55.

27- Nation JR, Miller DK, Bratton GR. Dietary cadmium exposure alters characteristics of training, substitution, and tolerance when morphine is used a discriminative stimulus. Neurotoxicol. 2000; 21: 553-67.

28- Nation JR, Miller DK, Livermore CI. Chronic exposure to cadmium attenuates behavioral sensitization to morphine. Psychopharmacol. 1997; 131: 248-54.

29- Smith KR, Nationa JR, Bratton GR. The effects of developmental cadmium exposure on morphine sensitization and challenge with selective D1 and D2 antagonists. Pharmacol, Biochem and Behav. 2002; 72: 581-90.

30- Esmaeili MH, Alaei H. The effect of ascorbic acid on morphine withdrawal syndrome in rats. Fens Forum. 2004; l2: 1231-40.

31- Rajaei Z, Alaei H, Nasimi A, Amini H, Ahmadiani A. Ascorbate reduces morphine-induced extracellular DOPAC level in the nucleus accumbens: A microdialysis study in rats. Brain Res. 2005; 1053: 62 - 6.

32- Enrico PM, Esposito G, Serra P, Migheli R, Natale G, Sesole MS, Miele M, Miele E. Effect of naloxone on morphine-induced changes in striatal dopamine metabolism and glutamate ascorbic acid and uric acid release in freely moving rats. Brain Res. 1998; 30: 1-23.

The effect of cadmium on tolerance induction to analgesic effects of morphine in rats

MA. Sherafat[1], A. Zarebkohan[2], J. Ghorbi[3], S. Mozafari[1], M. Javan[4]

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 6:45 +0330 on Friday October 20th 2017

Abstract

Background and Aim: Cadmium element is found in all of tobacco products such as cigarette. There is some evidence that indicate cadmium may interfere with morphine tolerance development. The effect of cadmium on morphine tolerance development and its possible cross tolerance were investigated in this study.

Materials and Methods: To induce tolerance to analgesic effect of morphine or cadmium, morphine (15 µg/rat) or cadmium (20 nmol/rat) were injected intrathecally to male rats twice a day for five days. To investigate the effect of cadmium on morphine tolerance, another group of rats were injected intrathecally with cadmium and morphine. Cadmium was applied 15 minutes prior to morphine administration. The analgesic effect of different treatments was measured using tail flick test.

Results: The results indicated a long lasting analgesic effect of cadmium which was obvious after 12 hours. Repetitive administration of cadmium caused tolerance development to its analgesic effect. In animals which received cadmium during first 5 days, morphine could not induce a significant analgesia on day 6 (cross tolerance). The comparison of the tail flick latencies in morphine and cadmium+morphine treated groups, did not show a significant difference, indicated that cadmium did not have any inhibitory effect on development of morphine tolerance.

Conclusion: Our results showed that intrathecal administration of cadmium causes cross-tolerance to analgesic effect of morphine. It seems that, cadmium of cigarettes which induces analgesia by itself causes morphine tolerance and develops some aspect of morphine addiction.

Key words: Morphine; Tolerance; Cadmium; Lumbar spinal cord; Rat

Ofogh-e-Danesh. GMUHS Journal. 2008; Vol. 14, No. 1

1- Msc. Student of Physiology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran.

2- Department of Basic Sciences, Gonabad University of Medical Sciences and Health Services, Gonabad, Iran.

3- Msc. in Physiology. Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran.

4- Corresponding Author; Assistant Professor, Department of Physiology, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran.

Tel: +98-82884522 E-mail: mjavan@modares.ac.ir