Physiology and Pharmacology, 18 (2), 204-214

Summer 2014 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Effect of coenzyme Q10 on neuropathic pain threshold resulting from spinal cord injury in male rats

Marjan Hosseini, Zohreh Karami, Atosa Janzadeh, Farinaz Nasirinezhad*

Physiology Research Cente , Dept. of Physiology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 1 Jan 2014 **Accepted: 25 May 2014**

Abstract

Introduction: Coenzyme Q10 is a powerful antioxidant that has the ability to reduce the damage caused by oxidative stress and is predominantly found in the inner mitochondrial membrane. This study was conducted to determine the effect of coenzyme Q10 on neuropathic pain in an animal model of spinal cord injury.

Methods: In order to induce neuropathic pain, thoracic segments of the spinal cord (T6-T8) were compressed by homeostatic clip. Two doses of coenzyme Q10 (50 and 100 µg) in a volume of 10 µl was injected intrathecally. Behavioural tests were conducted in the third week after injury. Allodynia and hyperalgesia symptoms were assessed using analgesiometer, von Frey filaments, acetone and plantar tests. Behavioral assessments were performed before and 15 min after the injections. Data were analyzed using SPSS 20.0 statistical software.

Results: Coenzyme Q10 at the dose of 100 µg significantly attenuated the thermal hyperalgesia compared to vehicle and also compared to the pre-injection time ($P< 0.05$). In addition, administration of 100 µg of Q10 significantly reduced mechanical allodynia compared to the vehicle ($P< 0.05$). However, this reduction was not significant compared to the pre-injection time.

Conclusion: Injection of coenzyme Q10 in the subarachnoid space alleviates some symptoms of neuropathic pain following spinal cord compression injury.

Key words: Neuropathic pain, Coenzyme Q10, Hyperalgesia, Allodynia

* Corresponding author e-mail: nasirinezhad.f@iums.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۸ (۲)، ۲۰۴ - ۲۱۴
تابستان ۱۳۹۳

فیزیولوژی و فارماکولوژی

اثر تجویز کوآنزیم Q10 بر آستانه درد نوروپاتیک حاصل از آسیب نخاعی در موش های صحرایی نر

مرجان حسینی، زهره کرمی، آتوسا جانزاده، فریناز نصیری نژاد*
مرکز تحقیقات فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران

دریافت: ۱۱ دی ۹۲ پذیرش: ۴ خرداد ۹۳

چکیده

مقدمه: کوآنزیم Q10، یک آنتی اکسیدان قوی است که توانایی کاهش صدمات ناشی از استرس اکسیداتیو را داشته و در غشای داخلی میتوکندری سلول ها یافت می‌شود. این مطالعه به منظور تعیین اثر کوآنزیم Q10 بر درد نوروپاتیک در مدل حیوانی آسیب نخاعی صورت گرفت.

روش ها: به منظور القای درد نوروپاتیک، قطعه T6-T8 نخاع سینه ای حیوان تحت فشار قرار گرفت. کوآنزیم Q10 در دو دوز در دوز ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در حجم ۱۰۰ میکرولیتر به صورت داخل نخاعی تزریق شد. آزمون‌های رفتاری در هفته سوم بعد از ایجاد آسیب عصبی انجام شد و علائم هایپرآلجزیا و آلودینیا با استفاده از تست‌های رفتاری Randal Selitto Test، رشته‌های Von Frey، Acetone Test و Radiant Heat ارزیابی گردید. تمامی تست‌ها یک بار پیش از تزریق و بار دیگر ۱۵ دقیقه پس از تزریق داروها انجام می‌شدند. داده‌ها با استفاده از برنامه آماری SPSS 20.0 آنالیز شد.

یافته ها: Q10 در دوز 100µg/10µl باعث بهبود هایپرآلژزیای گرمایی هم نسبت به گروه Vehicle (p<۰/۰۰۱) و هم نسبت به زمان قبل از تزریق (p =۰/۰۰۲) شد. به علاوه، تجویز Q10 با دوز 100 µg/10µl توانست به طور معنی داری آلودینیای مکانیکی را نسبت به گروه Vehicle کاهش دهد (p = ۰/۰۰۱) اما این کاهش درد اختلاف معنی داری با زمان قبل از تجویز نداشت (p>۰/۹۹).

نتیجه گیری: تزریق کوآنزیم Q10 با دوز ۱۰۰ میکروگرم در فضای زیر عنکبوتیه می‌تواند بعضی از علائم درد نوروپاتیک بدنبال فشردگی نخاع را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: درد نوروپاتیک، کوآنزیم Q10، هایپرآلجزیا، آلودینیا

مقدمه

شیوع فزایندهٔ دردهای مزمن، از مهمترین مسائل سلامت در قرن بیست و یکم است [۱۶، ۳۱]. درد مزمن منجر به بروز اثرات ناخوشایند در ابعاد روانی، جسمانی و اجتماعی شده به طوری که کیفیت زندگی را کاهش داده و در وضعیت روان شناختی، اقتصادی و بهداشتی جامعه نابهنجاری‌های زیادی ایجاد می‌کند [۱۵]. درد نوروپاتیک نوعی درد مزمن است که بدنبال آسیب و یا اختلال در بافت عصبی (مرکزی و یا محیطی) ایجاد می‌شود. از جمله مهم‌ترین عوارض این نوع درد می‌توان به آلودینیا (احساس درد با محرک‌هایی که به طور طبیعی دردناک نیستند) و هیپر آلجزیا (عدم تناسب بین احساس درد و محرک) اشاره کرد [۱، ۵، ۲۷]. ضایعات نخاعی Spinal Cord Injury (SCI) از مهمترین علل دردهای نوروپاتیک مرکزی می‌باشند [۵، ۱۶]. بسیاری از افراد نخاعی از گرفتگی عضلات، اسپاسم، درد یا احساسات غیر طبیعی در قسمتهائی که پایین ضایعه قرار دارد رنج می‌برند [۵، ۲۳]. در ایران نزدیک به حدود ۲۰۰۰ جانباز نخاعی به جا مانده از جنگ هشت ساله وجود دارد، در کل تعداد افراد نخاعی ایران

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: nasirinezhad.f@iums.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

را رقمی نزدیک به ۱۵۰۰۰ نفر تخمین می‌زنند[۱، ۱۳]. متأسفانه هنوز روش درمانی موفقیت آمیزی برای کنترل درد مزمن ارائه نشده است [۲۶]. درمانهای رایج استفاده از کورتیکواستروئیدها و داروهای مخدر می‌باشد که عوارض جانبی زیادی از جمله تحمل، وابستگی و پوکی استخوان به همراه دارد [۱، ۱۸]. مطالعات اخیر نشان دهنده نقش رادیکالهای آزاد در ایجاد دردهای مزمن می‌باشد [۶، ۹، ۱۰]. در بین رادیکالهای آزاد ROS (Reactive Oxygen Species) نقش تخریبی بیشتری داشته و سلولهای عصبی حساسیت بالایی به آنها نشان می‌دهند. این رادیکالها به صورت طبیعی در میتوکندری تولید می‌شوند و افزایش بیش از حد آن‌ها استرس اکسیداتیو ایجاد می‌کند [۱۷، ۲۰، ۱۱، ۲۶]. رادیکالهای آزاد که بصورت طبیعی تولید می‌شوند توسط آنتی اکسیدان ها که عوامل پاکسازی کننده (Scavengers) رادیکال های آزاد به حساب می‌آیند از بین می‌روند [۳۰، ۳۴]. هر فرایندی که تعادل بین تولید رادیکالهای آزاد و از بین رفتن آنها را دچار اختلال کند می‌تواند صدمات جبران ناپذیری به سیستم عصبی وارد کند [۳۰، ۳۲]. یکی از آنتی اکسیدان های قوی و با اهمیت در کنترل میزان ROS کوآنزیم Q10 است که به طور طبیعی در میتوکندری تولید می‌شود [۲، ۳]. خواص احیا کنندگی کوآنزیم Q10 آن را قادر می‌سازد تا به عنوان یک آنتی اکسیدان محلول در چربی بسیار شبیه آلفا توکو فرول عمل نماید [۷، ۸]. کوآنزیم Q10 بطور طبیعی در بدن ساخته شده ولی با افزایش سن و بروز برخی بیماری‌های مزمن مانند دیس تروفی عضلانی، پارکینسون، آلزایمر، انواع سرطان‌ها و نیز درد مزمن از میزان سنتز آن در بدن کاسته می‌شود [۳۰].

مطالعات انجام شده نشان دهنده افزایش میزان استرس اکسیداتیو در پدیده ضایعه نخاعی است [۶، ۱۰، ۱۷، ۲۰]. استرس اکسیداتیو سبب تحریک مرگ سلولی (آپوپتوز) و اکسیداسیون لیپیدها به واسطهٔ رادیکال های آزاد می‌شود [۸، ۱۰، ۲۱، ۲۹]. بر اساس تحقیقات انجام شده، صدمه به نخاع منجر به آسیب میتوکندری ها و آپوپتوز می‌شود [۹، ۲۱، ۲۴، ۳۳].

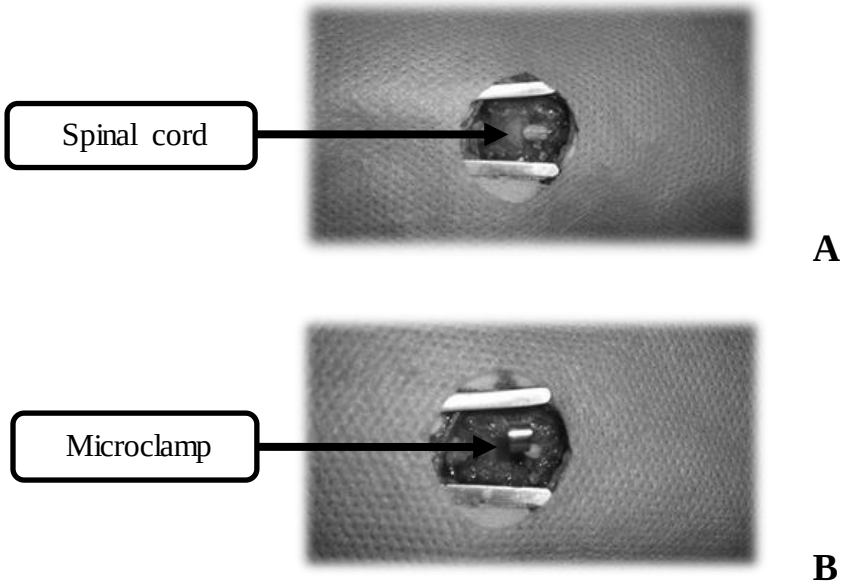
باتوجه به اهمیت میتوکندری می‌توان انتظار داشت هر عاملی که عملکرد میتوکندری را بهبود بخشد بتواند در کاهش آسیب‌های ایجاد شده در سیستم عصبی موثر باشد. با توجه به نقش استرس اکسیداتیو در ایجاد دردهای مزمن در مطالعه حاضر نقش احتمالی کو آنزیم Q10 در کاهش علائم درد نوروپاتیک مرکزی بدنبال ایجاد آسیب در نخاع بررسی می‌گردد.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی بر روی موش های صحرایی بالغ نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۱۶۰- ۱۳۰ گرم در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (پردیس همت) انجام شد. حیوانات پیش از شروع آزمایش به مدت دو هفته برای سازگاری با محیط در حیوانخانه دانشگاه نگهداری شدند و در طول این مدت و همچنین در طول آزمایش به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. همه مراحل تحقیق مبتنی بر دستورالعمل رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب کمیته اخلاق معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام پذیرفت. کوانزیم Q10 و سالیسیلات از شرکت سیگما تهیه شد. به منظور ایجاد آسیب نخاعی، یکی از روشهایی که در دهه اخیر مورد استفاده محققین قرار گرفته می‌گیرد، استفاده از میکروکلمپ و یا کلیپس انوریسم (ClipsAneurysm) می‌باشد، در سال ۲۰۰۷ kerimoglu و همکارانش از این مدل بر روی رت استفاده کردند [۱۴]. به این منظور، حیوانات به وسیله تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین (۱۰۰mg/kg) و زایلازین (۱۲/۵ mg/kg) بیهوش شدند. پس از استریل کردن سطح پوست با ایجاد یک برش در ناحیه توراسیک و کنار زدن عضلات، استخوانهای ستون مهره آشکار گردید، سپس با انجام لامینکتومی و برداشتن سطح پشتی استخوان‌های مهره، طناب نخاعی در ناحیه T8-T6 با اعمال فشاری معادل ۲۰ گرم با استفاده از یک میکروکلمپ به مدت ۶۰ ثانیه تحت فشار قرار گرفت (شکل ۱).

در انتها عضلات و پوست به طور جداگانه بخیه شده و سطح پوست در محل شکاف با پماد تتراسایکلین پوشانده شد. پس از ایجاد ضایعه حیوانات قادر به تخلیه ارادی مثانه نبوده به همین دلیل ماساژ مثانه، روزی دو بار تا زمانی که حیوان توانایی تخلیه ارادی مثانه را بازیافت انجام شد.

در هفته سوم بعد از SCI، کانول مخصوصی (PE-10)



شکل ۱ – A- قسمتی از نخاع که به منظور ایجاد ضایعه Expose شده است. B- Microclamp جهت ایجاد ضایعه بر روی نخاع فیکس شده است.

جهت تزریق دارو در طول طناب نخاعی قرار داده شد. به این ترتیب که پس از بیهوشی کامل حیوان با مخلوط کتامین (۸۰mg/kg) و زایلازین (۱۰mg/kg)، برشی در ناحیه نخاع کمری- خاجی حیوان به موازات قطعات L5-L6 ایجاد کرده و پس از کنار زدن عضلات، به وسیله یک پنس ظریف فضای مابین این دو مهره را مشخص و ۳ سانتی متر از کانول ۱۳ سانتی را که به وسیله یک گره جدا شده بود به داخل فضای زیر عنکبوتیه هدایت نمودیم، طوری که انتهای کانول در سطح نخاع کمری قرار می‌گرفت.

مابقی کانول از زیر پوست حیوان عبور داده شد و حدود ۴ سانتی متر آن از پوست خارج و جهت تزریق دارو فیکس شد. سه روز پس از انجام عمل کانول گذاری و در صورت عدم وجود هرگونه اختلال حرکتی، با استفاده از دستگاه های اختصاصی میزان درد حیوانات در گروه های مختلف، مورد ارزیابی قرار می‌گرفت و سپس تزریقات انجام می‌شد.

حیوانات به روش انتخاب تصادفی در پنج گروه شش تایی قرار گرفتند، گروه SCI فقط تحت عمل جراحی آسیب نخاعی قرار گرفته و هیچ دارویی دریافت نکردند. ۱) گروه SCI+100µg/10µl به صورت Single dose کوآنزیم Q10 را با غلظت 100µg/10µl از طریق تزریق داخل نخاعی دریافت کردند. ۲) گروه SCI+50µg/10µl به صورت Single dose کوآنزیم Q10 را با غلظت 50µg/10µl از طریق تزریق داخل نخاعی دریافت کردند. ۳) گروه SCI+Vehicle تحت عمل جراحی آسیب نخاعی قرار گرفتند و سه هفته بعد از عمل جراحی به صورت Single dose، 100µg/10µl از حلال کوآنزیم Q10 (روغن کنجد) را دریافت کردند. در نهایت به منظور مقایسه با اثرQ10، گروه پنجم سالیسیلات را با غلظت 100µg/10µl و به صورت Single dose دریافت کردند.

برای انجام مطالعات رفتاری، و نیز سنجش و ارزیابی دو عارضه اصلی درد نوروپاتیک (هیپرآلجزیا و آلودینیا)، آزمون های رفتاری قبل از تزریق داروها و یا حلال و سپس بعد از تزریق، برروی هر دو پای حیوان انجام گرفت. به منظور سنجش هیپرآلجزیای حرارتی از تست Radiant Heat، برای سنجش هیپرآلجزیای مکانیکی از تست Randall Selitto، برای سنجش آلودینیای سرمایی از تست Acetone و برای سنجش آلودینیای مکانیکی از تست Von-Frey استفاده گردید.

۱) تست اندازه گیری هیپر آلجزیای حرارتی (Radiant Heat): برای انجام این تست دستگاه plantar test به کار گرفته شد که شامل یک محفظه با کف شیشه ای بوده که وسیله ای برای تاباندن اشعه حرارتی در کف آن قرار گرفته است منبع تولید اشعه دارای کورنومتر می‌باشد که با روشن شدن دستگاه شروع به کار کرده و به

محض وجود عکس‌العمل از طرف حیوان متوقف می‌شود. در زمان انجام این تست حیوانات ۱۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش، در محفظه ای مخصوص قرار می‌گرفتند. این عمل جهت آشنا شدن حیوان با محیط و انجام سازگاری صورت گرفت. سپس اشعه به کف پای حیوان در محل مربوط به عصب سیاتیک تابانده شد، هم زمان کورنومتر هم فعال شد، تاباندن اشعه به کف پا تا زمانی که حیوان بصورت عقب کشیدن پا عکس العمل نشان می‌داد ادامه یافت هم زمان با عقب کشیدن پا کورنومتر متوقف و عدد ذکر شده به عنوان زمان پس کشیدن (latency withdrawal) یادداشت گردید.

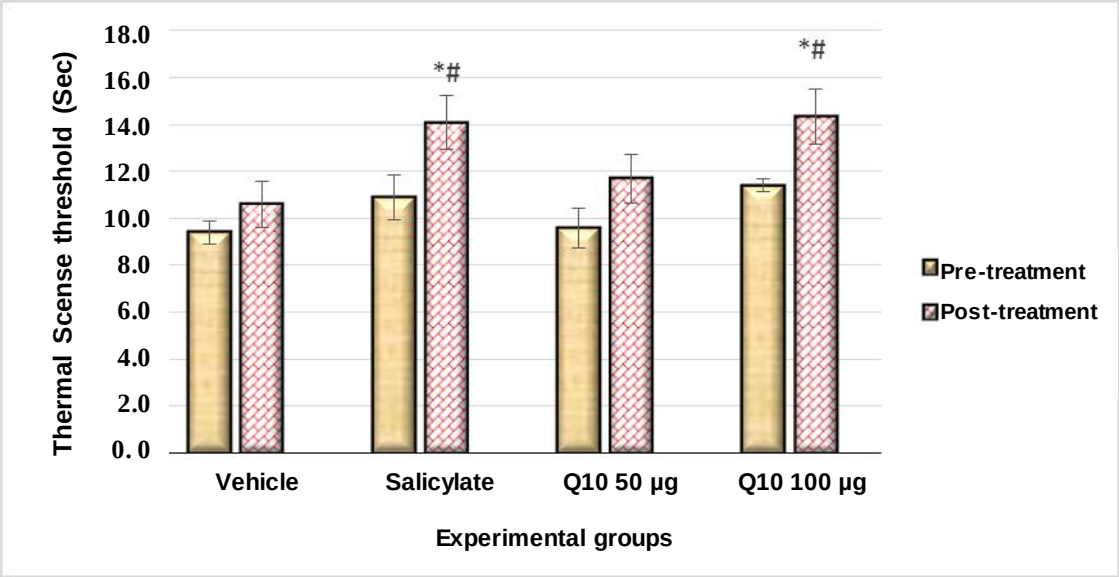
این عمل برای پای آسیب دیده ۳ بار با فواصل حداقل یک دقیقه انجام گرفت و در نهایت از ۳ عدد یادداشت شده میانگین گرفته شد. در صورتی که حیوان به تابش اشعه پاسخ نمی‌داد جهت جلوگیری از صدمه بافتی ۲۵ ثانیه cut off در نظر گرفته شد. به این ترتیب که در صورت عدم پاسخ پس از ۲۵ ثانیه دستگاه خاموش و حیوان از محفظه خارج می‌شد.

۲) تست اندازه گیری هیپر آلجزیای مکانیکی (Randall Sellito): با استفاده از دستگاه analgesy meter این تست انجام شد. این دستگاه با استفاده از یک وزنه که به اهرم متصل است فشار فزاینده ای (به میزان ۴۸ g) را به کف پای حیوان وارد می‌آورد. فشار اعمال شده با کمک یک خط کش مدرج متصل به دستگاه اندازه گیری می‌شود. برای انجام تست حیوان در حالتی که احساس ناراحتی نکند به طوری که شکمش از سطح زمین بالاتر باشد توسط حوله گرفته شده کف پای آن بر روی محل مخصوص دستگاه قرار داده می‌شود با فشار دادن پدال مخصوص که روی زمین قرار داده می‌شود، با کمک یک اهرم به تدریج فشار وارد شده به کف پای حیوان افزایش میابد، به محض عقب کشیدن پا و یا جیغ زدن حیوان اعمال نیرو متوقف شده و عدد نشان داده شده بر روی خط کش ثبت می‌شود. این عمل برای پای آسیب دیده ۲ بار به فواصل حداقل ۱ دقیقه از یکدیگر انجام شد.

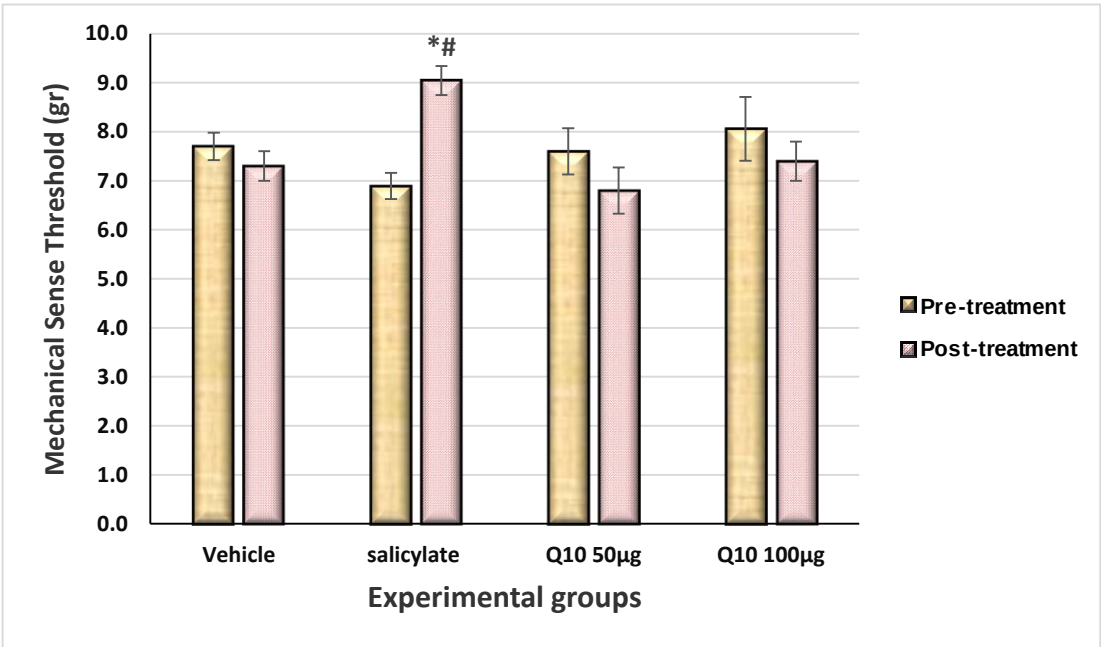
۳) تست اندازه گیری آلودینیای مکانیکی (Von Frey): از رشته های Von Frey جهت سنجش آلودینیای مکانیکی استفاده شده است. به همین منظور فشاری توسط موهایی با ضخامت‌های مختلف به کف پای حیوان وارد و پاسخ حیوان سنجیده شده و حداقل ضخامتی که ایجاد پاسخ می‌کرد یادداشت می‌شد. برای انجام تست حیوان در قفسی توری که حدود ۳۰ سانتی متر از سطح زمین بالاتر بود قرار داده شد و موهای von Frey با شماره های ۴/۵۶، ۴/۷۴، ۴/۹۳، ۵/۰۷، ۵/۱۸، ۵/۴۶، ۵/۸۸، ۶/۱ به ترتیب به صورت عمود به کف پای آسیب دیده تماس داده شد. میزان فشار وارده در حدی بود که مو خم شود و در صورت احساس درد حیوان با واکنش‌هایی از قبیل کشیدن و بلند کردن پا، جیغ زدن، لیسیدن و گاز گرفتن پا به محرک پاسخ می‌داد. این عمل ۵ بار با فواصل۳۰ ثانیه از یکدیگر با هر شماره مو انجام شد و ۳ بار نشان دادن پاسخ از طرف حیوان برای تار مورد نظر مثبت تلقی گردید.

٤) تست اندازه گیری آلودینیای سرمایی (Acetone Test): جهت بررسی آلودینای سرمایی از تست استون استفاده گردید. جهت این امر حیوانات در قفس‌های خاص با کف توری که به میزان ۳۰ سانتی متر بالاتر از سطح میز قرار داشت قرار داده شدند. ۱۵ دقیقه بعد از قرار دادن حیوان در قفس مخصوص یک قطره استون به کف پای حیوان چکانده شد و عکس العمل حیوان شامل رفلکس کشیدن پا، لیس زدن، تکان دادن و یا جیغ زدن حیوان مورد بررسی قرار گرفت. این عمل برای هر پا ۵ بار با فواصل حداقل یک دقیقه انجام شد و در نهایت عکس العمل حیوان به صورت درصد ثبت گردید.

آنالیزهای آماری: داده‌ها وارد برنامه آماری SPSS 20.0 شد. نتایج به صورت میانگین و خطای معیار (Standard error) ارائه شد. برای ارزیابی اثر زمان (مقایسه قبل و پس از تجویز دارو) و اثر دوز (دوز های ۱۰ µg و ۵۰ µg) از آنالیز واریانس دو طرفه و bonferroni post hoc استفاده گردید. در تمامی آنالیزها $p<0/05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.



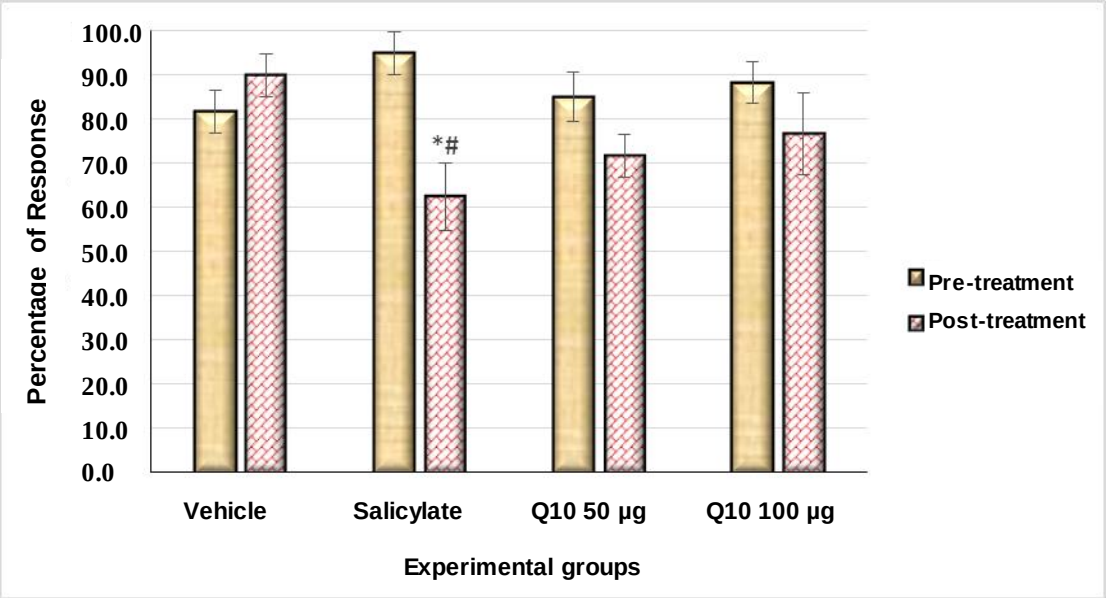
شکل ۲- تاثیر داروی Q10 در غلظت های مختلف و سالیسیلات 100µg/10µl بر هایپرآلجزیای گرمایی. *: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه Vehicle؛ # نشان دهنده اختلاف معنی دار با زمان قبل از تزریق. سطح معنی داری p<۰/۰۵.



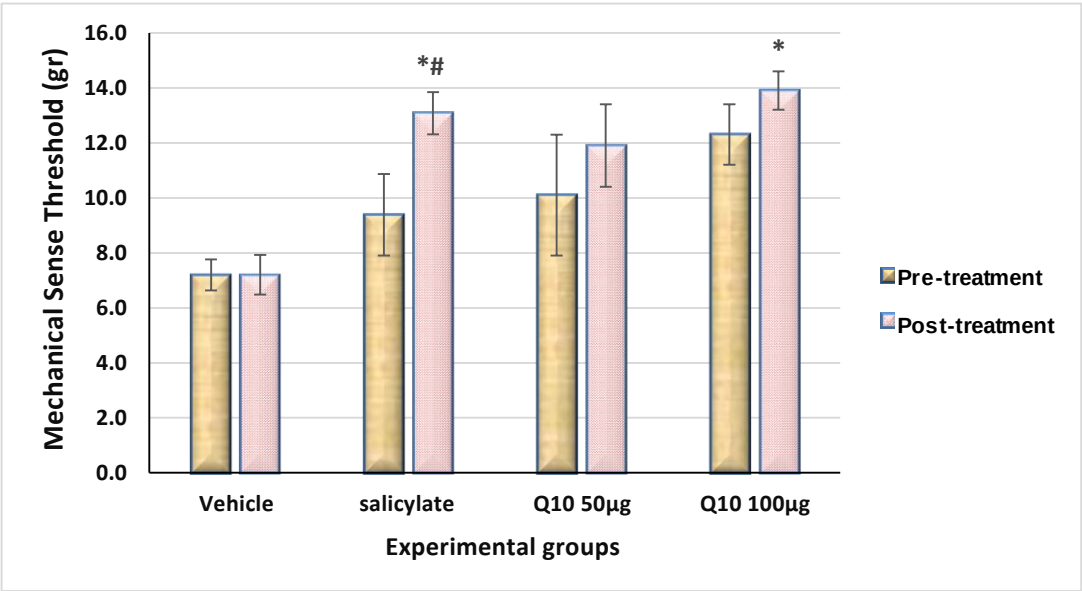
شکل ۳- تاثیر داروی Q10 با غلظت های 100 µg/10µl و 50 µg/kg و سالسیلات 100µg/10µl بر روی هایپرآلجزیای مکانیکی. *: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه Vehicle؛ #: نشان دهنده اختلاف معنی دار با زمان قبل از تزریق. سطح معنی داری p<۰/۰۰۱.

یافته ها

نتایج مربوط به هیپرآلجزیای حرارتی: همانطور که شکل ۲ نشان می‌دهد Q10 در غلظت 100µg/10µl باعث بهبود هایپرآلجزیای گرمایی هم نسبت به گروه Vehicle (p<۰/۰۰۱) و هم نسبت به زمان قبل از تزریق (p = ۰/۰۰۲) شده است. میانگین آستانه پاسخ حیوانات به تحریک حرارتی در گروه Q10 در غلظت 100µg/10µl قبل و پس از تزریق به ترتیب (۰/۲۶) ۱۱/۴ و (۱/۲) ۱۴/۳ بدست آمد. علاوه بر این تجویز سالیسیلات نیز اثر مشابه ای را نمایان ساخت بدین صورت که میانگین آستانه هیپرآلجزیای گرمایی حیوانات گروه سالیسیلات 100µg/10µl قبل از تزریق (۰/۹۷) ۱۰/۹ مشاهده شد که پس از تزریق به (۱/۲) ۱۴/۱رسید (p =۰/۰۴). همچنین تفاوت معنی داری بین حیوانات گروه سالیسیلات و



شکل ٤ – تاثیر داروی Q10 با غلظت های 100 µg/10µl و 50 µg/10µl و سالسیلات 100µg/10µl بر روی آلودینای سرمایی القا شده توسط استون. *: نشان دهنده اختلاف با معنی دار گروه Vehicle؛ #: نشان دهنده اختلاف معنی دار با زمان قبل از تزریق. سطح معنی داری p<۰/۰۰۱.



شکل ٥ – تاثیر داروی Q10 با غلظت های 100 µg/10µl و 50 µg/10µl و سالسیلات 100µg/10µl بر روی آلودینای مکانیکی القا شده توسط تست Von-Fray. *: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه Vehicle؛ #: نشان دهنده اختلاف معنی دار با زمان قبل از تزریق. سطح معنی داری p<۰/۰۵.

گروه vehicle در میانگین میزان هیپرآلجزیای حرارتی وجود دارد (P=۰/۰۰۸). میانگین هیپرآلجزیای گرمایی در گروه Vehicle برابر (۱/۰) ۱۰/۶ بود.

نتایج مربوط به هیپرآلجزیای مکانیکی: همانطور که در شکل شماره ۳ مشاهده می‌شود آستانه آغاز درد در حیوانات گروه سالیسلات پس از تزریق نسبت به تمامی گروه‌ها و نسبت به زمان قبل از تزریق بالاتر می‌باشد (p<۰/۰۰۱). میانگین (SE) آستانه درد در گروه سالیسیلات قبل و پس از تزریق به ترتیب (۰/۳) ۶/۹ و (۰/۳) ۹/۰۴ مشاهده گردید. همچنین آستانه شروع درد گروه Vehicle در پاسخ به تحریک مکانیکی (۰/۳) ۷/۳ بود.

نتایج مربوط به آلودینیای سرمایی: شکل ۴ نشان می‌دهد که Q۱۰ چه در غلظت ۱۰۰ µg/10µl و چه در غلظت ۵۰ µg/10µl تأثیری بر کاهش درد القا شده توسط استون (آلودینیای سرمایی) در حیوان ندارد. حیوانات گروه Q10 با غلظت ۱۰۰ µg/10µl قبل و

پس از تزریق دارو به طور میانگین به (۴/۸) ۸۸/۳ و (۹/۲) ۷۶/۷ درصد تحریکات پاسخ می‌دهند (p>۰/۹۹). این میزان در گروه Q10 با غلظت ۵۰ µg/10µl نیز به ترتیب (۶/۶) ۸۵/۰ و (۴/۸) ۷۱/۷ درصد مشاهده گردید (p>۰/۹۹). شایان ذکر است سالیسیلات توانست میانگین پاسخ حیوانات به تحریک سرمایی را به طور معنی داری نسبت قبل از تزریق (p<۰/۰۰۱؛ ۶۲/۵ درصد در مقابل ۹۵/۰ درصد) و نسبت به گروه Vehicle (p >۰/ ۰۰۱؛ ۶۲/۵ درصد در مقابل ۹۰/۰ درصد) کاهش داد.

نتایج مربوط به آلودینیای مکانیکی: همانطور که شکل ۵ نشان می‌دهد تجویز Q۱۰ با غلظت 100 µg/10µl توانست به طور معنی داری آلودینیای مکانیکی را نسبت به گروه Vehicle کاهش دهد (p = ۰/۰۰۱؛ ۱۳/۹ در مقابل ۷/۲) اما این کاهش درد اختلاف معنی داری با زمان قبل از تجویز نداشت (p>۰/۹۹؛ ۱۳/۹ در مقابل ۱۲/۳). شایان ذکر است تجویز داخل نخاعی سالیسیلات منجر به کاهش معنی داری در آلودینیایی مکانیکی نسبت به قبل از تجویز دارو (p =۰/۰۱؛ ۱۳/۱ در مقابل ۹/۴) و نسبت به گروه Vehicle (p = ۰/۰۰۳؛ ۱۳/۱ در مقابل ۷/۲) گردید.

بحث

در این مطالعه، بررسی اثر تجویز کوآنزیم Q10 و حلال آن (روغن کنجد) در فضای زیر عنکبوتیه بر درد حاصل از آسیب نخاعی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از تحقیق حاضر، نشان دهنده این مطلب بود که تزریق کوآنزیم Q10 با غلظت ۱۰۰ µg/10µl در فضای زیر عنکبوتیه، باعث کاهش هیپرآلجزیای حرارتی و آلودینیای مکانیکی خواهد شد. جهت بررسی اثرات ضد دردی این کوآنزیم اثرات استفاده از آن با تزریق سالیسیلات در فضای زیر عنکبوتیه مقایسه شد. نتایج نشان داد که تزریق سدیم سالیسیلات در فضای زیر عنکبوتیه می‌تواند تمام علائم درد نوروپاتیک (هیپرآلجزیای حرارتی و مکانیکی و آلودینیای سرمایی و مکانیکی) را بهبود بخشد. همچنین نشان داده شد که با تجویز غلظت ۱۰۰µg/10µl کوآنزیمQ10 ، آستانه درد افزایش بیشتری نسبت به استفاده از حلال آن به تنهایی داشت و در تست‌های مربوط به هیپرآلجزیای حرارتی و آلودینیای مکانیکی تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه vehicle و کوآنزیم Q10 وجود داشت که تاییدکننده تاثیر کوآنزیم در کاهش درد می‌باشد. در هیچ یک از آزمونهای درد انجام شده تفاوت معنی داری نسبت به گروه حلال و یا قبل از تزریق در استفاده از غلظت ۵۰ µg/10µl از کوآنزیم Q10 مشاهده نشد. این امر نشاندهنده این مطلب است که غلظت مصرفی کوآنزیم Q10 در کاهش علائم درد موثر می‌باشد.

به دنبال مطالعات انجام شده در سال های اخیر که تایید کننده بروز پدیده استرس اکسیداتیو به دنبال آسیب‌های نخاعی هستند [۱۰، ۱۷، ۲۰، ۲۳]، کوآنزیم Q10 با دارا بودن خاصیت آنتی اکسیدانی، تا حدی توانایی بازیابی تعادل سیستم اکسیداسیون- احیا را به حالت نرمال خواهد داشت [۷، ۱۲]. استرس اکسیداتیو، منجر به افزایش رادیکال های آزاد، ایجاد التهاب، نکروز پیشرونده هموراژیک، ادم، دمیلینه شدن و تخریب سلولی می‌گردد. این تخریب، اغلب مرگ سلولی (آپوپتوز) و اکسیداسیون لیپیدها را به دنبال دارد [۸، ۱۰، ۲۱، ۲۹]. اختلالات میتوکندری از جمله علل مهم ایجاد استرس اکسیداتیو می‌باشد [۲۵]، از آنجا که هرگونه آسیب به نخاع به اختلال عملکرد میتوکندری ها و در نتیجه کاهش تولید آنتی اکسیدان هایی مانند Co Q10 و نیز افزایش تولید سوپراکسیدها می انجامد، می‌توان انتظار بروز پدیده استرس اکسیداتیو را به دنبال ضایعه نخاعی داشت[۴، ۲۵].

التهاب ایجاد شده به دنبال آسیب عصبی در مدل SCI را نیز به دلیل افزایش تولید سوپراکسیدها در میتوکندری می‌دانند [۶، ۱۷، ۲۰]. همچنین هیپرآلجزیای ایجاد شده در این مدل را به افزایش میزان رادیکال‌های آزاد نسبت می‌دهند [۲۰]. در بین رادیکالهای آزاد رادیکالهای آزاد اکسیژن یا ROS (Reactive Oxygen Species) نقش تخریبی بیشتری داشته و سلولهای عصبی حساسیت بالایی را به آنها نشان می‌دهند. این رادیکالها به صورت طبیعی در میتوکندری تولید می‌شوند و افزایش بیش از حد آنها استرس اکسیداتیو ایجاد می‌کند. بر اساس گزارشات موجود آسیب سلولی و نقص در عملکرد میتوکندری منجر

بـه افـزایش تولیـد ROS و مـرگ سـلولی خواهـد شـد [۲۵]. خوشبختانه رادیکالهای آزاد که بصورت طبیعی تولید مـی‌شـوند، توسـط آنتـی اکسـیدان هـا کـه عوامـل پاکسـازی کننـده (Scavengers) رادیکـال هـای آزاد بـه حسـاب مـی‌آینـد از بین می‌روند [۲۲]. CoQ10 یکی از این عوامل از بـین برنـده رادیکال های آزاد و یک کوفاکتور ضـروری در زنجیـره انتقـال الکتـرون میتوکنـدری اسـت. ایـن مولکـول، الکتـرون‌هـا را از کمپلکس I و II دریافت و به کمپلکسIII تحویـل مـی‌دهـد و در واقع شکل احیا شده یوبی کینون است کـه بـه عنـوان یـک آنتی اکسیدان چربی دوست عمل می‌کند، بنابراین از سـلول در برابر رادیکال های آزاد و ROS محافظت کرده و سـطح آنتـی اکسیدان هایی مثـل ویتـامین E و اسیداسـکوربیک را افـزایش مـی دهـد [۲، ۳، ۲۱، ۲۹]. مطالعـات قبلـی انجـام شـده در آزمایشـگاه مـا نشـان داد کـه اسـتفاده از ویتـامین C بصـورت وابسته به دوز قادر به کـاهش درد نوروپاتیـک مـی‌باشـد [۱۹]. علاوه بر فرایند استرس اکسیداتیو، عوامل بسیار دیگری نیـز در پیدایش درد نوروپاتیک، پس از آسیب نخاعی، دخیل هسـتند، از جمله مهم‌ترین این عوامل فعالیـت بـیش از حـد رسـپتورهای NMDA در سیستم اعصاب مرکزی، پس از آسیب، مـی‌باشـد [۱۱، ۲۷، ۳۶]. متعادل بـودن سیسـتم اکسیداسـیون-احیـا در بدن، برای بسیاری از فرایندهای درونی، از جمله تنظیم فعالیـت رسپتورهای NMDA ضروری است، بـه طـوری کـه عوامـل کاهنـده (Reducing agents) باعـث افـزایش فعالیـت ایـن رسـپتورها، و عوامـل اکسـید کننـده (Oxidizing agents) موجب کاهش فعالیت آنها خواهند شـد [۳۲]. بـه عـلاوه دیـده شده است که فعالیت بیش از حد رسپتورهای NMDA منجـر به کاهش سطح گلوتاتیون، که از مهمترین آنتی اکسیدان های سلولی می‌باشد، خواهد شد [۴، ۳۲]. کوآنزیم Q10 یک آنتـی اکسیدان پذیرنده الکترون است، از این رو می‌تواند همانند یـک عامل اکسید کننده رفتـار کـرده و تـا حـدی فعالیت گیرنده‌های NMDA را کاهش دهد [۳۵] و از این طریق باعـث کـاهش میـزان رادیکـال‌هـای آزاد و افزایش فعالیت سیستم‌های از بین برنده ROS گردد. علاوه بـر ایـن، دیـده شـده اسـت کـه ROS در کاهش میزان تحریک پـذیری نـورون هـای ترشـح کننده GABA و نیز دژنره شدن آن‌ها دخیل است [۳۴]. کـه این پدیده با کاهش میزان یـک نوروترانسـمیتر مـوثر در مهـار درد، خـود در تداوم هیپرآلجزیای ایجاد شده بعد از آسیب عصبی دخیل می‌باشـد. در طـی یـک بررسـی بـر روی نقـش رسپتورهای گلوتامـاتی، نشـان داده شـده است کـه بـا جلوگیری از مـرگ سلولی و آپوپتـوز در چند روز اول بعد از آسیب عصبی، از طریق مهار این رسـپتورها، می‌توان از ایجـاد هیپرآلجزیـای مکـانیکی و حرارتـی جلـوگیری کـرد [۲۸]. به ایـن ترتیـب، کـوآنزیم Q10 بـه عنـوان یـک آنتـی اکسـیدان قـوی، بـا جلـوگیری از فعالیـت ROS و در نتیجـه جلوگیری از مرگ سلولی در ناحیه آسـیب دیـده، مـی‌توانـد تـا حدی از بروز درد پیشگیری کنـد. مطالعـات قبلـی مـا بـر روی کوآنزیم Q10 تایید کننده این مطلـب بـود کـه تزریـق مـزمن کـوآنزیم Q10 بـه مـدت ۱۰ روز در مـدل محیطـی درد نوروپاتیـک، موجـب کـاهش قابـل ملاحظـه ای در میـزان درد می گردد، به علاوه، در این مطالعه نشان داده شـد کـه Q10 از طریق کاهش میزان Bax اثر خود را اعمال مـی‌کنـد [۱۲]. در این بررسی، گروه دریافـت کننـده کـوآنزیم Q10 بـا غلظـت 100 µg/10µl کاهش معنا داری را در هایپرآلجزیـای حرارتـی و آلودینیای مکانیکی از خود نشان داد. این مطلب تاکیـد کننـده اثر ایـن کـوآنزیم در کـاهش درد نوروپاتیـک مرکـزی بـدنبال آسیب نخاعی می‌باشد.

تزریق کوآنزیم Q10 با دوز ۱۰۰ میکروگرم در فضای زیـر عنکبوتیـه مـی‌توانـد بعضـی از علائـم درد نوروپاتیـک بـدنبال فشردگی نخاع را کاهش دهـد. ایـن امـر نشـان مـی‌دهـد کـه استفاده از این کوانزیم به همراه تزریق عوامـل کـاهش‌دهنـده درد دیگر می‌تواند مسیر جدیـدی در روشـهای درمـان ترکیبـی جهت کاهش درد نوروپاتیک به حساب آید.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله مراتب سپاسگزاری خود را از آقای محمود یوسـفی فرد جهت انجام آنالیزهای آماری اعلام مـی دارنـد، همچنـین از معاونـت محترم آموزشی که امکانات لازم جهت انجام این پروژه را فراهم نمودنـد قدردانی می نماییم.

References

[1] Attal N, Cruccu G, Baron R, Haanpaa M, Hansson P, Jensen TS, Nurmikko T, Efns Guidelines on the Pharmacological Treatment of Neuropathic Pain. ***Eur J Neurol*** 17 (2010) 1113-1188.

[2] Barshop BA, Gangoiti JA, Analysis of Coenzyme Q in Human Blood and Tissues. ***Mitochondrion*** 7 (2007) 89-93.

[3] Bhagavan, H N, Chopra RK, Plasma Coenzyme Q10 Response to Oral Ingestion of Coenzyme Q10 Formulations. ***Mitochondrion*** 7 (2007) 78-88.

[4] Bodhinathan K, Kumar A, Foster TC, Intracellular Redox State Alters NMDA Receptor Response During Aging through Ca2+/Calmodulin-Dependent Protein Kinase Ii. ***J Neurosci*** 30 (2010) 1914-1924.

[5] Bryce TN, Richards JS, Bombardier CH, Dijkers MP, Fann JR, Brooks L, Chiodo A, Tate DG, Forchheimer M, Screening for Neuropathic Pain after Spinal Cord Injury with the Spinal Cord Injury Pain Instrument (Scipi): A Preliminary Validation Study. ***Spinal Cord*** 52 (2014) 407-412.

[6] Chen HC, Hsu PW, Tzaan WC, Lee AW, Effects of the Combined Administration of Vitamins C and E on the Oxidative Stress Status and Programmed Cell Death Pathways after Experimental Spinal Cord Injury. ***Spinal Cord*** 52 (2014) 24-28.

[7] Cleren C, Yang L, Lorenzo B, Calingasan NY, Schomer A, Sireci A, Wille EJ, Beal MF, Therapeutic Effects of Coenzyme Q10 (Coq10) and Reduced Coq10 in the Mptp Model of Parkinsonism. ***J Neurochem*** 104 (2008) 1613-1621.

[8] Erol B, Bozlu M, Hanci V, Tokgoz H, Bektas S, Mungan G, Coenzyme Q10 Treatment Reduces Lipid Peroxidation, Inducible and Endothelial Nitric Oxide Synthases, and Germ Cell-Specific Apoptosis in a Rat Model of Testicular Ischemia/Reperfusion Injury. ***Fertil Steril*** 93 (2010) 280-282.

[9] Ferrari LF, Chum A, Bogen O, Reichling DB, Levine JD, Role of Drp1, a Key Mitochondrial Fission Protein, in Neuropathic Pain. ***J Neurosci*** 31 (2011) 11404-11410.

[10] Goecks CS, Horst A, Moraes MS, Scheid T, Kolberg C, Bello-Klein A, Partata WA, Assessment of Oxidative Parameters in Rat Spinal Cord after Chronic Constriction of the Sciatic Nerve. ***Neurochem Res*** 37 (2012) 1952-1958.

[11] Hama A, Sagen J, Combinations of Intrathecal Gamma-Amino-Butyrate Receptor Agonists and N-Methyl-D-Aspartate Receptor Antagonists in Rats with Neuropathic Spinal Cord Injury Pain. ***Eur J Pharmacol*** 683 (2012) 101-108.

[12] Janzadeh A, Nasirinezhad F, Jameie SB, Effect of Coenzyme Q10 on Neuropathic Pain in Adult Cci Rat Model. ***J Gorgan Uni Med Sci*** 14 (2012) 10-18.

[13] Javidan A, Sabour NH, Latifi S, Shidfar F, Vafa MR, Heshmat R, Razavi HE, Larijani B, Meybodi HA, Evaluation of Bone Mineral Loss in Patients with Chronic Traumatic Spinal Cord Injury in Iran. ***J Spinal Cord Med*** (2014) (in Press).

[14] Ozdemir D, Uysal N, Gonenc S, Acikgoz O, Sonmez A, Topcu A, Ozdemir N, Duman M, Semin I, Ozkan H, Effect of Melatonin on Brain Oxidative Damage Induced by Traumatic Brain Injury in Immature Rats. ***Physiol Res*** 54 (2005) 631-637.

[15] Khazaeipour Z, Norouzi-Javidan A, Kaveh M, Mehrabani FK, Kazazi E, Emami-Razavi SH, Psychosocial Outcomes Following Spinal Cord Injury in Iran. ***J Spinal Cord Med*** 37 (2014) 338-45.

[16] Larner D, Chronic Pain Transition: A Concept Analysis. ***Pain Manag Nurs*** (2013) (in Press).

[17] Lee JY, Maeng S, Kang SR, Choi HY, Oh TH, Ju BG, Yune TY, Valproic Acid Protects Motor Neuron Death by Inhibiting Oxidative Stress and Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Cytochrome C Release after Spinal Cord Injury. ***J Neurotrauma*** 31 (2014) 582-594.

[18] Nakamura Y, Tajima K, Kawagoe I, Kanai M, Mitsuhata H, Efficacy of Traditional Herbal Medicine, Yokukansan on Patients with Neuropathic Pain. ***Masui*** 58 (2009) 1248-1255.

[19] Nasirinezhad F, Saffarpour S, Involvement of NMDA Receptors in Antinociceptive Effect of Ascorbic Acid in a Neuropathic Pain Model. ***RJMS*** 15 (2009) 193-204.

[20] Ordonez FJ, Rosety MA, Camacho A, Rosety I, Diaz AJ, Fornieles G, Bernardi M, Rosety-Rodriguez M, Arm-Cranking Exercise Reduced Oxidative Damage in Adults with Chronic Spinal Cord Injury. ***Arch Phys Med Rehabil*** 94 (2013) 2336-2341.

[21] Papucci L, Schiavone N, Witort E, Donnini M, Lapucci

A, Tempestini A, Formigli L, Zecchi-Orlandini S, Orlandini G, Carella G, Brancato R, Capaccioli S, Coenzyme Q10 Prevents Apoptosis by Inhibiting Mitochondrial Depolarization Independently of Its Free Radical Scavenging Property. ***J Biol Chem*** 278 (2003) 28220-28228.

[22] Peinado JR, Diaz-Ruiz A, Fruhbeck G, Malagon MM, Mitochondria in Metabolic Disease: Getting Clues from Proteomic Studies. ***Proteomics*** 14 (2014) 452-466.

[23] Perry KN, Nicholas MK, Middleton JW, Comparison of a Pain Management Program with Usual Care in a Pain Management Center for People with Spinal Cord Injury-Related Chronic Pain. ***Clin J Pain*** 26 (2010) 206-216.

[24] Pfeiffer AM, Jaeckel J, Lewerenz R, Noack A, Pouya T, Schacht C, Hoffmann J, Winter S, Schweiger M, Schafer K, Methner A, Mitochondrial Function and Energy Metabolism in Neuronal Ht22 Cells Resistant to Oxidative Stress. ***Br J Pharmacol*** 171 (2013) 2147-2158.

[25] Pieczenik SR, Neustadt J, Mitochondrial Dysfunction and Molecular Pathways of Disease. ***Exp Mol Pathol*** 83 (2007) 84-92.

[26] Rekand T, Hagen EM, Gronning M, Chronic Pain Following Spinal Cord Injury. ***Tidsskr Nor Laegeforen*** 132 (2012) 974-979.

[27] Ro LS, Chang KH, Neuropathic Pain: Mechanisms and Treatments. ***Chang Gung Med J*** 28 (2005) 597-605.

[28] Siniscalco D, Giordano C, Fuccio C, Luongo L, Ferraraccio F, Rosside F, Novellis V, Roth KA, Maione S, Involvement of Subtype 1 Metabotropic Glutamate Receptors in Apoptosis and Caspase-7 over-Expression in Spinal Cord of Neuropathic Rats. ***Pharmacol Res*** 57 (2008) 223-233.

[29] Somayajulu MS, McCarthy M, Hung M, Sikorska H, Borowy-Borowski, Pandey S, Role of Mitochondria in Neuronal Cell Death Induced by Oxidative Stress; Neuroprotection by Coenzyme Q10. ***Neurobiol Dis*** 18 (2005) 618-627.

[30] Sutachan JJ, Casas Z, Albarracin SL, Stab BR, Samudio I, Gonzalez J, Morales L, Barreto GE, Cellular and Molecular Mechanisms of Antioxidants in Parkinson's Disease. ***Nutr Neurosci*** 15 (2012) 120-126.

[31] Tan T, Barry P, Reken S, Baker M, Pharmacological Management of Neuropathic Pain in Non-Specialist Settings: Summary of Nice Guidance. ***BMJ*** 340 (2010) c1079.

[32] Tang LH, Aizenman E, The Modulation of N-Methyl-D-Aspartate Receptors by Redox and Alkylating Reagents in Rat Cortical Neurones in Vitro. ***J Physiol*** 465 (1993) 303-323.

[33] Wu KL, Hsu C, Chan JY, Impairment of the Mitochondrial Respiratory Enzyme Activity Triggers Sequential Activation of Apoptosis-Inducing Factor-Dependent and Caspase-Dependent Signaling Pathways to Induce Apoptosis after Spinal Cord Injury. ***J Neurochem*** 101 (2007) 1552-1566.

[34] Yowtak JJ, Wang HY, Kim YLu, Chung K, Chung JM, Effect of Antioxidant Treatment on Spinal Gaba Neurons in a Neuropathic Pain Model in the Mouse. ***Pain*** 154 (2013) 2469-2476.

[35] Zeron MM, Fernandes HB, Krebs C, Shehadeh J, Wellington CL, Leavitt BR, Baimbridge KG, Hayden MR, Raymond LA, Potentiation of Nmda Receptor-Mediated Excitotoxicity Linked with Intrinsic Apoptotic Pathway in Yac Transgenic Mouse Model of Huntington's Disease. ***Mol Cell Neurosci*** 25 (2004) 469-479.

[36] Zhou HY, Chen SR, Pan H, Targeting N-Methyl-D-Aspartate Receptors for Treatment of Neuropathic Pain. ***Expert Rev Clin Pharmacol*** 4 (2011) 379-388.