Original Paper

Effect of Coenzyme Q10 on neuropathic pain in adult CCI Rat model

Janzadeh A (MSc)[1], Nasirinezhad F (PhD)[2], Jameie SB (PhD)*[3]

[1]MSc in Physiology, Department of Physiology and Physiological Research Center, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences (Hemmat Campus), Tehran, Iran. [2]Associate Professor, Department of Physiology and Physiological Research Center, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences (Hemmat Campus), Tehran, Iran. [3]Associate Professor, Department Basic Science, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences (Hemmat Campus), Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: Oxidative stress is known as the one of the causes of neuropathic pain, reactive oxygen species (ROS) has been reported to be involved in this process. Coenzyme Q10 acts as an antioxidant and is able to reduce resulting oxidative damage. This study was done to determine the effect of Coenzyme Q10 on neuropathic pain in CCI (Chronic Crash Injury) rat model.

Materials and Methods: In this experimental study 30 male rats (200-250g) randomizely allocated into 3 groups each 10 rat including CCI, CCI + CoQ10 and CCI + vehicle. Neuropathic pain, was induced by Chronic Crash Injury (CCI) model for sciatic nerve. IP injection of CoQ10 (200 mg/kg) or vehicle was done daily for 10 days. Behavioral tests were done before and after surgery on day 5 and 10 respectively. Paw withdrawal threshold was assessed by Randall Selitto test, Analgesy Metter and Von Frey filaments. Data was analyzed by SPSS-14, Independent T and Mean-whatney tests.

Results: Induction of nerve injury decreased pain threshold ($P<0.05$) and treatment with CoQ10 increased mechanical and thermal threshold in neuropathic rats compared to CCI animals ($P<0.05$). There was a significant difference in pain threshold between animals treated CoQ10 and vehicle injected animals ($P<0.05$).

Conclusion: This study indicated that coenzyme Q10 prevents deleterious effects following nerve injury in animal model.

Keywords: Coenzyme Q10, Oxidative Stress, Neuropathic pain, CCI, Rat

*** Corresponding Author: Jameie SB (PhD), E-mail: behnamjameie@tums.ac.ir**

Received 15 March 2011 **Revised** 16 May 2011 **Accepted** 17 May 2011

This paper should be cited as: Janzadeh A, Nasirinezhad F, Jameie SB. [Effect of Coenzyme Q10 on neuropathic pain in adult CCI Rat model]. J Gorgan Uni Med Sci. 2012; 14(1): 10-18. [Article in Persian]

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان / بهار ۱۳۹۱ / دوره ۱۴ / شماره ۱ (پی در پی ۴۱) / صفحات ۱۰ تا ۱۸

تحقیقی

اثر کوآنزیم Q10 بر آستانه درد نوروپاتیک در موش صحرایی نر مدل CCI

آتوسا جان زاده[۱]، دکتر فریناز نصیری نژاد[۲]، دکتر سید بهنام الدین جامعی*[۳]

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی ، گروه فیزیولوژی ، مرکز تحقیقات فیزیولوژی ، دانشکده پزشکی (پردیس همت)، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

۲- دانشیار گروه فیزیولوژی ، مرکز تحقیقات فیزیولوژی ، دانشکده پزشکی (پردیس همت)، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

۳- دانشیار گروه علوم پایه ، دانشکده پیراپزشکی (پردیس همت) ، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

چکیده

زمینه و هدف : *استرس اکسیداتیو به عنوان یکی از دلایل ایجاد درد نوروپاتیک شناخته شده است و Reactive Oxygen Species (ROS) عامل ایجاد آن می‌باشد. کوآنزیم Q10 به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قادر به کاهش صدمات ناشی از استرس اکسیداتیو می‌باشد. این مطالعه به منظور تعیین اثر کوآنزیم Q10 بر درد نوروپاتیک در مدل Chronic Crash Injury (CCI) روی موش صحرایی انجام شد.*

روش بررسی : *این مطالعه تجربی روی ۳۰ سر موش صحرایی بالغ نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم در دانشکده پزشکی (پردیس همت) دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. به‌روش انتخاب تصادفی، حیوانات در سه گروه ده‌تایی CCI ، CCI + CoQ10 و CCI + vehicle قرار داده شدند. قبل از انجام جراحی تمام حیوانات به روش self control از نظر رفتاری آزمون شدند و نتایج آزمون به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. برای القای درد نوروپاتیک از مدل CCI برای عصب سیاتیک استفاده گردید. کوآنزیم Q10 و یا حلال آن روزانه به میزان ۲۰۰mg/kg یک‌بار در روز به مدت ۱۰ روز به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. آزمون‌های رفتاری قبل از جراحی و در روزهای پنجم و دهم بعد از جراحی انجام شد و رفلکس کشیدن پا به‌وسیله دستگاه‌های Randal Selitto, Analgesy Metter و رشته‌های Von Frey بررسی گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-14 و آزمون‌های Mann- whitney و Independent t test تجزیه و تحلیل شدند.*

یافته‌ها : *آسیب به عصب سیاتیک با روش CCI آستانه درد را کاهش داد (P<۰/۰۵) و تزریق کوآنزیم Q10 و حلال آن باعث افزایش آستانه درد مکانیکی (P<۰/۰۵) و حرارتی گردید (P<۰/۰۵). همچنین تفاوت آماری معنی‌دار در آستانه درد بین حیواناتی که کوآنزیم Q10 را دریافت کرده بودند؛ نسبت به حیوانات دریافت کننده حلال آن وجود داشت (P<۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری : *این مطالعه نشان داد که کوآنزیم Q10 از اثرات مخرب ایجاد شده متعاقب آسیب به عصب در مدل حیوانی جلوگیری می‌نماید.*

کلید واژه‌ها : *کوآنزیم Q10 ، استرس اکسیداتیو ، مدل CCI ، درد نوروپاتیک*

---

* نویسنده مسؤول : دکتر سید بهنام الدین جامعی ، پست الکترونیکی behnamjameie@tums.ac.ir

نشانی : تهران ، دانشگاه علوم پزشکی تهران (پردیس همت) ، دانشکده پیراپزشکی ، گروه علوم پایه ، تلفن ۸۲۹۴۴۵۲۹ - ۰۲۱ ، نمابر ۸۸۰۵۴۳۶۰

وصول مقاله : ۸۹/۱۲/۲۴ ، اصلاح نهایی : ۹۰/۲/۲۶ ، پذیرش مقاله : ۹۰/۲/۲۷

مقدمه

میتوکندری منبع تولید نیرو در سلول‌ها است. این اندامک انرژی را به‌صورت ATP و گرما تولید می‌کند. میتوکندری‌ها به‌دلیل داشتن خصوصیات منحصر به فرد مثل عدم وجود حمایت هیستون بسیار آسیب‌پذیرند که می‌توانند به آپوپتوز سلولی منجر شود (۱).

Aw و Janes در سال ۱۹۸۹ بیان کردند که اختلالات میتوکندری تقریباً در تمام بیماری‌ها وجود دارد(۲). به‌دنبال آن Cohen و Gold در سال ۲۰۰۱ ضمن تایید این مسأله درد نوروپاتیک را از علائم درگیری میتوکندری نورون‌ها بیان نمودند (۳).

درد نوروپاتیک دردی مزمن است که به‌دلیل آسیب یا عملکرد نادرست سیستم عصبی مرکزی یا محیطی ایجاد می‌شود (۴). بیماران مبتلا معمولاً از احساس درد خیلی شدید با محرک‌هایی که درد خفیف ایجاد می‌کنند؛ یعنی عدم وجود تناسب بین احساس درد و محرک (هیپرآلجزیا) و احساس درد با محرک‌هایی که به‌طور طبیعی دردناک نیستند (آلودینیا) و دوره‌های خودبه‌خودی درد یا دیستزیا شکایت می‌کنند (۵). این نوع درد مزمن معمولاً به دلیل طولانی بودن و عدم پاسخ به ضددردهای رایج زندگی بیمار را مختل می‌کند (۶). مکانیسم‌های متعددی برای ایجاد درد نوروپاتیک مطرح شده است که از بین آنها می‌توان به فعال‌شدن گیرنده‌های NMDA، افزایش سطح گلوتامات و نیتریک‌اکسید اشاره نمود (۷). در این رابطه یکی از مکانیسم‌هایی که اخیراً توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است؛ افزایش بیش از حد Reactive oxygen species یا ROS و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌باشد (۸).

منابع مختلفی در سیستم عصبی وجود دارند که منجر به تولید ROS می‌شوند. یکی از مهم‌ترین این منابع در داخل سلول، میتوکندری نورون‌ها است (۹). به‌طور طبیعی ROS در داخل سلول ایجاد می‌شود و تولید آن برای انجام بعضی از اعمال مثل محافظت در برابر هجوم عوامل بیماری‌زا مفید است و میزان تولید آن به‌طور دقیق توسط آنزیم‌های مختلف کنترل می‌شود. در شرایط بیماری به دلیل افزایش تولید یا آسیب سیستم‌های جمع‌کننده، میزان ROS افزایش یافته باعث مرگ سلولی می‌شود (۱۰و۱۱).

در بدن مکانیسم‌های مختلفی برای جلوگیری از ازدیاد ROS وجود دارد که حضور و تولید آنتی‌اکسیدان‌ها از مهم‌ترین این مکانیسم‌ها است. یکی از آنتی‌اکسیدان‌های قوی و بااهمیت در کنترل میزان ROS ، کوآنزیم Q10 است که به‌طور طبیعی در میتوکندری تولید می‌شود و علاوه بر انتقال الکترون از کمپلکس I و II به کمپلکس III زنجیره تنفسی در میتوکندری باعث پایداری غشای آن نیز می‌گردد (۱۵-۱۲). شواهد زیادی نشان می‌دهد کاهش فعالیت کمپلکس I در زنجیره تنفسی میتوکندری و استرس اکسیداتیو از دلایل مهم ایجاد بیماری‌های دژنراتیو سیستم عصبی است (۱۶). همچنین کوآنزیم Q10 ، سطح ویتامین C و ویتامین E را که جزء آنتی‌اکسیدان‌های مهم می‌باشند؛ افزایش می‌دهد (۱۳و۱۷). این امر باعث حفاظت بیشتر سلول علیه آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد داخل و خارج سلولی خواهد شد (۱۳).

کوآنزیم Q10 در درمان بسیاری از بیماری‌ها مانند بیماری‌های قلبی و عروقی و بیماری‌های نورودژنراتیو شامل پارکینسون، مالتیپل اسکلروز و آلزایمر نقش مؤثر داشته است (۲۰-۱۸). با توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی قوی این کوآنزیم و نقش اثبات شده اکسیدکننده‌ها در ایجاد درد نوروپاتی (۲۱و۲۲)؛ مطالعه حاضر به منظور تعیین اثر کوآنزیم Q10 بر درد نوروپاتیک در مدل Chronic Crash Injury (CCI) انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۰ سر موش صحرایی بالغ نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم (انستیتو پاستور) در دانشکده پزشکی (پردیس همت) دانشگاه علوم پزشکی تهران در سال ۱۳۸۸ انجام شد.

حیوانات پیش از شروع آزمایش به مدت دوهفته برای سازگاری با محیط در حیوانخانه دانشگاه نگهداری شدند. در طول این مدت و همچنین در طول آزمایش به آب و غذا 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 تهران انجام پذیرفت. به منظور القای

درد نوروپاتیک از روش Chronic Crash Injury (CCI) استفاده گردید. در این روش حیوانات به وسیله تزریق داخل صفاقی مخلوط mg/kg ۱۰۰ کتامین و به نسبت یک‌هشتم آن زیلازین بیهوش شدند. پس از استریل سطح دورسال ران راست پوست، این ناحیه برش دتده شد و با کنارزدن عضلات عصب سیاتیک اکسپوز گردید. با استفاده از نخ بخیه ۴صفر، چهار گره شل به نحوی که خون‌رسانی نواحی دیستال را قطع ننماید؛ بر روی عصب دقیقاً پیش از سه‌شاخه شدن عصب زده شد. سپس پوست و عضله جداگانه با نخ سیلک ۳ صفر دوخته شد و ناحیه جراحی استریل گردید.

حیوانات به روش انتخاب تصادفی در سه گروه ده‌تایی قرار گرفتند. گروه CCI فقط تحت عمل جراحی آسیب عصب قرار گرفتند و هیچ دارویی دریافت نکردند. گروه CCI+Q10 تحت عمل جراحی آسیب عصب قرار گرفتند و از روز بعد از جراحی به مدت ۱۰ روز کوآنزیم Q10 به میزان mg/kg ۲۰۰ در حجم ۰/۵ میلی‌لیتر به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه CCI+Vehicle تحت عمل جراحی آسیب عصب قرار گرفتند و از روز بعد از جراحی به مدت ۱۰روز mg/kg ۲۰۰ در حجم ۰/۵ میلی‌لیتر حلال کوآنزیم Q10 را به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند.

قبل از انجام جراحی تمام حیوانات به روش self control از نظر رفتاری آزمون شدند و نتایج آزمون به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد.

برای مطالعه رفتاری، آزمون‌های رفتاری قبل از جراحی (کنترل) و سپس در روزهای ۵ و ۱۰ بعد از جراحی روی پای راست انجام گردید. کلیه جراحی‌ها و مطالعات رفتاری بین ساعت ۱۳-۱۰ انجام شدند. برای سنجش هیپرآلجزیای حرارتی از تست Plantar استفاده شد. به این منظور حیوانات در یک قفس پلاستیکی (۱۴×۱۷×۲۲ سانتی‌متر ارتفاع×پهنا×طول) (Ugo Basile, Varese, Italy) با یک کف شیشه‌ای قرار گرفتند. پانزده دقیقه فرصت برای آشنایی با محیط به موش‌ها داده شد. سپس اشعه مادون قرمز به کف پا تابیده شد. ایجاد پاسخ به‌صورت کشیدن پا به‌طور اتوماتیک باعث قطع شدن حرارت توسط منبع تولید حرارت در دستگاه می‌گردید. زمان cut-off ۲۵ ثانیه برای جلوگیری از صدمه پای حیوان قرار داده شد. این تست برای پای آسیب دیده ۳ بار به فواصل حداقل ۵ دقیقه انجام شد و سپس میانگین اعداد به‌دست آمده به عنوان پاسخ ثبت گردید.

تغییرات رفتاری ناشی از هیپرآلجزیای مکانیکی توسط تست Basill Analgesy Metter (Ugo Basile, Varese, Italy) اندازه‌گیری شد. در این تست تحریک مکانیکی توسط وزنه متصل به اهرم به کف پای حیوان وارد شد و فشار افزاینده ایجاد شده توسط یک خط‌کش مدرج متصل به دستگاه خوانده شد. زمانی که حیوان با کشیدن پا نسبت به فشار اعمال شده پاسخ می‌داد؛ اعمال فشار متوقف شده و فشاری را که موجب این عکس‌العمل حیوان گردیده بود؛ ثبت شد. این عمل برای پای آسیب دیده دوبار به فواصل حداقل یک دقیقه از یکدیگر انجام شد و از اعداد به‌دست آمده میانگین گرفته شد.

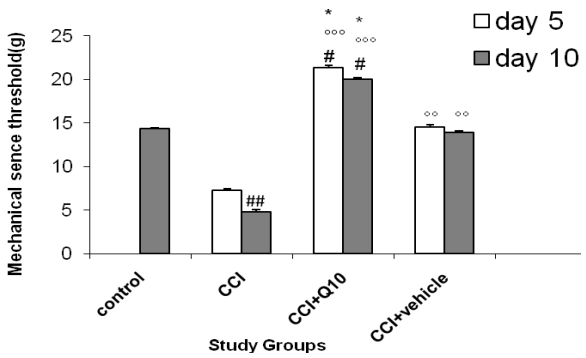
آزمون رفتاری ناشی از آلودینیای مکانیکی توسط رشته‌های Von frey اندازه‌گیری شد. حیوان در یک قفس توری فلزی (ابعاد ۲۰×۲۰×۲۰ سانتی‌متر) که حدود ۳۰سانتی‌متر از سطح زمین بالاتر بود؛ قرار داده شد. رشته های Von frey با شماره‌های ۴/۵۶ ، ۴/۷۴ ، ۴/۹۳ ، ۵/۰۷ ، ۵/۱۸ ، ۵/۴۶ ، ۵/۸۸ و ۶/۱ به ترتیب از شدت کم به زیاد به صورت عمودی به کف پای حیوان تماس داده شد. در صورت ایجاد عکس‌العمل در پای حیوان با اعمال فشار، پاسخ مثبت ثبت گردید و از اعمال فشار توسط رشته‌های بعدی خودداری شد. این عمل بر روی پای آسیب دیده ۵ بار با فواصل حداقل ۲۰ثانیه‌ای از یکدیگر برای هر شماره رشته انجام شد و ثبت ۳بار علامت مثبت به عنوان پاسخ تلقی شد.

نتایج حاصل از آزمون‌های رفتاری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-14 و آزمون‌های Mann- whitney و Independent t test تجزیه و تحلیل شد و نتایج به صورت Mean±SD ارائه و مقادیر کمتر و مساوی ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

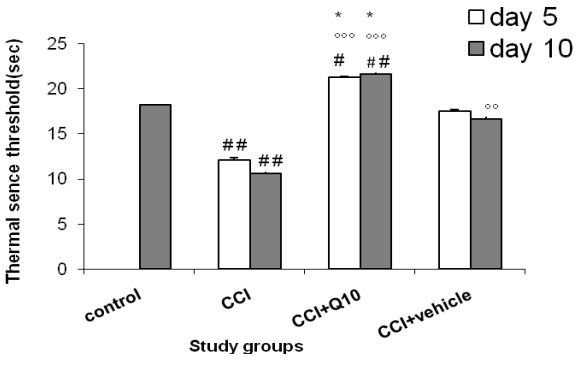
نتایج مربوط به هیپر آلجزیای مکانیکی

تغییرات آستانه حس مکانیکی در روزهای پنجم و دهم بعد از آزمایش در نمودار یک آمده است.



نمودار ۱ : آستانه حس مکانیکی در گروه‌های مورد مطالعه در روزهای پنجم و دهم بعد از انجام آسیب عصبی.
داده ها به صورت Mean ±SEM میانگین نشان داده شده‌اند.
°° و °°° نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (به ترتیب P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه CCI است.
 # و ## : تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱) نسبت به گروه کنترل. * : تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) نسبت به گروه حلال + CCI

آستانه حس مکانیکی در گروه کنترل ۰/۰۸±۱۴/۳۶ گرم بود و بعد از انجام CCI به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۱). آستانه حس مکانیکی در حیوانات گروه CCI در روز پنجم ۰/۲۱±۷/۲۵ گرم و در روز دهم آزمایش به ۰/۲۲±۴/۸۳ گرم رسید که نشان‌دهنده مؤثر بودن عمل جراحی آسیب عصب بود. تزریق کوآنزیم Q10 و حلال آن باعث افزایش معنی‌داری در میزان آستانه حس مکانیکی نسبت به گروه CCI شد (به‌ترتیب P<۰/۰۰۱ و P<۰/۰۱ در روز پنجم و دهم). آستانه این حس در گروه دریافت کننده کوآنزیم Q10 و حلال در روز پنجم به ترتیب ۰/۲۱±۲۱/۳۹ گرم و ۰/۲۳±۵۳/۱۴ گرم و در روز دهم به ترتیب ۰/۲۱±۲۰ گرم و ۰/۲۳±۱۳/۹ گرم بود و نشان‌دهنده مؤثر بودن تزریق کوآنزیم Q10 و حلال آن در کاهش میزان درد مکانیکی بود. البته اختلاف آماری معنی‌داری بین آستانه حس مکانیکی ایجاد شده در گروه‌های دریافت کننده کوآنزیم Q10 و حلال آن وجود داشت (P<۰/۰۵) و در گروهی که بعد از عمل CCI کوآنزیم Q10 دریافت کردند؛ آستانه حس مکانیکی بالاتر بود. لازم به ذکر است که در این مورد در حالی که تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه دریافت کننده حلال با گروه کنترل دیده نمی‌شود؛ ولی آستانه این حس در گروه دریافت کننده کوآنزیم نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۱).



نمودار ۲ : آستانه حس حرارتی در گروه‌های مورد مطالعه در روزهای پنجم و دهم بعد از انجام آسیب عصبی.
داده ها به صورت Mean ±SEM میانگین نشان داده شده‌اند.
°° و °°° نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (به ترتیب P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه CCI است.
 # و ## : تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱) نسبت به گروه کنترل.
**** : تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) نسبت به گروه حلال + CCI***

در مقایسه نمودارهای هیپرآلجزیای مکانیکی در روز پنجم و دهم، تفاوت آماری معنی‌داری بین نتایج مربوطه در روزهای پنجم و دهم وجود نداشت.

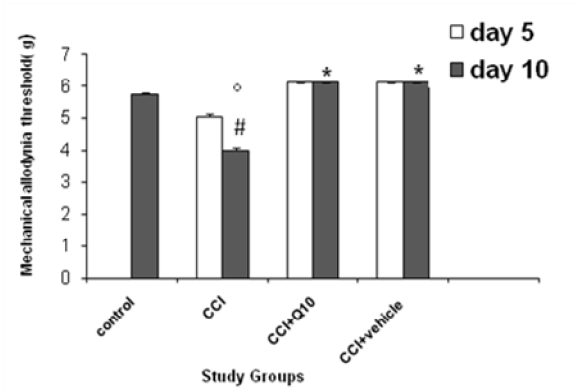
نتایج مربوط به هیپر آلجزیای حرارتی

نمودار ۲ نشان‌دهنده تغییر در آستانه حس حرارتی در گروه‌های مختلف آزمایش در روزهای پنجم و دهم بعد از آزمایش است. آستانه حس حرارتی در گروه کنترل ۰/۶۵±۱۸/۰۱۸ ثانیه بود و بعد از انجام CCI آستانه این حس به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۱). به طوری که در حیوانات گروه CCI در روز پنجم ۰/۲۵±۱۲/۰۹ ثانیه و در روز دهم آزمایش به ۰/۲۱±۱۰/۵۹ثانیه رسید. تزریق کوآنزیم Q10 و حلال آن باعث افزایش معنی‌دار در میزان آستانه حس حرارتی نسبت به گروه CCI شد (به ترتیب P<۰/۰۰۱ و P<۰/۰۵ در روز پنجم و P<۰/۰۰۱ و P<۰/۰۱ در روز دهم). آستانه این حس در گروه دریافت کننده کوآنزیم Q10 و حلال در روز پنجم به ترتیب ۰/۱۶±۲۱/۲ ثانیه و ۰/۲±۱۷/۴۶ ثانیه و در روز دهم به ترتیب ۰/۱۸±۲۱/۵۷ ثانیه و ۰/۲۲±۱۶/۶۵ ثانیه بود که نشان‌دهنده مؤثر بودن تزریق کوآنزیم Q10 وحلال آن در کاهش میزان درد حرارتی است. البته اختلاف آماری معنی‌دار بین آستانه حس حرارتی ایجاد شده در گروه‌هایی که تزریق کوآنزیم Q10 و حلال دریافتند نمودند؛ وجود داشت (P<۰/۰۵) و در گروهی که بعد از عمل

CCI کوآنزیم Q10 دریافت کردند؛ آستانه حس حرارتی بالاتر می‌باشد که نشان‌دهنده اثر این کوآنزیم بر درد است. لازم به ذکر است که در این مورد در حالی که تفاوت معنی‌داری بین گروه دریافت کننده حلال آن با گروه کنترل دیده نمی‌شود؛ ولی آستانه این حس در گروه دریافت کننده این کوآنزیم نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵).

نتایج مربوط به آلودینیای مکانیکی

تغییرات آستانه حس مکانیکی در گروه‌های مختلف آزمایش در روزهای پنجم و دهم بعد از آزمایش در نمودار ۳ آمده است.



روزهای پنجم و دهم بعد از انجام آسیب عصبی.
داده ها به صورت Mean ±SEM میانگین نشان داده شده‌اند.
**** تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه CCI***
° تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل
 # تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) نسبت به گروه CCI در روز پنجم

آستانه حس مکانیکی در گروه کنترل ۰/۰۵±۵/۷۴ بود. بعد از انجام CCI آستانه این حس در روز پنجم کاهش آماری معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نیافت. به‌طوری که در حیوانات گروه CCI در روز پنجم به میزان ۰/۰۹±۵/۰۵ رسید. این نتایج نشان‌دهنده ایجاد نشدن آلودینیای مکانیکی در روز پنجم است؛ ولی در روز دهم در CCI آستانه نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (P<۰/۰۰۱) و به میزان ۰/۰۸۹±۴/۳ رسید که نشان‌دهنده ایجاد آلودینیای مکانیکی بود. تزریق کوآنزیم Q10 وحلال باعث افزایش معنی‌دار در میزان آستانه حس حرارتی نسبت به گروه CCI در روز دهم شد (P<۰/۰۰۱). بدیهی است تغییری در روز پنجم ایجاد نشد. آستانه این حس در گروه دریافت کننده کوآنزیم Q10 و حلال در روز پنجم و دهم ۶/۱ می‌باشد که نشان‌دهنده مؤثر بودن تزریق کوآنزیم Q10 و حلال در کاهش میزان درد مکانیکی در روز دهم بود. البته اختلاف آماری معنی‌دار بین آستانه حس مکانیکی ایجاد شده در گروه‌هایی که تزریق کوآنزیم Q10 و حلال داشتند؛ وجود نداشت. نتایج مربوط به مقایسه نمودارهای آلودینیای مکانیکی در روز پنجم و دهم نشان داد که حس آلودینیا در روز دهم نسبت به روز پنجم تفاوت معنی‌داری پیدا کرده است (P<۰/۰۵). به طوری که آستانه حس از ۰/۰۹±۵/۰۵ در روز پنجم به ۰/۰۸±۴ تغییر یافت.

بحث

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان‌دهنده مؤثر بودن استفاده از کوآنزیم Q10 در کاهش درد نوروپاتیک در مدل CCI می‌باشد. در حیواناتی که تحت عمل CCI قرار گرفتند؛ علائمی چون هیپرآلجزیای حرارتی و مکانیکی و آلودینیای مکانیکی که نشان‌دهنده وجود درد نوروپاتیک و مؤثر بودن آسیب به عصب است؛ دیده شد. در حیواناتی که به جای کوآنزیم Q10 ، حلال آن را دریافت نمودند؛ نیز آستانه درد کاهش یافت که نشان می‌دهد مواد موجود در حلال نیز در کاهش درد مؤثر بوده است. همچنین نشان داده شد که با تجویز کوآنزیم Q10 آستانه درد افزایش بیشتری نسبت به استفاده از حلال آن به تنهایی داشت و در تست‌های مربوط به هیپرآلجزیای حرارتی و مکانیکی تفاوت آماری معنی‌داری بین دو گروه وجود داشت که تاییدکننده تاثیر بیشتر کوآنزیم نسبت به حلال آن در کاهش درد می‌باشد.

در دهه گذشته مطالعات فراوانی در مورد اثرات درمانی کوآنزیم Q10 انجام شده است. مطالعات بالینی و تجربی متعدد نشان داده‌اند که استفاده خوراکی از کوآنزیم Q10 در درمان بیماری‌های دژنراتیو سیستم عصبی مؤثر است (۱۶و۲۳و۲۴). اغلب این مطالعات بر نقش کوآنزیم Q10 در کاهش استرس اکسیدایتو تاکید نموده‌اند (۲۳). همچنین نشان داده شده است که این کوآنزیم باعث حفاظت سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو می‌شود (۲۵).

اختلالات میتوکندری در بروز درد نوروپاتیک به اثبات رسیده است (۲۶و۲۷). التهاب ایجاد شده به‌دنبال آسیب عصبی در مدل CCI را به‌دلیل افزایش تولید سوپراکسید در میتوکندری می‌دانند (۲۸). همچنین هیپرآلجزیای ایجاد شده

در این مدل را به افزایش رادیکال‌های آزاد نسبت می‌دهند (۲۹). بسیاری از محققین فعال شدن گیرنده‌های NMDA را از عوامل اصلی ایجادکننده درد نوروپاتیک می‌دانند و آن را نقطه بحرانی در بروز هیپرآلجزیا معرفی می‌نمایند (۳۰و۳۱). فعال‌شدن گیرنده‌های NMDA خود عامل دیگر در افزایش تولید سوپراکسید می‌باشدکه به نوبت موجب مرگ سلولی و پدیده آپوپتوز در نخاع خواهد شد (۸). از طرف دیگر فعال شدن گیرنده‌های NMDA می‌تواند منجر به کاهش میزان گلوتاتیون که یک آنتی‌اکسیدان مهم در سیستم عصبی می‌باشد؛ شود (۳۲). تعادل بین ROS و عملکرد سیستم‌های ازبین‌برنده آنها نقش مهمی در حیات سلول‌ها و سلامت بدن دارد. در درد نوروپاتیک علاوه بر افزایش ROS، میزان آنتی‌اکسیدان‌ها هم کاهش می‌یابد. براساس گزارشات موجود کوآنزیم Q10 می‌تواند فعالیت گیرنده‌های NMDA را کاهش دهد (۳۳) و از این طریق باعث کاهش میزان رادیکال‌های آزاد و افزایش فعالیت سیستم‌های از بین برنده ROS گردد.

علاوه براین ROS به خصوص پراکسید هیدروژن، از طریق فعال کردن انتقال‌دهنده‌های عصبی مرتبط با درد می‌تواند باعث تداوم هیپرآلجزیای ایجاد شده بعد از آسیب عصبی شود (۳۲و۳۳). نشان داده شده است که با جلوگیری از مرگ سلولی در چند روز اول بعد از آسیب عصبی می‌توان از ایجاد هیپرآلجزیای مکانیکی و حرارتی جلوگیری کرد (۳۴). کوآنزیم Q10 یک رباینده سیستم ROS می‌باشد که با جلوگیری از مرگ سلولی اثر کاهنده بر درد دارد (۳۳). احتمالاً کوآنزیم Q10 علاوه بر اثر از طریق حفظ میتوکندری و جلوگیری از مرگ سلولی از مسیرهای دیگر هم می‌تواند درد را کاهش دهد. از آنجا که گروه دریافت کننده کوآنزیم Q10 و گروه کنترل تفاوت معنی‌داری وجود دارد و آستانه درد در گروه دریافت کننده کوآنزیم Q10 حتی از آستانه درد در گروه کنترل نیز بیشتر می‌باشد؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد که این کوآنزیم توانایی ایجاد بی‌دردی را نیز داشته است.

کوآنزیم Q10 و حلال آن همچنین آستانه تحمل درد در حیوانات را افزایش داده‌اند. البته تفاوت معنی‌داری بین استفاده از کوآنزیم Q10 و حلال آن وجود دارد. استفاده از کوآنزیم Q10 آستانه درد را حتی نسبت به گروه کنترل افزایش داده است. در حالی که این افزایش در گروهی که از حلال کوآنزیم Q10 استفاده کردند؛ نسبت به کنترل دیده نشد. حلال مورد استفاده شده در این تحقیق حاوی ویتامین E بود. ویتامین E از آنتی‌اکسیدان‌های مؤثر بوده و می‌تواند سلول‌ها را در برابر آسیب‌های استرس اکسیداتیو حفظ کند (۳۵). مقالات متعددی مبنی بر اثرات تسکین‌دهندگی ویتامین E هم وجود دارد. همچنین نشان داده شده است که میزان تولید یون‌های سوپراکسید که جزء رادیکال‌های آزاد می‌باشند؛ رابطه عکس با سطح آلفا توکوفرول دارد (۳۶). مطالعات Kim و همکاران نشان‌دهنده کاهش پاسخ‌دهی نورون‌های شاخ خلفی نخاع بعد از اعمال محرک مکانیکی به‌دنبال استفاده از ویتامین E می‌باشد (۳۷). بدین ترتیب شاید مهم‌ترین مکانیسمی که بتوان برای اثر ضددردی ویتامین E پیدا کرد؛ کاهش حساسیت مرکزی (Central Sensitization) باشد. لذا این احتمال وجود دارد که کاهش درد در گروه دریافت کننده حلال به دلیل ویتامین E موجود در این ترکیب باشد.

همچنین کوآنزیم Q10 قادر به افزایش سطح ویتامین‌های E و C می‌باشد (۳۸). اثر ضددردی ویتامین C بر درد نوروپاتیک در مطالعه نصیری‌نژاد و صفرپور گزارش شده است (۳۹). این احتمال وجود دارد که افزایش آستانه درد در گروه دریافت کننده کوآنزیم Q10 نسبت به گروه کنترل به دلیل بالا بردن میزان آنتی‌اکسیدان‌های ذکر شده باشد. البته اثر سینرژیستیک که ممکن است بین آنتی‌اکسیدان‌های موجود در حلال و کوآنزیم Q10 وجود داشته باشد را نباید در خاصیت ضددردی و همچنین ایجاد بی‌دری توسط این کوآنزیم از نظر دور داشت.

همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد در مقایسه بین روز پنجم و دهم تفاوت معنی‌داری در آستانه درد مکانیکی و حرارتی مشاهده نمی‌شود. این امر می‌تواند به دلیل افزایش درد در روز دهم باشد. چنان که مطالعه‌ای نشان داد؛ درد در هفته دوم بعد از ایجاد آسیب عصبی به اوج خودش می‌رسد (۴۰)؛ ولی درد آلودینیا در روز دهم نسبت به روز پنجم افزایش می‌یابد.

نتیجه‌گیری

تزریق کوآنزیم Q10 می‌تواند از عوارض ایجاد شده به‌دنبال آسیب عصبی مثل هیپرآلجزیا وآلودینیا جلوگیری

نماید. لذا به نظر می‌رسد؛ می‌تواند به عنوان کاهنده درد مزمن مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی و پایان‌نامه آتوسا جان‌زاده بود که در گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (پردیس همت) به انجام رسید. حمایت مالی این طرح توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران سابق قبل از ادغام با دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت. نویسندگان مقاله از شرکت Tishcon (Ny, USA) به خاطر هدیه دارو و حلال آن کمال سپاس و تشکر خود را اعلام می‌نمایند. همچنین از خانم شهلا چوبچیان به خاطر تجزیه و تحلیل آماری سپاسگزاری می گردد.

References

1. Pieczenik SR, Neustadt J. Mitochondrial dysfunction and molecular pathways of disease. Exp Mol Pathol. 2007 Aug;83(1):84-92.

2. Aw TY, Jones DP. Nutrient supply and mitochondrial function. Annu Rev Nutr. 1989;9:229-51.

3. Cohen BH, Gold DR. Mitochondrial cytopathy in adults: what we know so far. Cleve Clin J Med. 2001 Jul;68(7):625-6.

4. Woolf CJ. Dissecting out mechanisms responsible for peripheral neuropathic pain: implications for diagnosis and therapy. Life Sci. 2004 Apr 9;74(21):2605-10.

5. Savegnago L, Jesse CR, Pinto LG, Rocha JB, Nogueira CW. Diphenyl diselenide attenuates acute thermal hyperalgesia and persistent inflammatory and neuropathic pain behavior in mice. Brain Res. 2007 Oct 17;1175:54-9.

6. Kim YS, Chang HK, Lee JW, Sung YH, Kim SE, Shin MS, Yi JW, Park JH, Kim H, Kim CJ. Protective effect of gabapentin on N-methyl-D-aspartate-induced excitotoxicity in rat hippocampal CA1 neurons. J Pharmacol Sci. 2009 Jan;109(1):144-7.

7. Hansen KB, Furukawa H, Traynelis SF. Control of assembly and function of glutamate receptors by the amino-terminal domain. Mol Pharmacol. 2010 Oct;78(4):535-49.

8. Siniscalco D, Fuccio C, Giordano C, Ferraraccio F, Palazzo E, Luongo L, Rossi F, Roth KA, Maione S, de Novellis V. Role of reactive oxygen species and spinal cord apoptotic genes in the development of neuropathic pain. Pharmacol Res. 2007 Feb;55(2):158-66.

9. Hamanaka RB, Chandel NS. Mitochondrial reactive oxygen species regulate hypoxic signaling. Curr Opin Cell Biol. 2009 Dec;21(6):894-9.

10. Dröge W. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev. 2002 Jan;82(1):47-95.

11. Allen RG, Tresini M. Oxidative stress and gene regulation. Free Radic Biol Med. 2000 Feb;28(3):463-99.

12. Bhagavan HN, Chopra RK. Plasma coenzyme Q10 response to oral ingestion of coenzyme Q10 formulations. Mitochondrion. 2007 Jun;7 Suppl:S78-88.

13. Barshop BA, Gangoiti JA. Analysis of coenzyme Q in human blood and tissues. Mitochondrion. 2007 Jun;7 Suppl:S89-93.

14. 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. 2003 Jul; 278(30):28220-8.

15. Somayajulu M, McCarthy S, Hung M, Sikorska M, Borowy-Borowski H, Pandey S. Role of mitochondria in neuronal cell death induced by oxidative stress; neuroprotection by Coenzyme Q10. Neurobiol Dis. 2005 Apr;18(3):618-27.

16. Müller T, Büttner T, Gholipour AF, Kuhn W. Coenzyme Q10 supplementation provides mild symptomatic benefit in patients with Parkinson's disease. Neurosci Lett. 2003 May;341(3):201-4.

17. Ruiz-Jiménez J, Priego-Capote F, Mata-Granados JM, Quesada JM, Luque de Castro MD. Determination of the ubiquinol-10 and ubiquinone-10 (coenzyme Q10) in human serum by liquid chromatography tandem mass spectrometry to evaluate the oxidative stress. J Chromatogr A. 2007 Dec;1175(2):242-8.

18. Thomas SR, Neuzil J, Stocker R. Inhibition of LDL oxidation by ubiquinol-10. A protective mechanism for coenzyme Q in atherogenesis? Mol Aspects Med. 1997;18 Suppl:S85-103.

19. Conklin KA. Coenzyme q10 for prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity. Integr Cancer Ther. 2005 Jun;4(2):110-30.

20. Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative damage in Alzheimer's and Parkinson's diseases and coenzyme Q10 as a potential treatment. J Bioenerg Biomembr. 2004 Aug;36(4):381-6.

21. Muscoli C, Mollace V, Wheatley J, Masini E, Ndengele M, Wang ZQ, Salvemini D. Superoxide-mediated nitration of spinal manganese superoxide dismutase: a novel pathway in N-methyl-D-aspartate-mediated hyperalgesia. Pain. 2004 Sep;111(1-2):96-103.

22. Wang ZQ, Porreca F, Cuzzocrea S, Galen K, Lightfoot R, Masini E, Muscoli C, Mollace V, Ndengele M, Ischiropoulos H, Salvemini D. A newly identified role for superoxide in inflammatory pain. J Pharmacol Exp Ther. 2004 Jun;309(3):869-78.

23. Ferrante RJ, Andreassen OA, Dedeoglu A, Ferrante KL, Jenkins BG, Hersch SM, Beal MF. Therapeutic effects of coenzyme Q10 and remacemide in transgenic mouse models of Huntington's disease. J Neurosci. 2002 Mar;22(5):1592-9.

24. Galpern WR, Cudkowicz ME. Coenzyme Q treatment of neurodegenerative diseases of aging. Mitochondrion. 2007 Jun; 7 Suppl:S146-53.

25. Sharma SK, El Refaey H, Ebadi M. Complex-1 activity and

18F-DOPA uptake in genetically engineered mouse model of Parkinson's disease and the neuroprotective role of coenzyme Q10. Brain Res Bull. 2006 Jun;70(1):22-32.

26. Zimmermann M. Pathobiology of neuropathic pain. Eur J Pharmacol. 2001 Oct;429(1-3):23-37.

27. Harden RN. Chronic neuropathic pain. Mechanisms, diagnosis, and treatment. Neurologist. 2005 Mar;11(2):111-22.

28. Neustadt J, Pieczenik SR. Medication-induced mitochondrial damage and disease. Mol Nutr Food Res. 2008 Jul;52(7):780-8.

29. Wang ZQ, Porreca F, Cuzzocrea S, Galen K, Lightfoot R, Masini E, Muscoli C, Mollace V, Ndengele M, Ischiropoulos H, Salvemini D. A newly identified role for superoxide in inflammatory pain. J Pharmacol Exp Ther. 2004 Jun; 309(3): 869-78.

30. Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. Science. 1993 Oct;262(5134):689-95.

31. Tan EC, Bahrami S, Kozlov AV, Kurvers HA, Ter Laak HJ, Nohl H, Redl H, Goris RJ. The oxidative response in the chronic constriction injury model of neuropathic pain. J Surg Res. 2009 Mar; 152(1):84-8.

32. Guedes RP, Bosco LD, Teixeira CM, Araújo AS, Llesuy S, Belló-Klein A, Ribeiro MF, Partata WA. Neuropathic pain modifies antioxidant activity in rat spinal cord. Neurochem Res. 2006 May;31(5):603-9.

33. Kim HK, Park SK, Zhou JL, Taglialatela G, Chung K, Coggeshall RE, Chung JM. Reactive oxygen species (ROS) play an important role in a rat model of neuropathic pain. Pain. 2004 Sep; 111(1-2):116-24.

34. de Novellis V, Siniscalco D, Galderisi U, Fuccio C, Nolano M, Santoro L, Cascino A, Roth KA, Rossi F, Maione S. Blockade of glutamate mGlu5 receptors in a rat model of neuropathic pain prevents early over-expression of pro-apoptotic genes and morphological changes in dorsal horn lamina II. Neuropharmacology. 2004 Mar;46(4):468-79.

35. Aabdallah DM, Eid NI. Possible neuroprotective effects of lecithin and alpha-tocopherol alone or in combination against ischemia/reperfusion insult in rat brain. J Biochem Mol Toxicol. 2004;18(5):273-8.

36. Wajda R, Zirkel J, Schaffer T. Increase of bioavailability of coenzyme Q(10) and vitamin E. J Med Food. 2007 Dec;10(4):731-4.

37. Kim HK, Kim JH, Gao X, Zhou JL, Lee I, Chung K, Chung JM. Analgesic effect of vitamin E is mediated by reducing central sensitization in neuropathic pain. Pain. 2006 May;122(1-2):53-62.

38. Ibrahim WH, Bhagavan HN, Chopra RK, Chow CK. Dietary coenzyme Q10 and vitamin E alter the status of these compounds in rat tissues and mitochondria. J Nutr. 2000 Sep;130(9):2343-8.

39. Nasirinezhad F,. Saffarpour S. [Involvement of NMDA Receptors in Antinociceptive Effect of Ascorbic Acid in a Neuropathic Pain Model]. J Iran Univ Med Sci. 2009;15(3-4): 193-204.[Article in Persian]

40. Nasiri Nejad F, Manaheji H.[Sensory and motor behaviors of neuropathic rats following spinal transplantation of Chromaffin cells]. J Iran Univ Med Sci. 2003;9(4):581-92. [Article in Persian].