جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله دانشکده پزشکی
دانشگاه علوم پزشکی تهران
سال ۶۲ ، شماره ۱۰، صفحات ۸۵۱ تا ۸۵۷ (۱۳۸۳)

اثر ضددردی عصاره هیدرو الکلی ریشه شیرین بیان در موش صحرایی نر در دو مدل درد حاد و مزمن

دکتر پروین زارعیان (استادیار)*، دکتر سعید اسماعیلی‌ماهانی (دانشجوی دکترای فیزیولوژی)، دکتر مهناز طاهریان‌فرد (استادیار)*****

*بخش فیزیولوژی، دانشکده پزشکی جهرم
** بخش فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران
*** بخش فیزیولوژی، ساختمان علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز

چکیده

مقدمه: در حال حاضر با وجود اینکه از داروهای اوپیوئیدی و ضدالتهابی غیراستروئیدی به منظور تسکین درد استفاده می‌شود، ولی بعلت عوارض جانبی این داروهای سینتیک از یک سو و مسائل اقتصادی از سوی دیگر لزوم و اهمیت تحقیقات در زمینه یافتن داروهای ضددرد با عوارض جانبی کمتر و قابلیت جانشینی این داروهای صناعی مطرح می‌باشد. در طب سنتی ایران از ریشه گیاه شیرین بیان بصورت موضعی برای کاهش التهاب و درد استفاده می‌شود . به همین دلایل در این مطالعه تصمیم گرفته شد که اثرات ضددردی عصاره ریشه شیرین بیان بررسی گردد و با اثر ضددردی سالیسیلات سدیم مقایسه شود.

مواد و روش‌ها: برای ارزیابی درد از دو نوع آزمایش، تست tail flick (برای ارزیابی درد حاد) و فرمالین تست (برای ارزیابی درد مزمن)، استفاده گردید. اثرات ضددردی غلظت‌های ۱۰۰ ، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم/ کیلوگرم وزن بدن، عصاره هیدرو الکلی ریشه شیرین بیان با اثر ضددردی غلظت ۳۰۰ میلی گرم / کیلوگرم وزن بدن سالیسیلات سدیم بعنوان کنترل مثبت مقایسه شد.

یافته‌ها: عصاره شیرین بیان و همینطور سالیسیلات سدیم درد را در مرحله دوم تست فرمالین کاهش دادند ولی در تست Tail flick اثر ضددردی معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان ندادند. مقایسه اثر ضددردی عصاره با اثر ضددردی سالیسیلات سدیم بیانگر عدم اختلاف معنی دار بین این دو ماده است.

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: اثر ضددردی ریشه شیرین بیان مشابه اثر ضددردی داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی از جمله سالیسیلات سدیم است.

مقدمه

درد از علائم شایع اغلب بیماریها به شمار می‌رود که باعث آزار بیمار می‌گردد. از آنجا که درد قبل از هر علامتی باعث رجوع بیمار به پزشک می‌شود بدین جهت بهبود آن از اهمیت به سزایی برخوردار است. امروزه برای تسکین درد از داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی (NSAIDs) و داروهای ضددرد اوپیوئیدی استفاده می‌شود که هر کدام دارای عوارض جانبی خاص خود می‌باشند(۱،۲،۳). مواد طبیعی به طور کلی و گیاهان به طور اخص منابع دستیابی به ترکیبات شیمیایی جدید در زمینه‌های درمانی به شمار می‌روند. با توجه به بازنگری

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

عمیق و مجدد به گیاه درمانی در اکثر کشورهای پیشرفته دنیا(٤،٥) و وجود منابع غنی از گیاهان دارویی در ایران، لزوم تحقیق بر روی گیاهانی که در طب سنتی یا محلی به عنوان داروهای کاهش دهنده درد از آنها استفاده می‌شود، احساس می‌گردد.

گیاه شیرین بیان یکی از گیاهان دارویی است که به مقدار فراوان و وسیعی در جهان از آن استفاده می‌شود. این گیاه بومی نواحی جنوب اروپا-آسیا و مدیترانه است. ریشه این گیاه حاوی گلیسیریزین **(glycyrrhizin)** - فلونوئیدها- آسپارژین- کولین- آمینواسیدها- گلوکز-سوکروز- نشاسته - پلی ساکاریدها -استرولها و روغن‌های فرار است (٤) و اثر استروژنیک و مینرالوکورتیکوئیدی (٦،٧) از خود نشان میدهد. ترکیب اصلی پیدا شده در ریشه این گیاه یعنی گلیسیریزین(**glycyrrhizin**) اثر ضدآلرژی و ضدسرطانی دارد (٤،٨). از ریشه این گیاه بعنوان داروی ضدسرفه استفاده می‌شود. اثر اسپکتورانت دارد و ترشح غدد مجاری هوایی را افزایش می‌دهد (٤).

در طب سنتی ایران و بخصوص در استان فارس از ریشه این گیاه به عنوان داروی ضدالتهاب استفاده می‌شود. علاوه براین اثر ضدالتهابی آن در تحقیقات گذشته و تحقیق قبلی ما نیز به اثبات رسیده است(٩،١٠،١١). از آنجا که التهاب معمولاً با درد همراه است لذا در مطالعه حاضر بر آن شدیم تا اثر ضددردی آن را نیز در دو مدل درد حاد و مزمن بررسی نموده و با اثر ضددردی سالیسیلات سدیم بعنوان داروی ضدالتهاب غیراستروئیدی مقایسه نمائیم.

مواد و روش‌ها

حیوانات و شرایط آزمایش

این تحقیق بر روی ۸۷ سر موش صحرایی نر نژاد **Sprague Dawely** به وزن ٢٦٠-٢٠٠گرم انجام شد که از خانه حیوانات دانشکده پزشکی شیراز تهیه شده بودند و در حیوانخانه دانشکده پزشکی جهرم در قفس‌های ٤ تایی و در شرایط ١٢ ساعت تاریکی و ١٢ ساعت روشنایی و دمای ٢٢- ١٩ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند. آب و غذا آزادانه در اختیار آنها بود. حداقل تعداد موش‌ها در هر گروه ٨ سر بود.

داروها

سالیسیلات سدیم(سیگما) با دوز ٣٠٠ میلی گرم /کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی، عصاره هیدرو الکلی گیاه با دوزهای ١٠٠ - ٢٠٠- ٣٠٠ میلی گرم / کیلوگرم وزن بدن بصورت داخل صفاقی و فرمالین ٢/٥ در صد و حجم ٥٠ میکرولیتر به صورت زیر جلدی استفاده شد. سالسیلات سدیم و عصاره ریشه شیرین بیان در سرم فیزیولوژی حل شدند. در هر آزمایش به گروه کنترل حجم مشابهی از سرم فیزیولوژیک به صورت داخل صفاقی تزریق می‌گردید. حجم سرم فیزیولوژیک تزریق شده ٢ میلی لیتر / کیلوگرم وزن بدن بود.

روش تهیه عصاره

ریشه گیاه شیرین بیان با نام علمی **Glycyrrhiza glabra** روئیده شده در منطقه ماهان کرمان توسط گیاه شناس شناسایی و نام گذاری علمی شد. نمونه گیاهی به آزمایشگاه منتقل و پس از تمیز و خشک کردن آسیاب شده و پودر آن از الک ٤٠ و ٨٠ رد شد. مقدار ١٠٠ گرم از پودر آماده شده با ٢٠٠ میلی لیتر متانول ٨٠ در صد با روش پرکولاسیون به مدت ٧٢ ساعت عصاره‌گیری شد و در مرحله بعد به کمک دستگاه تقطیر در خلاء و در درجه حرارت ٣٥ - ٤٠ درجه سانتی‌گراد تا حد خشک شدن تغلیظ گردید.

آزمونهای درد:

آزمون فرمالین

برای این آزمون از روش **Dubuisson and Dennis** (١٩٧٦) استفاده گردید(١٢). حیوان در یک محفظه از جنس پلکسی گلاس (**٣٠cm** × ٢٥) قرار گرفت که در قسمت زیر این محفظه آینه‌ای با زاویه ٤٥ درجه قرار داشت تا وضعیت کف پای حیوان کاملاً مشخص باشد. حیوان ٣٠ دقیقه در این شرایط نگهداری می‌شد تا به شرایط آزمایش عادت کند. داروهای مورد آزمایش ٢٠ دقیقه قبل از تزریق فرمالین به صورت داخل صفاقی تزریق می‌شدند. سپس ٥٠ میکرولیتر

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

فرمالین ۲/۵ در صد بصورت زیر جلدی به کف پای راست حیوان تزریق می‌شد. پس از تزریق فرمالین حیوان بلافاصله به ظرف مشاهده بر گردانده می‌شد و به مدت ٦٠ دقیقه رفتار درد حیوان مشاهده و ثبت می‌شد. شدت درد بر اساس تقسیم بندی زیر به ٤ درجه تفکیک گردید:

صفر) حیوان بدون توجه به پای تزریق شده می‌نشیند یا راه می‌رود.

۱) پای حیوان با محفظه تماس داشته ولی حیوان وزن بدن خود را بیشتر روی پای سالم خود می‌اندازد.

۲) حیوان پنجه دردناک را کاملا از سطح محفظه بر می‌دارد.

۳) حیوان پنجه تزریق شده را از شدت درد می‌لیسد، گاز می‌گیرد یا بشدت تکان می‌دهد.

ثبت پاسخهای رفتاری بلافاصله پس از تزریق فرمالین آغاز و در هر ۱۵ ثانیه تا یکساعت ادامه یافت و بعنوان شاخصی از میزان درد در آزمون فرمالین در نظر گرفته می‌شد. با استفاده از این روش اعداد صفر تا ۳ برای امتیاز درد در زمانهای مختلف بدست می‌آید. میانگین درد در ۵ دقیقه اول بعد از تزریق فرمالین بعنوان مرحله ابتدایی (First phase) یا درد حاد و در دقایق ٦٠-٢٠ پس از تزریق فرمالین بعنوان مرحله تاخیری (late phase) یا درد مزمن در نظر گرفته شد (۱۲).

در این آزمون ۵ گروه موش صحرایی نر با وزن ٢٦٠-٢٠٠ گرم مورد استفاده قرار گرفت. گروه کنترل (n =١٠)، سرم فیزیولوژی با حجم ۲ml / Kg وزن بدن ، گروه کنترل مثبت (n = ٨)، سالیسیلات سدیم با غلظت ۳۰۰mg / Kg وزن بدن، گروههای آزمایشی، عصاره با غلظت ۱۰۰mg / Kg وزن بدن (n = ٩) ، عصاره با غلظت ۲۰۰ mg / Kg وزن بدن (n = ٩) و عصاره با غلظت ۳۰۰ mg / Kg وزن بدن(n = ٨) بصورت داخل صفاقی دریافت می‌کردند.

آزمون Tail flick

درد حاد با استفاده از دستگاه tail flick (ساخت شرکت بهبود پرداز- ایران) و بر اساس روش D-Amour and Smith (۱۳) مطالعه شد. از نور با شدت ۷ آمپر که به ۱/۳ میانی دم حیوان تابانده می‌شد بعنوان محرک دردزا استفاده شد. فاصله زمانی از شروع تابش نور تا لحظه منحرف شدن دم موش از مسیر تابش، بر حسب ثانیه به عنوان زمان تاخیر(latency) توسط دستگاه ثبت گردید و اثر ضددردی ۳۰ دقیقه پس از تزریق ثبت شد. زمان ۱۰ ثانیه به عنوان time cut off در نظر گرفته شد. منظور از زمان cut off حداکثر زمان تابش نور به دم حیوان است و چنانچه تا این مدت حیوان دم خود را از زیر نور کنار نکشد به منظور جلوگیری از آسیب بافتی نور قطع شده و بی‌دردی کامل در نظر گرفته می‌شد.

در این آزمون نیز ۵ گروه موش صحرایی نر با وزن ٢٦٠-٢٠٠ گرم مورد استفاده قرار گرفت.

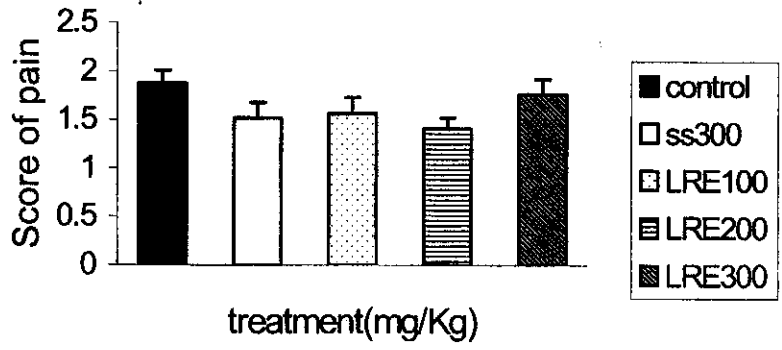
گروه کنترل (n =٩)، سرم فیزیولوژی با حجم ۲ml / Kg وزن بدن ، گروه کنترل مثبت (n = ٩)، سالیسیلات سدیم با غلظت ۳۰۰mg / Kg وزن بدن، گروههای آزمایش، عصاره با غلظت ۱۰۰mg / Kg وزن بدن (n = ٨) ، عصاره با غلظت ۲۰۰ mg / Kg وزن بدن (n = ٨) و عصاره با غلظت ۳۰۰ mg / Kg وزن بدن(n = ٩) بصورت داخل صفاقی دریافت می‌کردند.

روشهای آماری

نتایج بدست آمده از آزمون فرمالین با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه و سپس آزمون Tukey بررسی شدند. نتایج بدست آمده از آزمون tail flick با استفاده از Paired t-test بررسی گردید. $P< ۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. نتایج بصورت Mean ± SEM نشان داده شده است.

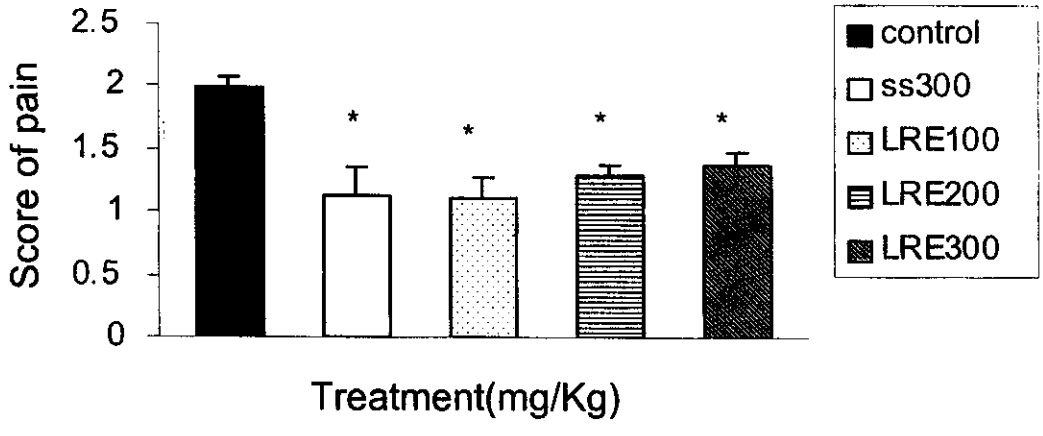
یافته ها

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تزریق داخل صفاقی عصاره ریشه شیرین بیان با دوزهای مختلف(۱۰۰ ، ۲۰۰ ، ۳۰۰ میلی گرم /کیلوگرم وزن بدن) اثر معنی داری بر روی درد ناشی از تزریق فرمالین در فاز اول (شکل ۱) نداشته است ولی درد را در فاز دوم نسبت به گروه کنترل سرم فیزیولوژی کاهش معنی داری داده است(شکل ۲).

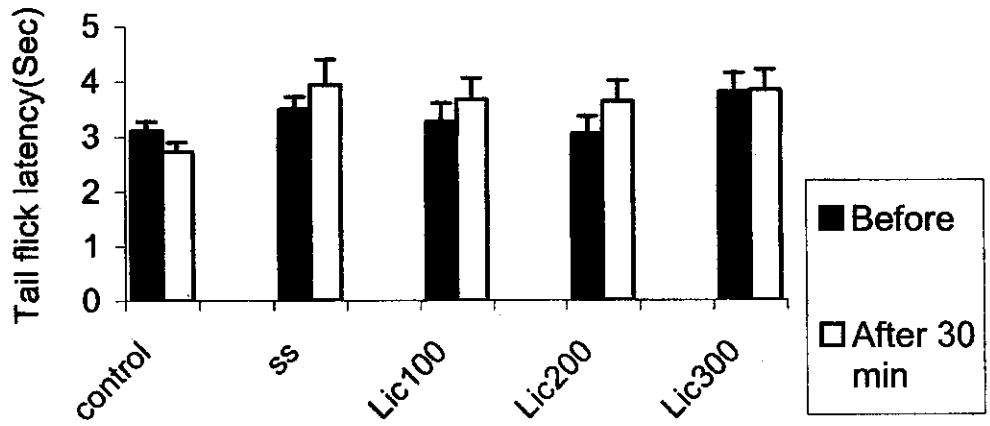


شکل ۱- اثرات تجویز داخل صفاقی عصاره ریشه شیرین بیان(**LRE**) و سالیسیلات سدیم (**ss**) در مرحله اول آزمون فرمالین در مقایسه با گروه کنترل

تزریق داخل صفاقی عصاره ریشه شیرین بیان در دوزهای مختلف اثر معنی داری بر زمان تاخیر در آزمون **Tail flick** نداشت(شکل ۳). در هر دو آزمایش از سالیسیلات سدیم با دوز ۳۰۰ میلی گرم /کیلوگرم وزن بدن بعنوان کنترل مثبت استفاده شد. سالیسیلات سدیم بعنوان یک ماده ضدالتهاب غیراستروئیدی فقط در فاز دوم آزمون فرمالین موجب کاهش معنی دار درد گردید(شکل ۲). مقایسه اثر ضددردی سالیسیلات سدیم و غلظت‌های مختلف عصاره ریشه بیان در فاز دوم فرمالین تست بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار بین این دو ماده است (شکل ۲).



شکل ۲- اثرات تجویز داخل صفاقی عصاره ریشه شیرین بیان(**LRE**) و سالیسیلات سدیم (**ss**) در مرحله دوم آزمون فرمالین در مقایسه با گروه کنترل (**P<0.05**)



شکل ٣- اثرات تجویز داخل صفاقی عصاره ریشه شیرین بیان(LRE) و سالیسیلات سدیم(ss) بر زمان تاخیر در آزمون Tail flick در موش سفید صحرایی قبل و ٣٠ دقیقه بعد از تزریق عصاره

بحث

به منظور تسکین درد از داروهای شیمیایی مختلف استفاده می‌شود ولی بعلت عوارض جانبی و نامطلوب آنها، یافتن ترکیبات ضددرد جدید بخصوص داروها با منشا گیاهی مورد توجه قرار گرفته است. این داروها علاوه بر داشتن اثرات ضددردی مناسب و عوارض ناخواسته کمتر از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه اند. یکی از این گیاهان گیاه شیرین‌بیان است که در این تحقیق اثر ضددردی عصاره هیدروالکلی ریشه آن را در دو مدل درد حاد و مزمن و به کمک دو تست فرمالین و tail flick مورد بررسی قرار دادیم.

در تست فرمالین تزریق زیر جلدی فرمالین موجب جواب دو مرحله‌ای در رات‌ها می‌شود. مرحله اول (early phase) فورا بعد از تزریق فرمالین شروع می‌شود و ٣- ٥ دقیقه ادامه می‌یابد. در این مرحله فرمالین مستقیما موجب تحریک فیبرهای نوع C می‌شود(١٢). مرحله دوم یا مرحله تاخیری (Late phase) تقریبا ١٥- ٢٠ بعد از تزریق فرمالین شروع می‌شود و برای ٢٠-٤٠ دقیقه ادامه می‌یابد. داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAIDs) مانند آسپرین یا اندومتاسین رفتار درد را در ضمن مرحله دوم کاهش می‌دهند ولی روی مرحله اول اثری ندارند. بنابراین بنظر می‌رسد فرآیند التهابی و موادی چون هیستامین- سروتونین- پروستاگلاندین‌ها و برادی‌کنین در فاز تاخیری نقش داشته باشند (١٤). علاوه براین بنظر میرسدکه مرحله تاخیری ناشی از تغییراتی در سیستم عصبی مرکزی(شاخ خلفی نخاع) است که این نیز تحت تاثیر فعالیت عصبی تولید شده در ضمن مرحله اول این تست می‌باشد (١٥).

در تحقیق کنونی عصاره ریشه شیرین بیان مشابه داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی موجب کاهش درد در مرحله دوم تست فرمالین گردید. تحقیقات Capasso (١٩٨٣) نشان داد که گلیسیریتینیک اسید(Glycyrrhetinic acid) یا همان گلیسیریزین یکی از ترکیبات موجود در ریشه شیرین بیان اثر ضدالتهابی خود را با مهار مهاجرت گویچه‌های سفید خون به

سمت ناحیه ملتهب انجام می‌دهد(۱۶). در تحقیق دیگری که توسط Akamatsu (۱۹۹۱) انجام شد نشان داده شد که گلیسیریزین موجب مهار تولید واسطه‌های التهابی مثل O2- H2O2 بوسیله نوتروفیل‌ها می‌شود و بدین ترتیب اثر ضدالتهابی خود را اعمال می‌کند (۱۱).یکی از مشتقات گلیسیریتینیک اسید بنام دی سدیم کلیسیرینتیک اسید همی فتالیت موجب کاهش معنی دار درد در تست Writing در موش شد. در این تست از ماده شیمیایی اسید استیک بعنوان محرک دردناک استفاده شده است (۱۷).در ضمن همین مطالعه نشان داد که اثر ضدالتهابی این ماده ۱۳/۵ برابر استیل سالسیلیک اسید است. با توجه به اینکه استفاده خوراکی ازشیرین بیان موجب مهار آنزیم ۱۱- بتا دهیدروژناز و بدنبال آن افزایش سطح کورتیزول خون می‌شود، این امکان وجود دارد که این ماده از طریق کاهش التهاب موجب کاهش جواب درد مرحله دوم تست فرمالین می‌شود (۱۸).

نتایج بدست آمده از تست **Tail flick** نیز تاییدی است بر نتایج بدست آمده از تست فرمالین. یعنی بیانگر اثر ضددردی این عصاره فقط بر درد مزمن می‌باشد. با توجه به اینکه داروهایی که به صورت مرکزی عمل می‌کنند بر هر دو مرحله مربوط به تست فرمالین اثر مهاری دارند در صورتیکه داروهایی که بطور محیطی عمل می‌کنند فقط مرحله دوم را مهار می‌کنند(۱۲) و از طرف دیگر آزمون tail flick به داروهایی حساس است که روی سیستم عصبی مرکزی عمل می‌کنند(۱۹). بنابراین بنظر می‌رسد در تحقیق کنونی عصاره ریشه شیرین بیان فقط بصورت محیطی عمل کرده و با کاهش التهاب موجب کاهش جواب درد شده است.

منابع

1. Foss JF., A review of the potential role of methylnaltrexone in opioid bowel dysfunction. Am. J. surg. 2001; 182: 195-265.

2. Hochain P., Capet C., Colin R. Digestive complications of aspirin . Rev Med Interne. 2000; 21(1) 50s-59s.

3. Pilotto A., Franceschi M., Leandro G., Paris F., NiroV., Longo MG., D'Ambrosio LP., Andriulli A., Di Mario F.The risk of upper gastero–intestinal bleeding in elderly users of aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs: The role of gastero–protective drugs. Aging Clin. Exp. Res. 2003; 15: 494-9.

4. Dlumenthal M., Goldberg A.,Brinekmann J., Herbal medicine. Integrative medicine communication. USA 2000; P:233-240

5. Elisabetsky E. and Castilhos ZC. Plants used as analgesics by Amazonian caboclos as a basis for selecting plants for investigation. Int. J. Crude Drug Res. 1990; 28(4):309-320.

6. Tamir S., Eizenberg M., Somjen D., Stern N., Shelach R., Kaye A. J., Esterogenic and antiproliferative properties of glabridin licorice in humman breast cancer cells.
Cancer Res. 2000; 15: 60(20): 5704-9

7. Bernardi M., D'Intino PE., Trevisani F., Cantelli –Forti G., Raggi MA., Turcl Gasabarrini G., Effects of prolonged ingestion of graded doses of licorice by healthy volunters . Life Sci. 1994; 55: 883-72.

8. Hsiang CY., Lai IL., Chao DC., Ho TY., Differential regulation of activator protein 1 activity by glycyrrhizin. Life Sci. 2002; 22: 70(14) :1643-56

٩. اسماعیلی ماهانی س.، زارعیان پ.، اسمی جهرمی ر.، خاکساری حداد م.، بررسی اثر ضدالتهابی عصاره هیدرو الکلی ریشه شیرین بیان بر التهاب حاد ایجاد شده توسط کاراگینان در موش صحرایی. ژورنال فیزیولوژی -فارماکولوژی ، جلد ٧-شماره ١، بهار و تابستان ٨٢ ، ٤١-٤٦

10. Hideo I., Takeo M., Shoji S., and Yasuko K. Modulation by glycyrrheting acid derivatives of TPA-induced mouse ear oedema. Br. J. Pharmacol.1989; 96: 204-210.

11. Akamatsu H., Komura J., Asada Y., Niwa Y., Mechanism of anti-inflammatory action of glycyrrhizin: Effect on neutrophil function including reactive oxygen species generation. Planta Med., 1991; 57: 119-21

12. Dubuisson D. and Dennis S.G., The formalin test: A quantitive study of the analgesic effects of morphin, meperidine and brain stem stimulation in rats and cats. Pain 1977; 4: 161-174

13. D'Amour F.E. and Smith D.L., A method for determining loss of pain sensation. J. Pharmacol. Exp.Therp. 1941; 72: 74-79.

14. Manabu S., Tsuyako O., Hiroshi T. and Reizo I., Modified formalin test: Characteristic biphasic pain response. Pain 1989; 38: 347-352.

15. Rosland J.H., Tjolsen A., Mahle B. and Hole K., The formalin test in mice- effect of formalin concentration. Pain 1990b; 42: 235- 242

16. Cappaso F., Mascolo N., Autore G., Duraccio M.R., Glycyrrhetinic acid, leucocytes and prostaglandins. J. Pharm. Pharmacol. 1983; 35: 332-335.

17. Khaksa G., Zolfaghari M.E., Dehpour A.R. and Samadian T., Anti-inflammatory and anti-nociceptive activity of Disodium glycyrrhetinic acid hemiphthalate. Planta Medica., 1996; 62: 326-328.

18. Stewart PM., Wallace AM., Atherden Sm., Shearing CH., Edward CR., Mineralocorticoid activity of carbenoxolone: Contrasting effects of carbenoxolone and liquorice on 11- beta – hydroxysteroid dehydrigenase activity in man. Clin. Sci. (Lond) 1990; 78: 49-54.

19. Carlisson K.H. and Jurna I., Depression by flupirtine, A novel analgesic agent of motor and sensory response of nociceptive system in the rat spinal cord . Eur. J. Pharmacol. 1987; 143: 87-99.