

بررسی نقش گیرنده‌های NMDA بر اثرات کورتیکوسترون بر پاسخ‌های رفتاری درد در مدل نوروپاتی CCI در موش سفید آزمایشگاهی

سارا فریادیان (M.Sc)، حسین علی صفاخواه (M.Sc)، علی رشیدی‌پور* (Ph.D)
دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات و گروه فیزیولوژی

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات گذشته نشان داده است که گلوکوکورتیکوئیدها نقش مهمی در رفتارهای درد نوروپاتی بازی می‌کنند ولی مکانیسم‌های درگیر مشخص نیستند. با توجه به دخالت گیرنده‌های NMDA در درد نوروپاتی و تعامل گلوکوکورتیکوئیدها با این عامل، هدف این مطالعه بررسی نقش گیرنده‌های NMDA در اثرات کورتیکوسترون بر رفتارهای درد نوروپاتی در مدل آسیب مزمن ناشی از فشردگی عصب (Chronic Constriction injury, CCI) است.

مواد و روش‌ها: موش سفید بزرگ آزمایشگاهی نر از نژاد ویستار (۲۰۰-۳۰۰ گرم) مورد استفاده قرار گرفتند. CCI با ایجاد چهار گره شل به فواصل ۱ میلی‌متر قبل از سه شاخه شدن عصب زده سیاتیک ایجاد شد. دو هفته بعد از ایجاد CCI اثرات کورتیکوسترون بر پاسخ‌های رفتاری در حضور یا عدم حضور ۰/۳ میلی‌گرم MK-801 (یک آنتاگونیست گیرنده NMDA) بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهند که کورتیکوسترون به صورت وابسته به دوز پاسخ‌های رفتاری درد نوروپاتی (آلودینیای مکانیکی، حرارتی و هیپرآلژیای حرارتی) را مهار می‌کند. MK-801 اثر کورتیکوسترون را بر هیپرآلژیای حرارتی تضعیف می‌کند. MK-801 فقط آلودینیای حرارتی را مهار می‌کند و بر آلودینیای مکانیکی و هیپرآلژیای حرارتی اثری ندارد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که گلوکوکورتیکوئیدها نقش مهمی در مهار رفتارهای درد نوروپاتی بازی می‌کنند. به نظر می‌رسد بخشی از این اثرات از طریق گیرنده‌های NMDA انجام می‌شود که حاکی از دخالت مکانیسم‌های غیر ژنی است. نتایج این مطالعه یک نقش بالقوه آنتاگونیست‌های گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئید همراه با آنتاگونیست‌های گیرنده‌های NMDA در درمان علائم درد نوروپاتی در کیلینیک را پیشنهاد می‌کند.

واژه‌های کلیدی: کورتیکوسترون، درد نوروپاتی، گیرنده‌های NMDA، آلودینیای مکانیکی، هیپرآلژیای حرارتی، آلودینیای حرارتی

مقدمه

طبیعی دردناک است) و آلودینیا (پاسخ به محرکی که در حالت طبیعی ایجاد درد نمی‌کند) می‌باشد [۲]. با توجه به این‌که درد نوروپاتی به دلیل آسیب به اعصاب محیطی و یا مرکزی به وجود می‌آید، در این حالت علاوه بر اختلال عملکرد اعصاب حسی و حرکتی و آسیب به میدان دریافتی

درد نوروپاتی نوعی درد مزمن است که به دنبال آسیب به اعصاب مرکزی یا محیطی به وجود می‌آید [۱]. علائم درد نوروپاتی به صورت دردهای سوزشی خودبخودی در محل آسیب، هایپرآلژیا (افزایش پاسخ به محرکی که در حالت

تزریق داخل بطنی مغزی آن بر پاسخ‌های رفتاری درد اثری ندارد. این نتایج پیشنهاد می‌کند که اثرات ضد دردی تزریق سیستمیک RU486 عمدتاً از طریق عمل بر طناب نخاعی وساطت می‌شود. [۱۰]. این مطالعات نشان می‌دهد که گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی نقش مهمی در درد نوروپاتی بازی می‌کنند و کنترل فعالیت گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی ممکن است بیش‌ترین اهمیت در درمان درد نوروپاتی داشته باشند ولی مکانیسم‌های درگیر روشن نیست.

گیرنده‌های NMDA نقش مهمی در درد نوروپاتیک بازی می‌کنند. مهار گیرنده‌های NMDA با MK-801 در مدل‌های تجربی که به روش SNI به اعصاب نخاعی آسیب ایجاد کردند سبب کاهش پاسخ‌های رفتاری مکانیکی و حرارتی و دیس شارژهای ایجاد شده در عصب صدمه دیده، و نیز کاهش Windup شده است. تزریق MK-801 به همراه مرفین اثرات کاهش قابل توجهی بر آلودینیای حرارتی و به میزان کم‌تری بر هایپرالژی‌ها دارد. این داده‌ها نشان دهنده درگیری گیرنده‌های NMDA در ایجاد رفتارهای درد نوروپاتی می‌باشد [۱۱، ۱۲، ۱۳].

با توجه به این که گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی مرکزی بیان و عملکرد گیرنده‌های NMDA نخاعی را بعد از صدمه عصب محیطی تعدیل می‌کنند [۱۴، ۱۵] هدف این مطالعه بررسی نقش گیرنده‌های NMDA در اثرات کورتیکوسترون بر درد نوروپاتی در مدل CCI در موش سفید یزرگ آزمایشگاهی است.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در این مطالعه تجربی از موش‌های صحرانی (Rat) نر بالغ از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده گردید. موش‌ها از مرکز تکثیر و نگهداری دانشگاه علوم پزشکی سمنان تهیه و در یک اتاق کنترل شده از نظر حرارت و رطوبت در یک سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفته و با درجه حرارت ثابت 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند.

اعصاب، افزایش حس درد نیز وجود دارد چون در حالت نوروپاتی غالباً فعالیت هر دو اعصاب حسی درد و غیر درد (سرما، گرما، لمس) افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد علت تداوم و تولید دردهای نوروپاتی تولید ایمپالس‌های غیرطبیعی و تخلیه نامناسب از فیبرهای آوران آسیب دیده باشد [۳، ۴، ۵، ۶].

مطالعات قبلی نشان می‌دهد که گلوکوکورتیکوئیدها نقش مهمی در دردهای نوروپاتیک دارند. نشان داده شده است که تزریق اپی‌دورال بتامتازون در زمان صدمه عصب، سبب کاهش هایپرالژی‌ها از طریق تحریک بیان سیتوکین ضد التهابی IL-10 و کاهش میزان سیتوکین‌های Pro-inflammatory می‌شود [۷]. همچنین نشان داده شده است که مصرف مزمن پردنیزولون در افراد مبتلا به دردهای نوروپاتی التهاب نوروپاتی را به شدت کاهش می‌دهد و هایپرالژی‌های حرارتی و مکانیکی نیز مهار می‌شوند. مصرف پردنیزولون، بیان ژن FOS نخاعی در شاخ خلفی صدمه دیده را بطور جزئی کاهش می‌دهد [۸].

مطالعات اخیر نشان می‌دهد که گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی محیطی با اثرات ضد التهابی نقش مهمی در مهار رفتارهای هایپرالژی‌های حرارتی و آلودینیای مکانیکی بازی می‌کنند. در یک مطالعه اخیر نشان داده شد که انجام آدرنالکتومی در حیوانات CCI شده، سبب مهار پاسخ‌های رفتاری درد می‌شود. در این مطالعه نشان داده شده که CCI سبب تحریک بیان GRS در شاخ خلفی اپی‌لترال عصب صدمه دیده می‌باشد. به نظر می‌رسد که بیان گیرنده GR در سیستم عصبی بعد از CCI از طریق اینترلوکین ۶ و پروتئین کیناز C وساطت می‌شود، زیرا تزریق داخل نخاعی آنتی‌سرم اینترلوکین ۶ و مهارکننده‌های پروتئین کیناز C به میزان قابل توجهی بیان GR و همچنین رفتارهای درد نوروپاتی را کاهش می‌دهد [۹].

در یک مطالعه نشان داده شد که تزریق RU486 (آنتاگونیست گیرنده گلوکوکورتیکوئیدی) به صورت داخل صفاقی و داخل نخاعی اثرات ضد دردی ایجاد می‌کند ولی

داروها: داروهای مورد استفاده عبارتند از: کورتیکوسترون، این دارو در پروپیل گلیکول حل شد و به میزان ۱۰،۵، ۱۵ میلی‌گرم به ازای یک گیلوگرم، ۳۰ دقیقه قبل از شروع تست‌های رفتاری به گروه‌های مورد نظر تزریق شد. MK-801 (آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA): این دارو در سالیان حل شد و به میزان ۳/۰ میلی‌گرم به ازای یک کیلوگرم، ۴۵ دقیقه قبل از تست‌های رفتاری به گروه‌های مورد نظر تزریق شد. دوز تمام داروها بر اساس مطالعات قبلی انتخاب شده‌اند [۱۷ و ۱۸]. تمام داروهای فوق در روز چهاردهم بعد از عمل جراحی به روش داخل صفاقی (IP) به حیوانات تزریق گردید.

روش ایجاد CCI: جهت ایجاد CCI از روش Bennett & Xie استفاده گردید [۱۶]. بعد از بی‌هوش نمودن (به وسیله مخلوط کتامین و رومیپان (نسبت ۸ به ۱) با دوز ۵۰ mg/kg به صورت تزریق IP) حیوان، موهای بالا و پشت ران حیوان را کاملاً تراشیده و با استفاده از تیغ بیستوری شکافی به طول ۲ سانتی‌متر بر روی ران پای چپ ایجاد کرده پس از بریدن عضلات ناحیه و رویت قسمت مشترک سه شاخه عصب سیاتیک با استفاده از ۲ میلیه کوچک شیشه‌ای بافت‌های اطراف عصب را جدا کرده و به وسیله نخ بخیه کات کوت ۴/۰ چهار گره شل به فواصل یک میلی‌متر قبل از سه شاخه شدن عصب زده می‌شد گره‌ها به شکلی ایجاد می‌گردید که اختلالی در جریان خون عصب به وجود نیاید. سپس با استفاده از نخ بخیه ۴/۰ سیلیک عضله و پوست به صورت جداگانه دوخته می‌شدند در گروه Sham بعد از رویت عصب سیاتیک، بدون هیچ گونه دستکاری عضله و پوست دوخته می‌شدند.

گروه‌های آزمایش: در آزمایش ۱ اثرات دوزهای مختلف کورتیکوسترون (۵، ۱۰، ۱۵ میلی‌گرم به ازای یک گیلوگرم) بر علائم درد نوروپاتی بررسی شد. در آزمایش ۲ اثرات موثرترین دوز کورتیکوسترون در حضور و عدم حضور آنتاگونیست گیرنده NMDA بررسی شد.

تست‌های رفتاری: رفتارهای زیر در روز چهاردهم بعد از عمل جراحی مورد سنجش قرار می‌گرفت:

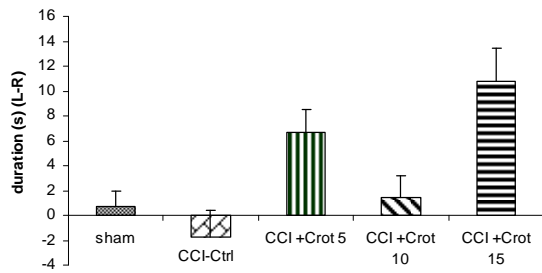
الف- آلودینیای مکانیکی. حیوانات را بر روی یک شبکه سیمی و در داخل یک محفظه پلاکسی گلاس به ابعاد ۲۰×۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر قرار داده و بعد از عادت کردن حیوان به محیط جدید از تارهای مختلف - Von Frey جهت سنجش آلودینیای مکانیکی استفاده شد. در این آزمایش از تارهای ۲ تا ۶۰ گرم (۶۰-۲۶-۱۵-۸-۶-۴-۲ گرم) ساخت شرکت Stolting استفاده گردید. از کم‌ترین شماره تار شروع کرده و به ترتیب در صورت عدم پاسخ شماره‌های بالاتر انتخاب می‌گردید. هر تار را سه بار متوالی به فاصله ۵ ثانیه و هر بار به مدت ۱ ثانیه به کف پای چپ حیوان فشار داده اگر ۲ بار متوالی پاسخ داده می‌شد (پای خود را بلند کند) به عنوان آستانه پاسخ بوده و دیگر آزمایش ادامه پیدا نمی‌کرد. در صورتی که حیوان به تار شماره ۶۰ نیز پاسخ نمی‌داد عدد ۶۰ به عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته می‌شد.

ب- هایپرآلژزیای حرارتی: در این تست حیوان را در محفظه مخصوص دستگاه Plantar Test قرارداده و بعد از عادت کردن حیوان به محیط جدید منبع تابش اشعه مادون قرمز را در زیر پای حیوان قرار داده و تاباندن اشعه مادون قرمز با شدت ۶۰ را شروع می‌کردیم. این آزمایش بر روی هر دو پای حیوان و سه بار متوالی به فاصله ۵ دقیقه انجام می‌شد. زمان قطع آزمایش ۶۰ ثانیه در نظر گرفته می‌شد. با فرمول زیر پاسخ حیوان محاسبه گردید.

میانگین زمان تحمل حیوان در پای چپ - میانگین زمان تحمل حیوان در پای راست = پاسخ

بررسی آماری: نتایج حاصل از تست‌های رفتاری توسط نرم‌افزار SPSS و با استفاده از آزمون ANOVA، در سطح $P < 0/05$ آنالیز و داده‌ها به صورت $Mean \pm Sem$ گزارش شدند.

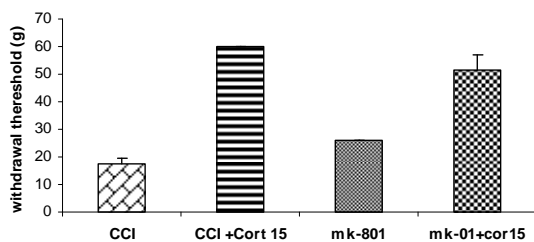
نتایج



شکل ۲. اثرات دوزهای مختلف کورتیکوسترون را بر هایپرالژیای حرارتی

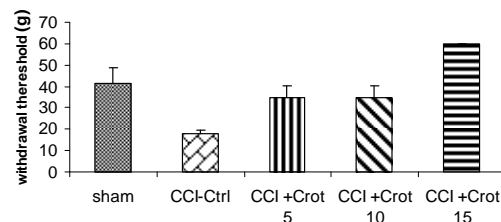
آزمایش ۲. هدف این آزمایش بررسی نقش گیرنده‌های NMDA بر اثرات کورتیکوسترون بر پاسخ‌های رفتاری ناشی از CCI بود.

آلودینیای مکانیکی: شکل ۳، اثرات MK-801 (آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA) را بر اثرات کورتیکوسترون بر آلودینیای مکانیکی (تست Von Frey) نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از وجود تفاوت بین گروه‌های مختلف است ($F_{(3,28)} = 47/4, P = 0/0001$). آنالیز بعدی با تست توکی نشان داد که پاسخ آلودینیای مکانیکی در گروه دریافت کننده کورتیکوسترون (CORT) با گروه CCI به تنهایی معنی دار است. تفاوت بین گروه CCI دریافت کننده MK-801+CORT با گروه CCI دریافت کننده CORT به تنهایی معنی دار نیست ($P < 0/01$). تفاوت بین گروه CCI دریافت کننده MK-801-CORT با گروه CCI به تنهایی معنی دار است ($P < 0/01$). همچنین تفاوت بین گروه CCI دریافت کننده MK-801 با گروه CCI به تنهایی معنی دار نیست.



شکل ۳. اثر MK-801 (آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA) را بر اثر کورتیکوسترون بر آلودینیای مکانیکی (تست Von Frey)

آزمایش ۱. هدف این آزمایش بررسی اثر دوزهای مختلف کورتیکوسترون بر ایجاد پاسخ‌های رفتاری ناشی از CCI بود. آلودینیای مکانیکی: شکل ۱، اثرات دوزهای مختلف کورتیکوسترون را بر آلودینیای مکانیکی (تست von Frey) نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از وجود تفاوت بین گروه‌های مختلف است ($F_{(5,41)} = 9/872, P = 0/0001$). آنالیز بعدی با تست توکی نشان داد که پاسخ فوق در گروه CCI به میزان معنی داری از گروه Sham بیش تر است ($P < 0/01$). کورتیکوسترون فقط در دوز ۱۵ میلی گرم قادر بود به میزان معنی داری آلودینیای مکانیکی را در موش‌های CCI کاهش دهد ($P < 0/01$). همچنین همین دوز کورتیکوسترون تاثیری بر آلودینیای مکانیکی در گروه Sham نداشت.



شکل ۱. اثر دوزهای مختلف کورتیکوسترون را بر آلودینیای مکانیکی (تست von Frey)

هایپرالژیای حرارتی: شکل ۲، اثرات دوزهای مختلف کورتیکوسترون را بر هایپرالژیای حرارتی نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از وجود تفاوت بین گروه‌های مختلف است ($F_{(3,28)} = 6/9, P = 0/1$). آنالیز بعدی نشان داد که در گروه CCI هایپرالژیای حرارتی به میزان معنی داری بیش تر از گروه sham بود ($P < 0/01$). اثرات کورتیکوسترون بر هایپرالژیای حرارتی به شکل U بود بدین معنی که در دوز بالا و پایین میزان معنی داری هایپرالژیای حرارتی را در موش‌های CCI و sham کاهش می‌دهد ($P < 0/01$). ولی در دوز متوسط فاقد اثر است. همچنین دوز ۱۵ میلی گرم کورتیکوسترون تاثیری بر هایپرالژیای حرارتی در گروه Sham نداشت.

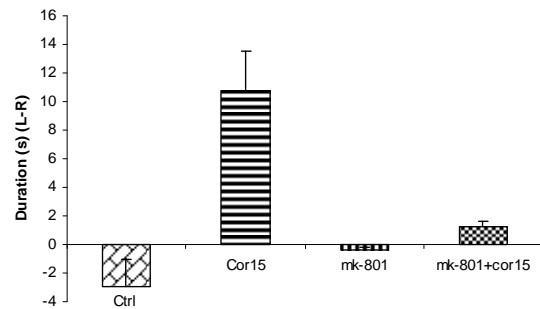
نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق داخل صفاقی کورتیکوسترون به صورت وابسته به دوز سبب مهار آلودینیای مکانیکی، آلودینیای حرارتی و هایپرالژیای حرارتی می‌شود، ولی مکانیسم‌های درگیر مشخص نیست. به نظر می‌رسد که گیرنده‌های گلوگلوکورتیکویدی محیطی نقش مهمی در اثرات ضدالتهابی گلوگلوکورتیکویدیها بازی می‌کنند. این گیرنده‌ها به صورت گسترده‌ای در سیستم عصبی مرکزی پخش شده‌اند. در طناب نخاعی، این گیرنده‌ها در نورون‌های شاخ پشتی نخاع قرار دارند. این ناحیه نقش مهمی در کنترل درد بازی می‌کند [۱۷]. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که گلوگلوکورتیکویدیها نقش مهمی در درد نوروپاتی بازی می‌کنند.

مطالعه انجام شده توسط Wang و همکارانش در سال ۲۰۰۴ نشان داد که تزریق داخل نخاعی آنتاگونیست گیرنده GR یا اولیگونوکلونید آنتی‌سنس گیرنده GR در موش‌های CCI از ایجاد علائم دردهای نوروپاتی (هایپرالژیای حرارتی و آلودینیای مکانیکی) ممانعت می‌کند. برداشتن غده فوق کلیوی نیز همین اثرات را دارد درحالی که تزریق دگزامتازون سبب بروز و توسعه این علائم می‌شود. علاوه بر این نشان داده شد که در موش‌های CCI به موازات ایجاد آلودینیای مکانیکی و هایپرالژیای حرارتی غلظت کورتیکوسترون خون زیاد شده و بیان گیرنده GR به صورت وابسته به زمان در طناب نخاعی پشتی همان طرف عصب صدمه دیده زیاد می‌شود. این تغییرات بخشی ناشی از افزایش آنترلوکین-۶ و پروتین کیناز - C بعد از ایجاد CCI است [۹].

مطالعه توسط Takasaki و همکارانش در سال ۲۰۰۵ نشان داد که تزریق داخل صفاقی آنتاگونیست‌های گیرنده‌های گلوگلوکورتیکویدی به صورت وابسته به دوز هایپرالژیای حرارتی و آلودینیای مکانیکی را در مدل نوروپاتی درد در Mouse کاهش می‌دهد [۱۰]

در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۹ توسط Kingeryws و همکارانش انجام شد نشان دادند که پردنیزولون، آگونیست

هایپرالژیای حرارتی؛ شکل ۴، اثرات MK-801 (آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA) را بر اثرات کورتیکوسترون بر هایپرالژیای حرارتی (پلاتنار تست) نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از وجود تفاوت بین گروه‌های مختلف است ($F_{(3, 28)} = 12/9, P = 0/001$). آنالیز بعدی با تست توکی نشان داد در پاسخ به هایپرالژیای حرارتی در گروه دریافت‌کننده CORT با گروه CCI به تنهایی معنی‌دار است. تفاوت بین گروه CCI دریافت‌کننده MK-801+CORT با گروه CCI دریافت‌کننده CORT به تنهایی معنی‌دار است ($P < 0/01$). تفاوت بین گروه CCI دریافت‌کننده MK-801 با گروه CCI به تنهایی معنی‌دار نیست.



شکل ۴. اثر MK-801 (آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA) را بر اثر کورتیکوسترون بر هایپرالژیای حرارتی

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های اصلی این تحقیق عبارتند از:

- ۱- تزریق محیطی کورتیکوسترون آلودینیای مکانیکی و هایپرالژیای حرارتی را مهار می‌کند.
 - ۲- تزریق محیطی وراپامیل اثر کورتیکوسترون بر آلودینیای مکانیکی و هایپرالژیای حرارتی را تضعیف می‌کند.
 - ۳- تزریق محیطی MK-801 بر آلودینیای مکانیکی و هایپرالژیای حرارتی اثری ندارد.
 - ۴- تزریق محیطی MK-801 اثر کورتیکوسترون را بر هایپرالژیای حرارتی مهار می‌کند.
- اثرات گلوگلوکورتیکویدیها بر پاسخ‌های ناشی از درد نوروپاتی

گیرنده NMDA) به صورت داخل صفاتی سبب کاهش هایپرآلژیا در مدل درد نوروپاتی (وابسته به اتانول) در رت می شود [۲۱]. همچنین Simit و همکارانش نشان دادند که تجویز MK-801 با دوز ۳ mg/kg به صورت داخل صفاقی قبل از عمل جراحی به روش CCI توانست آلودینیای مکانیکی را پس از CCI کاهش دهد [۱۲]. بررسی اثر پیش درمانی MK-801 در مدل درد نوروپاتی SNI نشان داده است که MK-801 به صورت پیش درمانی به تنهایی اثری بر آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژیای حرارتی نداشته، اما تجویز توأم MK-801 با مورفین آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژیای حرارتی را به میزان مختصری کاهش داده است. این مطالعه از اثرات MK-801 با مطالعه ما مطابقت دارد [۱۴].

مطالعه Christoph T با همکارانش نشان داد که آنتاگونیست‌های غیر رقابتی گیرنده‌های NMDA از قبیل کتامین و گلیسین اثرات آنتی آلودینیای بر درد نوروپاتیک دارند [۱۹ و ۲۰]. این مطالعات نقش گیرنده‌های NMDA در ایجاد درد نوروپاتی را نشان می‌دهند.

چگونه گیرنده‌های NMDA اثرات کورتیکوسترون را بر درد نوروپاتی وساطت می‌کنند؟ مطالعات گذشته نشان می‌دهد که گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی بیان و عملکرد گیرنده‌های NMDA را تعدیل می‌کنند. برای مثال، نشان داده شده است که فعال شدن گیرنده: GR-۱ پاسخ‌های ایجاد شده در نورون‌های حساسی به دوپامین را در ناحیه تگمنتال شکمی توسط NMDA را طولانی می‌کند [۲۲]. ۲- تضعیف طولانی مدت را در هیپوکمپ با واسطه گیرنده NMDA را تنظیم می‌کند [۲۳] و غلظت کلسیم را در نورون‌های هیپوکامپ افزایش می‌دهد [۱۵] و ۳- آسیب عصبی با واسطه گیرنده NMDA در هسته مگنوسلولار بازیلاسیس را افزایش می‌دهد [۲۴]. بنابراین، به نظر می‌رسد که تعامل گیرنده GR و گیرنده‌های NMDA نقش مهمی در اعمال اثرات گلوکوکورتیکوئیدها بر درد نوروپاتی داشته باشد. چگونگی تعامل و محل آن به مطالعات آتی نیاز است.

گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی، به عنوان یک درمان مؤثر برای بعضی از دردهای نوروپاتی می‌باشند [۱۸]. یافته‌های این مطالعه مبنی بر اثرات درمانی آگونیست‌های گلوکوکورتیکوئیدی بر دردهای نوروپاتی با نتایج مطالعه فوق مطابقت دارد. ما مشاهده کردیم که تزریق داخل صفاقی کورتیکوسترون به صورت وابسته به دوز سبب مهار آلودینیای مکانیکی، آلودینیای حرارتی و هایپرآلژیای حرارتی می‌شود ولی مکانیسم‌های درگیر مشخص نیست. با توجه به عبور کورتیکوسترون از سد خونی- مغزی و افزایش بیان گیرنده‌های آن سیستم عصبی مرکزی به ویژه نخاع بعد از CCI، به نظر می‌رسد که عمده اثرات آن از طریق نخاع اعمال می‌شود.

نقش گیرنده‌های NMDA بر اثرات کورتیکوسترون در ایجاد پاسخ‌های رفتارهای درد نوروپاتی در مدل CCI

نتایج مطالعه ما نشان داد که تزریق داخل صفاقی MK-801 بر آلودینیای مکانیکی (تست Von Frey) و هایپرآلژیای حرارتی اثری ندارد ولی باعث کاهش پاسخ آلودینیای حرارتی می‌شود. از طرف دیگر MK-801 قادر است اثرات کورتیکوسترون را بر هایپرآلژیای حرارتی مهار کند. این یافته نشان می‌دهد که گیرنده NMDA نقش مهمی در وساطت اثر کورتیکوسترون بر علائم درد نوروپاتی بازی می‌کنند.

مطالعات قبلی نشان می‌دهند که گیرنده‌های NMDA نقش مهمی در درد نوروپاتی بازی می‌کنند. مطالعات سلولی و مولکولی در برخی از پیامدهای درد نظیر هایپرآلژیا و آلودینیای که در اثر التهاب بافت محیطی (مشابه مدل CCI) رخ می‌دهند حاکی از فعال شدن گیرنده‌های NMDA و برخی وقایع درون سلولی مرتبط است [۱۲]. CCI در مدل‌های تجربی موجب تنظیم افزایشی وابسته به زمان از زیرواحدهای NR1, NR2 (NMDAR) در شاخ خلفی طناب نخاعی اپسی لترال می‌شوند [۱۹، ۲۰].

Naritan و همکارانش در سال ۲۰۰۷ نشان دادند استفاده از داروی ifenprod (آنتاگونیست زیر واحد NR2B

از نظر کاربردی تعامل گلوکوکورتیکوئیدها و گیرنده‌های NMDA در درمان دردهای نوروپاتی می‌تواند بسیار موثر باشد به گونه‌ای که تزریق توام آگونیست‌های گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئید و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های NMDA می‌تواند نقش درمانی بسیار مفید در دردهای نوروپاتی بازی کنند.

تشکر و قدردانی

از کلیه همکاران مرکز تحقیقات و گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند تشکر می‌نمائیم.

منابع

- [1] Devor M. Neuropathic pain: what do we do with all these theories? *Acta Anaesthesiol Scand* 2001; 45: 1121-1127.
- [2] Bennett GJ. Neuropathic pain: An overview, in: Borsook D, Editor. *Progress in pain research and management*, Vol 7, IASP press, 1997. p. 109-113.
- [3] Sugimoto T, Bennet GJ, and kajendar KC. Transsynaptic degeneration in the superficial dorsal horn after sciatic nerve injury: Effects of a chronic constriction injury, transaction, and strychnine. *Pain* 1990; 42: 205-213.
- [4] Woolf CJ. Excitability changes in central neurons following peripheral damage. In: Willis WDJ, Editor. *Hyperalgesia and allodynia: the Bristol-Myers-Squibb symposium on pain research*, New York, Raven Press, 1992. p. 221-243.
- [5] Wall PD, Gutnick M. Properties of afferent impulses originating from a neuroma. *Nature* 1974; 248: 740-743.
- [6] Bridges D, and Thompson SW. Mechanisms of neuropathic pain. *Br J Anaesth* 2001; 87: 12-26.
- [7] Xie W, Luo S, Xuan H, Chou C, Song G, Lv R, Jin Y, Li W, and Xu J. Betamethasone affects cerebral expressions of NF-kappaB and cytokines that correlate with pain behavior in a rat model of neuropathy. *Ann Clin Lab Sci*. 2006; 36: 39-46.
- [8] Takeda K, Sawamura S, Sekiyama H, Tamai H, and Hanaoka K. Effect of methylprednisolone on neuropathic pain and spinal glial activation in rats. *Anesthesiology*. 2004; 100: 1249-1257.
- [9] Wang S, Lim G, Zeng Q, Sung B, Ai Y, Guo G, Yang L, and Mao J. Expression of central glucocorticoid receptors after peripheral nerve injury contributes to neuropathic pain behaviors in rats. *J Neurosci*. 2004; 24:8595-605.
- [10] Takasaki I, Kurihara T, Saegusa H, Zong S, and Tanabe T. Effects of glucocorticoid receptor antagonists on allodynia and hyperalgesia in mouse model of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol*. 2005; 524: 80-83.
- [11] Kim YI, Yoon YW, Han HC, and Hong SK. NMDA receptor are important for both mechanical and thermal allodynia from peripheral nerve injury in rats, *Neuroreport* 1997; 8: 2149 – 2153.
- [12] Smith GD, Wiseman J, Harrison SM, Elliott PJ, and Birch PJ. Pre treatment with MK-801 a non-competitive NMDA antagonist prevents development of mechanical hyperalgesia in a rat model of chronic neuropathy but not in a model of chronic inflammation. *Neurosci Lett* 1994; 165: 79-83.
- [13] Youn W, Kgung A, and Won T. Effects of MK-801 and Morphine on Spinal C-Fos Expression during the Development of Neuropathic, *Pain* 2002; 173: 1112-1126.
- [14] Wang S, Lim G, Zeng Q, Sung B, Yang L, and Mao J. Central glucocorticoid receptors modulate the expression and

به طور کلی آزمایش ۲ نشان می‌دهد که گیرنده‌های NMDA در اعمال اثرات کورتیکوسترون در دردهای نوروپاتی نقش دارند. گلوکوکورتیکوئیدها اثرات خودشان را از طریق مکانیسم‌های غیر ژنی اعمال می‌کنند. با توجه به اینکه در این مطالعه کورتیکوسترون ۳۰ دقیقه قبل از تست‌های رفتاری تزریق شد و همچنین مطالعات مربوط به بیولوژی مولکولی صورت نگرفت، تعیین تعامل ژنی و یا غیر ژنی گلوکوکورتیکوئیدها با گیرنده‌های NMDA در این مطالعه امکان‌پذیر نیست و نیازمند مطالعات آتی می‌باشد. به نظر می‌رسد که در سطح سلولی اثرات کورتیکوسترون و از این رو گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئید بر فعالیت گیرنده‌های NMDA می‌تواند ناشی از مکانیسم‌های غیر ژنی باشد.

در مطالعات قبلی نشان داده شده که تزریق داخل صفاقی و داخل نخاعی آنتاگونیست‌های گیرنده GR به ترتیب علائم درد نوروپاتی را در مدل‌های SNI و CCI کاهش می‌دهد [۹]، [۱۵] در حالی که در این مطالعه ما نشان دادیم که تزریق کورتیکوسترون (به عنوان لیگاند داخلی گیرنده GR) علائم درد نوروپاتی را کاهش می‌دهد در حالی که انتظار می‌رفت وقتی بلوک گیرنده اثرات مهارتی بر علائم درد نوروپاتی داشته باشد تحریک گیرنده، اثرات شدیدی بر علائم داشته باشد. دلیل این تناقض‌ها، روشن نمی‌باشد ولی ممکن است مربوط به عوامل زیر باشد.

۱- در مطالعات قبلی تزریق آنتاگونیست GR، فقط گیرنده GR گلوکوکورتیکوئیدها را بلوک می‌کند در حالی که تزریق کورتیکوسترون نه تنها گیرنده GR را فعال می‌کند بلکه گیرنده MR را نیز فعال می‌کند، که فعال شدن گیرنده MR ممکن است اثرات متفاوتی داشته باشد.

۲- در این مطالعه تزریق کورتیکوسترون، به صورت داخل صفاقی انجام شده است در حالی که در مطالعات قبلی در CCI، تزریق آنتاگونیست به صورت داخل نخاعی بوده است. از این رو مکان‌های اثر کورتیکوسترون در مطالعه حاضر گسترده‌تر بوده است که فعال شدن آنها ممکن است اثرات متفاوتی داشته باشد.

[20] Christoph T, Reissmüller E, Schiene K, Englberger W, and Chizh BA. Antiallodynic effects of NMDA glycine (B) antagonists in neuropathic pain: possible peripheral mechanisms. *Brain Res* 2005; 1048: 218-227.

[21] Narita M, Miyoshi K, Narita M, and Suzuki T. Changes in function of NMDA receptor NR2B subunit in spinal cord of rats with neuropathy following chronic ethanol consumption. *Life Sci* 2007; 80: 852-859.

[22] Cho K. and Little HJ. Effects of corticosterone on excitatory amino acid responses in dopamine-sensitive neurons in the ventral tegmental area. *Neuroscience* 1999; 88: 837-845.

[23] Coussens CM, Kerr DS, and Abraham WC. Glucocorticoid receptor activation lowers the threshold for NMDA-receptor-dependent homosynaptic long-term depression in the hippocampus through activation of voltage-dependent calcium channels. *J Neurophysiol* 1997; 78: 1-9.

[24] Abrahám I, Harkany T, Horvath KM, Veenema AH, Penke B, Nyakas C, and Luiten PG. Chronic corticosterone administration dose-dependently modulates Abeta(1-42)- and NMDA-induced neurodegeneration in rat magnocellular nucleus basalis. *J Neuroendocrinol* 2000; 12: 486-494.

function of spinal NMDA receptors after peripheral nerve injury. *J Neurosci* 2005; 25: 488-495.

[15] Takahashi T, Kimoto T, Tanabe N, Hattori TA, Yasumatsu N, and Kawato S. Corticosterone acutely prolonged N-methyl-d-aspartate receptor-mediated Ca^{2+} elevation in cultured rat hippocampal neurons. *J Neurochem*. 2002; 83: 1441-1451.

[16] Bennet GJ, and Xie YK. Peripheral Mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988; 33, 87-107.

[17] Mao J. Central glucocorticoid receptor: a new role in the cellular mechanisms of neuropathic pain. *Rev Neurosci*. 2005; 16: 233-238.

[18] Kingery WS, Agashe GS, Sawamura S, Davies MF, Clark JD, and Maze M. Glucocorticoid inhibition of neuropathic hyperalgesia and spinal Fos expression. *Anesth Analg* 2001; 92: 476-482.

[19] Christoph T, Schiene K, Englberger W, Parsons CG, and Chizh BA. The antiallodynic effect of NMDA antagonists in neuropathic pain outlasts the duration of the in vivo NMDA antagonism. *Neuropharmacology* 2006; 51: 12-17.

Archive of SID

The role of NMDA receptors in the effects of corticosterone on CCI model neuropathic pain in rats

S. Faryadian (M.Sc), H. A. Safakha (M.Sc), A. Rashidy-Pour (Ph.D) *

Department and Researh Center of Physiology, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

Introduction: Previous studies have shown that glucocorticoids play an important role in neuropathic pain behaviors, but the underlying mechanisms are not known. The aim of this study was to determine the role of NMDA receptors in the effects of glucocorticoids on neuropathic pain behaviors in CCI model in rats.

Materials and Methods: Male adult Wistar rats (200-300 gram) were used in this study. Chronic constriction nerve injury (CCI) rats were produced by loosely ligating a common sciatic nerve. Two weeks after inducing CCI, the effects of corticosterone in the presence or absence of MK-801 (a blocker of NMDA receptor) were studied. Behavioral pain responses (thermal hyperalgesia and thermal and mechanical allodynia) were studied using standard procedures.

Results: Findings indicated that peripheral administration of corticosterone suppressed both hyperalgesia and allodynia in a dose-dependent manner. MK-801 (0.3 mg/kg) pretreatment attenuated the effects of corticosterone (15mg/kg) on both thermal hyperalgesia and mechanical allodynia. Also MK-801 alone suppressed thermal allodynia, but not thermal hyperalgesia and mechanical allodynia.

Conclusion: These findings show that glucocorticoids play an important role in neuropathic pain behaviors. It seems that at least part of glucocorticoids effects on these behaviors may mediate through NMDA receptors suggesting an involvement of non-genomic mechanisms. Our findings suggest a potential role for glucocorticoid receptors agonist in combination of NMDA receptors antagonists in clinical management of neuropathic pain.

Key words: Corticosterone, NMDA receptors; Mechanical allodynia; Thermal allodynia; Thermal hyperalgesia

* Corresponding author: Fax: +98 231 3354186; Tel: +98 231 3354186
rashidy-pour@sem-ums.ac.ir