Archive of SID
Pharmaceutical Sciences, 2010, Vol.16, No 3, Page 157-168 علوم داروئی، ۱۳۸۹ دوره ۱۶، شماره ۳، ۱۶۸-۱۵۷

بررسی اثر ضد دردی اسید آسکوربیک و نقش سیستم نیتریک اکسید در یک مدل درد مزمن

فریناز نصیری نژاد*[۱]، سپیده صفارپور[۲]

[۱]مرکز تحقیقات فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران. [۲]گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۸۸/۵/۱۳ ، تاریخ پذیرش: ۸۹/٤/۲۲

Antinociceptive effect of ascorbic acid and involvement of nitric oxide in a chronic pain model

Nasirinezhad F.*[1], Safarpour S.[2]

[1]Physiological research center, Physiology department , Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[2]Physiology department , Iran University of Medical Sciences,Tehran, Iran

Received: 4Aug. 2009, Accepted: 13Jul. 2010

Objectives: Ascorbate which is presented in high concentration in nervous system, inhibit nitric oxide synthase enzyme (NOS). We investigated the involvement of NO pathway in the analgesic effects of ascorbic acid (AA) in CCI model of neuropathic rats. **Methods:** In this experimental study, neuropathic pain is induced by 4 loose ligature around sciatic nerve on left paw of male rats using 4/0 chromic gut (CCI model). Ascorbic acid (1, 5 or 10 mg/kg) or saline was injected intraperituneally two weeks after CCI. Heat and mechanical hyperalgesia and mechanical allodynia were investigated 15 and 30 min after injection. To investigate the involvement of NO on antinociceptive effect of AA on the second week after CCI, 30 min after injection of saline or AA, animals received intraperitunealy injection of L-arginin (500 mg/kg), or L-NAME (20mg/kg) and were tested 20 min after on. **Results:** Acute injection of 5 and 10 mg/kg but not 1 mg/kg of AA increased pain threshold in the second week after CCI. Injection of 5 mg/kg AA inhibited the nociceptive effect of L-arginin and potentiates the antinociceptive effect of L-NAME and pain threshold was significantly different in these two groups comparing the animals which received normal saline instead of AA. **Conclusion:** Injection of AA increase pain threshold after nerve injury. Antinociceptive effect of ascorbic acid is dose dependant and that seems to be mediated at least partially via NO pathway.
Keywords: *Ascorbic acid, nitric oxide, neuropathic pain*

زمینه و هدف: آسکوربات یک تنظیم کننده عصبی بوده و قادر به مهار آنزیم سازنده نیتریک اکسید (NOS) می‌باشد. در این مطالعه نقش مسیر نیتریک اکساید (NO) در اثرات ضد دردی اسید آسکوربیک (AA) مورد بررسی قرار گرفته است. **روش ها**: در این مطالعه تجربی، جهت ایجاد درد عصب سیاتیک در پای چپ موش‌های صحرایی نر توسط ٤ گره شل بوسیله نخ بخیه ۰/٤ تحت فشار قرار گرفت (مدل CCI). دو هفته پس از CCI، حیوانات ۱، ۵ یا۱۰ mg/kg اسید آسکوربیک و یا نرمال سالین دریافت کردند و ۱۵ و ۳۰ دقیقه پس از آن هیپرآلژزیای حرارتی و مکانیکی و همچنین آلودینیای مکانیکی مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت بررسی نقش NO در هفته دوم پس از CCI، ۳۰ دقیقه بعد از تزریق AA و یا نرمال سالین، (۵۰۰ mg/kg) L-arginine و یا (۲۰ mg/kg) L-NAME به صورت داخلی صفاقی تزریق شد و ۲۰ دقیقه پس از آن تست‌های سنجش درد انجام شد. **یافته ها**: تزریق داخل صفاقی اسید آسکوربیک در مقادیر ۵ mg/kg و ۱۰ولی نه ۱ mg/kg باعث افزایش آستانه درد شد. تزریق AA به میزان ۵ mg/kg باعث مهار اثر دردزای L-arginine و تقویت اثرات ضد دردی L-NAME شد و میزان درد در این گروه‌ها تفاوت معنی داری را نسبت به گروه دریافت کننده سرم فیزیولوژیک نشان داد. **نتیجه گیری**: تزریق اسید آسکوربیک باعث کاهش درد ایجاد شده پس از آسیب عصبی می‌شود. این اثر وابسته به مقدار بوده و حداقل قسمتی از آن مربوط به مهار مسیر NO میباشد.
کلید واژه ها: *اسید آسکوربیک، نیتریک اکسید، درد نوروپاتیک*

*نویسنده مسئول: فریناز نصیری نژاد، دانشیار ، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران. تلفن: ۸۸۰۵۸۷۰۹ ۰۲۱ فاکس:۸۸۰۵۸۷۰۹ -۰۲۱

**Corresponding Author: Farinaz Nasirinezhad, Associate professor, Physiological research center, physiology department, Iran University of Medical Sciences Tel: +98- 21 88058709 fax: +98-21 88058709 . email: fnasiri@iums.ac.ir*

www.SID.ir

Archive of SID

۱- مقدمه

درد نوروپاتیک با علایم عصبی از قبیل هیپرآلژزیای اولیه و ثانویه، افزایش حساسیت محیطی و مرکزی و پدیده wind up همراه است و در ایجاد آن ترانسمیترها نقش اساسی دارند (۱).

این درد به دنبال طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله دیابت، ایسکمی، عفونت کموتراپی و... بروز می‌یابد. تظاهرات کلینیکی آن بسیار متفاوت بوده غالباً به صورت درد سوزشی مداوم و یا درد خود به خود از سوی بیماران گزارش می‌شود. درمان‌های فارماکولوژیک رایج برای این درد مثل ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ای و ضد تشنج‌ها تاکنون کمتر از ۵۰٪ کارآیی داشته و همراه با عوارض جانبی بوده‌اند. از سویی دیگر اپیوئیدها و داروهای ضد التهاب که درمانی مؤثر در دردهای التهابی به حساب می‌آیند متأسفانه جهت درمان درد نوروپاتیک مؤثر نبوده‌اند (۲).

مشخص شده نیتریک اکسید (NO) ,L-arginine و آزاد کننده‌های NO مثل سدیم نیتروپروساید می‌تواند هیپرآلژزیا و آلودینیا را در موش‌های نوروپاتیک شدت دهند. NO چه به صورت آندوژن و چه به صورت اگزوژن در ضایعه فشار مزمن بر عصب باعث ایجاد رفتارهای ناشی از درد در رتها می‌شود. در همین راستا دیده شده که مهار کننده‌های آنزیم سازنده NO (NOS) می‌توانند درد را تخفیف دهند (۳). هم چنین در مطالعه بر روی داروی ضد صرع Zonisamide مشخص شده که اثرات ضد هیپرآلژزیک و ضد آلودینیک مرکزی این دارو در ضایعه صدمه به اعصاب محیطی از طریق مهار سنتز NO اعمال می‌شود (٤).

سایر مهار کننده‌های سنتز NO مثل L-NAME نیز به هنگام کاربرد سیستمیک، یا تزریق به فضای زیر عنکبوتیه (i.t) و یا به داخل بطن‌های مغزی (i.c.v) اثرات ضد دردی داشته‌اند (۵). فعال شدن آنزیم سنتز کننده نیتریک اکسید عامل اصلی در ایجاد NO و تولید درد می باشد. این عمل در نتیجه فعالیت نورون‌های گلوتامینرژیک و افزایش میزان Ca^{+2} درون سلولی روی میدهد. در حضور کوفاکتورها و مقادیر لازم از اکسیژن و آنزیم NOS، از L-arginine, NO ساخته می‌شود که به ترمینال‌های عصبی انتشار می‌یابد و گوانیل سیکلاز را فعال می‌کند که سبب ساخته شدن گوانوزین مونوفسفات حلقوی (cGMP)ازGTP می‌شود.NO هم چنین سیکلواکسیژناز و لیپواکسیژناز را نیز فعال می‌کند که در نتیجه آن آزادسازی پروستاگلاندین ها، لکوترین‌ها و ماده P افزایش می‌یابد که این مواد موجب حساسیت رسپتورها و تولید درد می‌شوند (٦).

هم چنین در CNS افزایش ساخت NO و رها شدن آن در ترمینال‌های پیش سیناپسی داخل نخاعی انتقال سیناپسی بین نورون‌های آوران و نورون‌های شاخ خلفی نخاع را تسهیل کرده که این امر باعث افزایش حساسیت این نورن‌ها به درد می‌شود (۷،۸).

اسید آسکوربیک (AA) یا ویتامین C در کنار نقش آنتی‌اکسیدانی که دارد در مطالعات بسیاری به عنوان یک تنظیم کننده عصبی مهم معرفی شده است. این ماده غلظت بالایی در CNS دارد (۱۰، ۹) و آزادسازی آن از سلول‌های مغزی به طور عمده همراه با فعالیت نورون‌های گلوتامینرژیک خصوصاً از طریق heteroexchange آسکوربات- گلوتامات از غشای نورون یا گلیاها می‌باشد (۱۲، ۱۱). بر اساس گزارشات موجود اسید آسکوربیک از مدولای آدرنال نیز همراه با کاته کول آمین‌ها ترشح می‌شود (۱۳). دی هیدروآسکوربیک اسید که فرم اکسیده شده ویتامین C است از راه گیرنده‌های glut-1 همراه با گلوکز از سد خونی- مغزی (BBB) انتقال می‌یابد (١٤).

شواهدی وجود دارد که بیان می‌کند AA همانند یک نورو ترانسمیتر مهاری از طریق مهار NOS باعث کاهش آزادسازی و ساخت NO می‌شود (۱۲،۱۵). پراکسی نیتریت ایجاد درد و افزایش حرارت در بافت می‌کند اسید آسکوربیک با ترکیب مستقیم با این ماده و یا با از بین بردن موادی که برای تولید سوپراکسیدها لازمند از طریق غیر مستقیم قادر به کاهش پراکسی نیتریت می‌باشد (١٦).

با توجه به دخالت مسیر NO در تنظیم عصبی درد و اثر ویتامین C بر آنزیم NOS این مطالعه جهت بررسی نقش مسیر NO در اثرات آنالژزیک اسید آسکوربیک بر روی درد نوروپاتیک با استفاده از مدل chronic constriction injury یا CCI که یکی از کامل ترین مدل‌های درد نوروپاتیک از لحاظ مطابقت با علایم نمونه انسانی می‌باشد انجام شده است.

۲- مواد و روش ها

۲-۱: حیوانات آزمایشگاهی

در این تحقیق که از نوع تجربی می‌باشد از موش‌های صحرایی نر نژاد wistar در محدوده وزنی

www.SID.ir

۳۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شده است. حیوانات از مرکز پرورش حیوانات انستیتو پاستور تهیه شدند و قبل از شروع آزمایش جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاهی حداقل به مدت سه هفته در قفس‌های مخصوص در حیوانخانه با درجه حرارت با شرایط نوری طبیعی نگهداری شده و با غذای مخصوص تغذیه می‌شدند. در زمان آزمایش حیوانات به صورت تصادفی به ۸ گروه زیر تقسیم شده و هر گروه شامل ۸ موش صحرایی بود.

۱) گروه دریافت کننده AA به میزان ۱ mg/kg
۲) گروه دریافت کننده AA به میزان ۵ mg/kg
۳) گروه دریافت کننده AA به میزان ۱۰ mg/kg
٤) گروه دریافت کننده نرمال سالین
۵) گروه دریافت کننده اسید آسکوربیک (۵ mg/kg) و L-arginine (۵۰۰ mg/kg)
٦) گروه دریافت کننده اسید آسکوربیک (۵ mg/kg) و L-NAME (۲۰ mg/kg)
۷) گروه دریافت کننده نرمال سالین و L-arginine (۵۰۰ mg/kg)
۸) گروه دریافت کننده نرمال سالین و L-NAME (۲۰ mg/kg)

۲-۲: داروهای مورد استفاده

به منظور بیهوشی حیوانات از پودر پنتاباربیتال سدیم به میزان ٦۰ mg/kg استفاده شد. همچنین پودر اسید آسکوربیک به میزان ۱ mg/kg، ۵ mg/kg، ۱۰ mg/kg، L-arginine به مقدار ۵۰۰ mg/kg و L-NAME به میزان ۲۰ mg/kg در گروه‌های مختلف به کار گرفته شد. تمامی مواد مورد استفاده در این تحقیق از شرکت Sigma تهیه و جهت تزریق در سرم فیزیولوژیک حل شده و به روش داخل صفاقی (i.p) تزریق شدند.

۲-۳: نحوه به کار گیری داروها

برای تعیین مقدار مؤثر اسید اسکوربیک جهت تقلیل درد، در زمان حداکثر درد، ۲ هفته پس از انجام CCI، مقادیر متفاوت اسید آسکوربیک در نرمال سالین حل شده و بلافاصله با حجم ۰/۵ ml تزریق گردید. حیوانات گروه کنترل ۰/۵ml نرمال سالین دریافت کردند.

پس از تعیین مقدار موثر از اسید آسکوربیک به منظور بررسی دخالت مسیر نیتریک اکسید در اثرات ضد دردی ویتامین C در گروه‌های جداگانه‌ای دو هفته پس از انجام CCI، اسید آسکوربیک به مقدار ۵ mg/kg تزریق گردید و ۳۰ دقیقه پس از آن L-arginine به مقدار ۵۰۰ mg/kg و یا L-NAME به میزان ۲۰ mg/kg تزریق گردید. حیوانات گروه کنترل به جای AA، ۰/۵ ml، نرمال سالین به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

٤-۲: نحوه ایجاد درد نوروپاتیک

برای این منظور از مدل CCI که توسط Bennet و xie (۱۹۸۸) پیشنهاد شده است، (۱۷) استفاده شد. جهت این منظور پس از اطمینان از بیهوشی حیوانات، موهای ناحیه ران چپ تراشیده و به موازات خار ایلیاک شکافی بر روی عضله biceps ران ایجاد شد پس از کنار زدن عضلات و نمایان شدن عصب، با استفاده از یک میله شیشه‌ای عصب از بافت‌های مجاور جدا شده و با نخ بخیه کرومیک چهار صفر چهار گره شل قبل از محل سه شاخه شدن عصب با فواصل ۱ میلی متر از یکدیگر بر روی عصب زده شد. گره‌ها به صورتی بود که در عمل خون رسانی به عصب اختلال ایجاد نشود.

پس از آن با استفاده از نخ سیلک سه صفر عضلات و پوست به صورت جداگانه بخیه زده شده و در پایان برای جلوگیری از عفونت و رشد باکتری‌ها محل جراحی با استفاده از بتادین ضد عفونی و با پماد تتراسایکلین پوشانده شد.

۵-۲: نحوه اندازه گیری هیپرآلژزیای مکانیکی (Randal Selitto Test)

جهت اندازه گیری هیپرآلژزیای مکانیکی از دستگاه analgesy-meter (شرکت Ugo Basile، ایتالیا) استفاده شد. برای انجام این تست حیوان در حالتی که شکمش از سطح زمین بالاتر باشد و احساس ناراحتی نکند با استفاده از یک حوله گرفته شده، کف پای آن بر روی محل مخصوص دستگاه قرار داده می‌شد با فشردن پدال با کمک اهرم فشاری افزاینده به پای حیوان وارد می‌شد و به محض عقب کشیدن پا و یا جیغ زدن حیوان اعمال نیرو متوقف شده و عدد نشان داده شده بر روی خط کش دستگاه ثبت می‌شد این تست با فواصل حداقل ۲ دقیقه برای پای چپ ۲ بار انجام می‌شد و از اعداد بدست آمده میانگین گرفته شد.

٦-۲: نحوه اندازه گیری هیپرآلژزیای حرارتی (Radiant heat test)

برای انجام این قسمت از دستگاه plantar test (شرکت Ugo Basile، ایتالیا) استفاده شد به این ترتیب که حیوان در محفظه مخصوص دستگاه قرار داده شده و پس از ۱۰ دقیقه سازگاری با محیط اشعه حرارتی به کف پای آن تابانده می‌شود. از زمان شروع تابش کرونومتر شروع به فعالیت می کند و به محض حرکت دادن و یا بلند کردن پا کرونومتر متوقف شده و

www.SID.ir

Time latency ثبت می‌شد. این عمل برای پای آسیب دیده ۳ بار به فواصل حداقل ۲ دقیقه انجام گردید و سپس میانگین اعداد بدست آمده ثبت گردید.

۲-۷: نحوه اندازه گیری آلودینیای مکانیکی

به این منظور از موشهای Von-frey با شماره‌های ٤/٥٦، ٤/٧٤، ٤/٩٣، ٤/٠٧، ٥/٠٧، ٥/١٨، ٥/٤٦ و ٥/٨٨ استفاده شد برای انجام آن حیوان در محفظه‌ای با کف مشبک که ۳۰ سانتی متر بالاتر از سطح زمین قرار داشت گذاشته شده و هر مو به طور عمود با فشاری که باعث خم شدن آن شود با فواصل ۱۰ ثانیه، ۵ بار برای پای آسیب دیده مورد آزمایش قرار گرفت و سه بار بلند کردن و یا حرکت دادن پا برای آن شماره از تار مو مثبت تلقی شد.

۲-۸: ترتیب انجام جراحی و تست‌های رفتاری

در کلیه گروه ها، ابتدا جراحی CCI برای هر حیوان انجام شد و ۲ هفته پس از آن یعنی در زمان حداکثر درد استعمال دارو و تست‌های رفتاری انجام گرفت.

در گروه‌هایی که مقادیر متفاوت اسید آسکوربیک را به شیوه گفته شده دریافت می‌کردند ۱۵ و ۳۰ دقیقه پس از تزریق تست‌های رفتاری مذکور انجام شد و در گروه‌های کنترل آن نیز پس از تزریق نرمال سالین با همین شیوه، تست‌های رفتاری انجام گردید. در گروه‌هایی که AA به علاوه دارو دریافت می‌کردند، ۳۰ دقیقه پس از تزریق ویتامین C داروی L-arginine و یا L-NAME تزریق شده و۲۰ دقیقه بعد از آن رفتار حیوان مورد بررسی قرار گرفت. گروه کنترل نیز با دریافت نرمال سالین به جای اسید آسکوربیک با همین پروتکل تست رفتاری شدند.

۲-۹: بررسی آماری

جهت بررسی وجود تفاوت معنی دار بین گروه‌های دریافت کننده دارو و نرمال سالین از برنامه نرم افزاری Graphpad و تست آماری two way ANOVA و Newman-keuls استفاده گردید، نتایج به صورت $Mean \pm SEM$ نشان داده شده است و $P<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

۳- نتایج

نمودار ۱A نشان دهنده اثر تزریق مقادیر مختلف ویتامین C و نرمال سالین بر هیپرآلژزیای حرارتی ایجاد شده دو هفته پس از انجام عمل CCI می‌باشد. همان گونه که در نمودار مشخص است تزریق داخل صفاقی mg/kg ۱۰ و ۵ اسید آسکوربیک، آستانه حس حرارتی را بالا برده به طوری که withdrawal latency به دنبال تابش اشعه به کف پا در حیوانات این گروه‌ها تفاوت معنی داری را ($P < 0.001$) نسبت به گروه دریافت کننده نرمال سالین نشان می‌دهد.

withdrawal latency در حیواناتی که نرمال سالین دریافت کرده بودند ۱۵ و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق به ترتیب ۵/۱±۰/۵ و ۵/۰۹±۰/٤٦ است در حالی که در حیواناتی که mg/kg ۵ اسید آسکوربیک دریافت نموده بودند. این زمان افزایش یافته و ۱۵ و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق به ترتیب ۹/۵±۰/۳۶ و ۹/۲±۰/۳۹ ثانیه شده است.

تزریق mg/kg ۱۰ از اسید آسکوربیک نیز اثر مشابهی در withdrawal latency داشته و در حیوانات این گروه نیز ۱۵ و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق این زمان به ترتیب ۹/۰۸±۰/۲۴ و ۸/۷±۰/۳۱ ثانیه بوده است.

تزریق اسید آسکوربیک به میزان mg/kg ۱ اثری بر هیپرآلژزیای حرارتی ایجاد شده به دنبال CCI نداشته و ۱۵ و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق withdrawal latency در حیوانات این گروه به ترتیب ۵/۹±۰/۲ و ۵/٦±۰/۲ ثانیه بوده و تفاوت معنی داری بین گروهی که به میزان mg/ kg ۱ اسید آسکوربیک دریافت نموده‌اند با گروه دریافت کننده نرمال سالین دیده نشد که نشان دهنده بی تأثیر بودن این مقدار از ویتامین C در تغییر آستانه حس حرارتی در حیوانات CCI شده می‌باشد.

withdrawal latency در حیواناتی که نرمال سالین و یا اسید آسکوربیک دریافت کرده بودند در دقیقه ۱۵ و ۳۰ بعد از تزریق تفاوت معنی داری را نشان نداد.

مشابه نتایج ذکر شده در تست‌های مربوط به سنجش هیپرآلژزیا و آلودینیای مکانیکی نیز وجود دارد. (نمودارهای۱B و ۱C). تزریق mg/kg ۱۰ و ۵ اسید آسکوربیک باعث افزایش آستانه حس مکانیکی شده و در حیوانات این گروه ۱۵ و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق تفاوت معنی داری ($P < ۰/۰۰۱$) در آستانه حس مکانیکی نسبت به حیوانات دریافت کننده نرمال سالین دیده شد. نتایج آماری به دست آمده تفاوت معنی دار در آستانه حس مکانیکی بین حیواناتی که اسید آسکوربیک به میزان mg/kg ۱ دریافت کرده بودند با حیواناتی که نرمال سالین دریافت نموده بودند را نشان نداد. ۱۵ و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق mg/kg ۵ از آسکوربات آستانه حس مکانیکی در تست randal selitto ۱۰/۲۷±۰/۶۲ ,۱۰/۷۸±۰/۳۹ و

www.SID.ir

در تست Von Frey به ترتیب ۵/۶±۰/۰۹ , ۵/۴±۰/۰۷ می‌باشد که تفاوت مشخصی نسبت به زمانی که مقدار تزریقی اسید آسکوربیک به دو برابرافزایش یافته (۱۰ mg/kg) نشان نمی دهد. (به ترتیب ۱۰/۳۶±۰/۴۱ , ۱۱/۳۶±۰/۳۹ در تست randal selitto و ۵/۴±۰/۰۶ , ۵/۵±۰/۱ در تست von frey) در حیواناتی که ۱ mg/kg اسید آسکوربیک گرفته بودند آستانه حس مکانیکی ۱۵ دقیقه بعد از تزریق در تست randal selitto و ۶/۹±۰/۴۸ و در von frey، ۴/۸۴±۰/۰۷ بود این مقادیر ۳۰ دقیقه بعد از تزریق به ترتیب به ۷/۳۹±۰/۸۷ و ۴/۸±۰/۰۶ تغییر کرد.

در حیواناتی که به جای اسید آسکوربیک نرمال سالین دریافت نموده بودند ۱۵ و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق آستانه حس مکانیکی در تست randal sellitto به ترتیب ۶/۱۸±۰/۴۷ و ۶/۲±۰/۷۱ و در تست von frey به ترتیب ۴/۷±۰/۰۶ و ۴/۸±۰/۰۴ بود که بر اساس تست‌های آماری نتایج معنی داری بین این گروه با گروهی که آسکوربات به میزان ۱ mg/kg دریافت کرده بودند وجود نداشت.

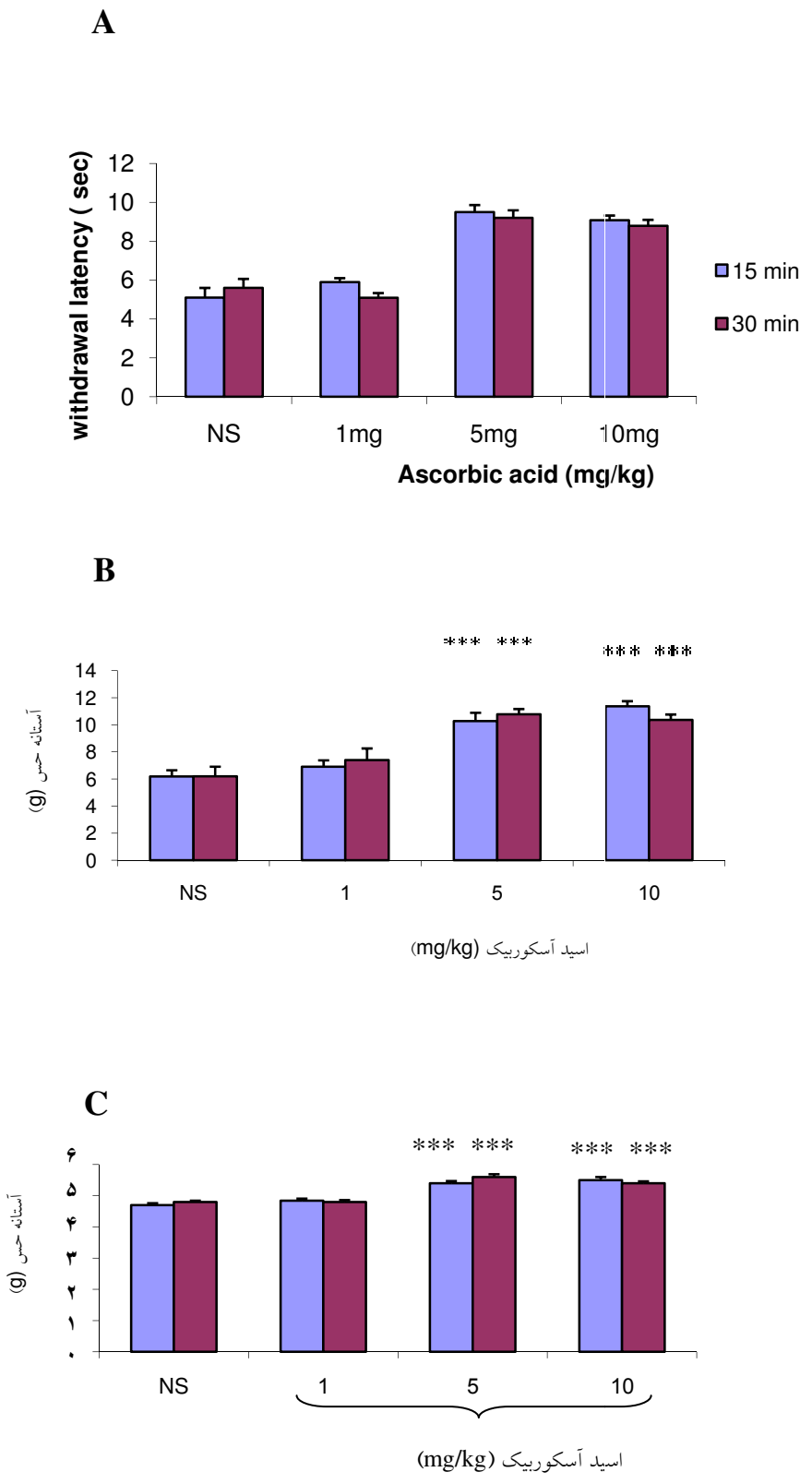
در بررسی نقش مسیر NO در ایجاد اثرات ضد دردی اسید آسکوربیک با توجه به این که تزریق ۵ mg/kg از آسکوربات باعث افزایش آستانه حس درد می‌شود این مقدار از ویتامین C به همراه داروهای L-arginine (تولید کننده NO) و L-NAME (مهار کننده NO) به کار گرفته شد.

نمودار ۲ A نشان دهنده مقایسه تزریق L-arginine (۵۰۰mg/kg) وL-NAME(۲۰ mg/kg) بعد از تزریق AA و یا نرمال سالین در هیپرآلژزیای حرارتی ایجاد شده دو هفته بعد از آسیب عصبی می‌باشد. با توجه به نمودار تزریق ۵ mg/kg از آسکوربات مانع از اثر دردزای قابل انتظار از مقدار گفته شده L-arginine می‌شود. در صورتی که تزریق همین مقدار از L-arginine به همراه نرمال سالین باعث بروز علایم هیپرآلژزیای حرارتی می‌شود و تفاوت معنی داری بین گروهی که به همراه L-arginine، اسید آسکوربیک دریافت کرده‌اند با گروه دریافت کننده نرمال سالین در withdrawal latency حاصل از تابش اشعه به کف پای حیوان وجود دارد. ($P < ۰/۰۰۱$) withdrawal latency در حیواناتی که به همراه L-arginine، اسید آسکوربیک دریافت کرده بودند ۶/۷۶±۰/۵۶ و در حیواناتی که نرمال سالین گرفته بودند ۴/۴۲±۰/۲۳ بود.

هم چنین بر اساس نتایج بدست آمده تزریق L-NAME به همراه اسید آسکوربیک باعث کاهش علایم هیپرآلژزیای حرارتی نسبت به گروهی شده که L-NAME به همراه نرمال سالین دریافت کرده‌اند به طوری که withdrawal latency در گروه دریافت کننده L-NAME و آسکوربات ۸/۳۳±۰/۳۷ و در گروه کنترل که L-NAME و نرمال سالین گرفته‌اند ۵/۸±۰/۲ بوده است. ($P < ۰/۰۰۱$) نمودار ۲ B و ۲ C به ترتیب نشان دهنده مقایسه تزریق L-arginine و L-NAME بعد از تزریق آسکوربات و یا نرمال سالین در هیپرآلژزیا و آلودینیای مکانیکی می‌باشد. در تست اندازه گیری هیپرآلژزیای مکانیکی نیز مشابه نتایج به دست آمده از تست هیپرآلژزیای حرارتی، آستانه حس مکانیکی در حیواناتی که L-arginine به دنبال تزریق ویتامین C دریافت نموده‌اند به طور معنی‌دار ($P < ۰/۰۰۱$) بیشتر از حیواناتی است که به جای اسید آسکوربیک نرمال سالین گرفته بودند و در گروهی که پس از تزریق آسکوربیک اسید، L-NAME گرفته‌اند، علایم هیپرآلژزیای مکانیکی نسبت به گروه کنترل که به جای ویتامین C، نرمال سالین دریافت داشته‌اند، بهبود چشم گیری یافته است.

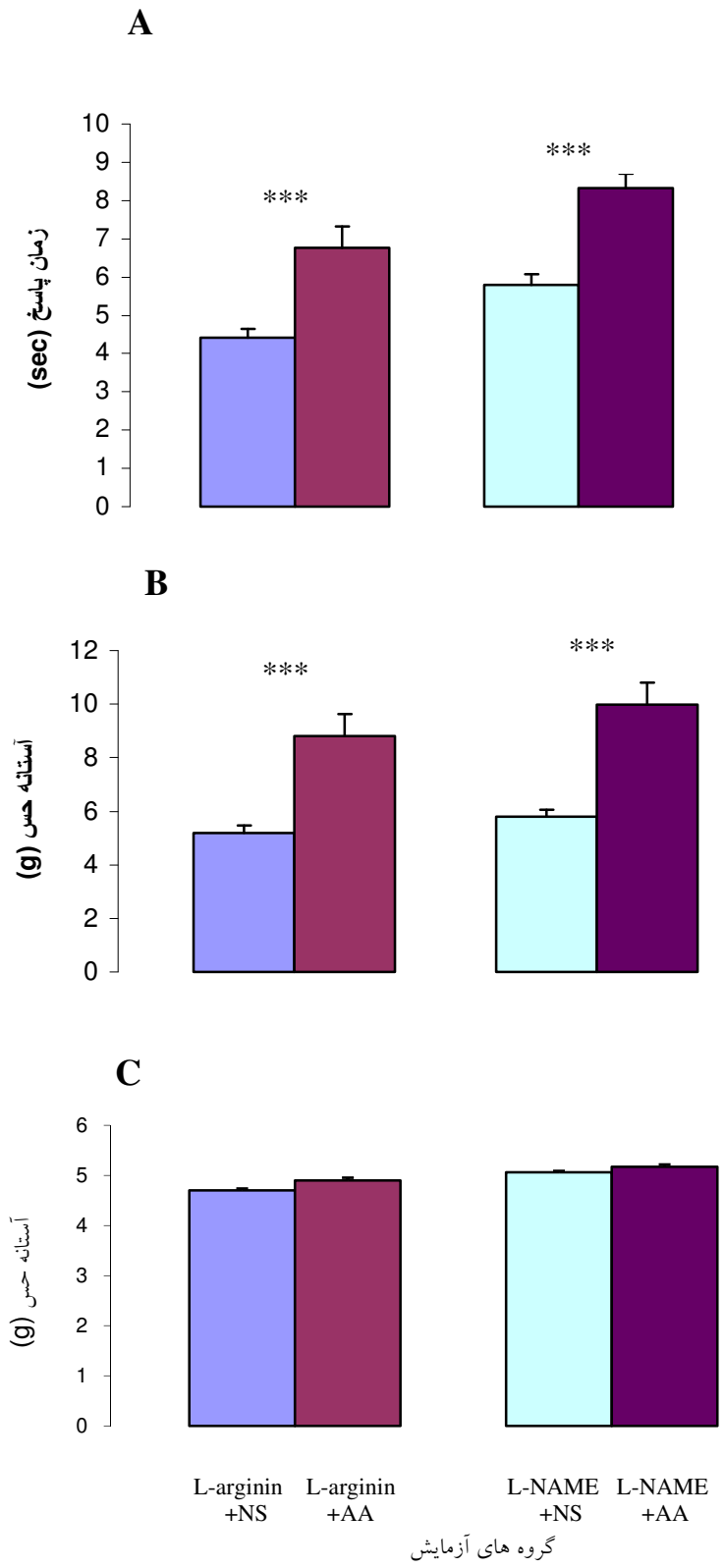
به طوری که آستانه حس مکانیکی در تست Randal Selitto در حیواناتی که L-arginine و ویتامین C گرفته‌اند ۸/۸±۰/۷۱ و در گروه کنترل آن ۵/۲±۰/۴۷ بوده است و نتایج این تست در گروه دریافت کننده L-NAME و آسکوربات و گروه کنترل آن به ترتیب ۹/۹۸±۰/۸۲ و ۵/۸±۰/۲۷ می‌باشد. همان طور که در نمودارC ۲ مشاهده می‌شود در تست von frey آستانه حس مکانیکی در گروه دریافت کننده L-arginine و یا L-NAME به همراه آسکوربات با گروهی که به جای آسکوربات نرمال سالین دریافت کرده‌اند تفاوت معنی داری وجود ندارد.

www.SID.ir



نمودار ۱: نتایج مربوط به دقیقه ۱۵ و ۳۰ تست اندازه‌گیری هیپرآلژزیای حرارتی (A) و مکانیکی (B) و آلودینیای مکانیکی (C) در گروه‌هایی که مقادیر مختلف از AA به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. *** تفاوت معنی دار ($P<0.001$) نسبت به گروه دریافت کننده نرمال سالین می باشد

www.SID.ir



نمودار۲. نتایج مربوط به تست اندازه‌گیری هیپرآلژزیای حرارتی (A) و مکانیکی (B) و آلودینیای مکانیکی (C) در گروهایی که ۳۰ دقیقه پس از دریافت (۵ mg/kg) AA یا نرمال سالین (NS) ، (۵۰۰ mg/kg) L-arginine و یا (۲۰ mg/kg) L-NAME دریافت کردند.
*** نشان دهنده تفاوت معنی دار (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه دریافت کننده نرمال سالین می باشد.

www.SID.ir

جدول۱. تغییرات آستانه حس مکانیکی و حرارتی ۱۵ و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق در گروه های دریافت کننده نرمال سالین و اسید آسکوربیک

	دقیقه	اسید آسکوربیک (۱۰ Mg/kg)	اسید آسکوربیک (۵ Mg/ kg)	اسید آسکوربیک (۱ Mg/kg)	نرمال سالین
هیپرآلژزیای حرارتی	۱۵	۹/۰۸ ± ۰/۲٤	۹/۵ ± ۰/۳٦	۵/۹ ± ۰/۲	۵/۱ ± ۰/۵
	۳۰	۸/۷ ± ۰/۳۱	۹/۲ ± ۰/۳۹	۵/٦ ± ۰/۲	۵/۰۹ ± ۰/٤٦
هیپرآلژزیای مکانیکی	۱۵	۱۱/۳٦ ± ۰/۳۹	۱۰/۲۷ ± ۰/٦۲	٦/۹ ± ۰/٤۸	٦/۱۸ ± ۰/٤۷
	۳۰	۱۰/۳٦ ± ۰/٤۱	۱۰/۷۸ ± ۰/۳۹	۷/۳۹ ± ۰/۸۷	٦/۲ ± ۰/۷۱
آلودینیای مکانیکی	۱۵	۵/۵ ± ۰/۱	۵/٤ ± ۰/۰۷	٤/۸٤ ± ۰/۰۷	٤/۷ ± ۰/۰٦
	۳۰	۵/٤ ± ۰/۰٦	۵/٦ ± ۰/۰۹	٤/۸ ± ۰/۰٦	٤/۸ ± ۰/۰٤

جدول ۲. تغییرات آستانه حس مکانیکی و حرارتی در گروه هایی که به همراه نرمال سالین و اسید آسکوربیک داروهای L-NAME , L-arginine نیز دریافت کرده اند.

	L-NAME+NS	L-arginine+NS	L-NAME+AA	L-arginine+AA
هیپرآلژزیای حرارتی	۵/۸ ± ۰/۲	٤/٤۲ ± ۰/۲۳	۸/۳۳ ± ۰/۳۷	٦/۷٦ ± ۰/۵٦
هیپرآلژزیای مکانیکی	۵/۸ ± ۰/۲۷	۵/۲ ± ۰/٤۷	۹/۹۸ ± ۰/۸۲	۸/۸ ± ۰/۷۱
آلودینیای مکانیکی	۵/۰٦ ± ۰/۰۳	٤/۷ ± ۰/۰٤	۵/۱۷ ± ۰/۰۵	٤/۹ ± ۰/۰۵

جدول ۱ و ۲ به طور خلاصه تغییرات آستانه حس مکانیکی و حرارتی را در گروه های مختلف نشان می‌دهد.

با توجه به این که تزریق ۵ mg/kg از اسید آسکوربیک قادر به تغییر رفتار درد به دنبال عمل CCI بوده است به نظر می‌رسد تزریق این مقدار از AA می‌تواند مانع عمل درد زای ماده L-arginine به عنوان تولید کننده NO شود و از سوی دیگر فعالیت ضد دردی ماده L-NAME را که یک مهار کننده تولید NO است، تشدید نماید.

٤- بحث

درد نوروپاتیک به دنبال آسیب اولیه یا ایجاد اختلال در عملکرد سیستم عصبی اعم از اعصاب محیطی، پلکسوس ها و یا اعصاب مرکزی به وجود می‌آید. مکانیسم‌های ایجاد کننده آن چندگانه و پیچیده‌اند و از مهم ترین علایم آن پاسخ‌های غیر طبیعی به محرک مثل آلودینیا، هیپرآلژزیا و هیپرپتیا (hyperpathia) هستند که با تست‌های رفتاری قابل ارزشیابی‌اند. (۱۸) به همین دلیل داروهای آنالژزیک موثر بر این درد بیشتر بر اساس اثر بر دو مشخصه هیپرآلژزیا و آلودینیا ارزیابی فارماکولوژیکی می‌شوند. (۱۹)

نتایج این بررسی نشان داد که تزریق داخل صفاقی اسید آسکوربیک توانایی تخفیف علایم درد ناشی از آسیب عصبی را دارد و این اثر وابسته به مقدار مصرفی آن است.

بر اساس نتایج بررسی‌های رفتاری مقادیر ۱۰و۵ mg/kg از آسکوربات به طور معنی دار درد را در

www.SID.ir

تست‌های مورد استفاده کاهش می‌دهد. اثر ضد دردی AA در کاهش هیپرآلژزیای حرارتی و مکانیکی و آلودینیای مکانیکی تقریباً یکسان اعمال می‌شود. به علاوه تفاوت معنی دار میان پاسخ‌های دقیقه ۱۵ و ۳۰ دیده نشد، بنابراین اثر ضد دردی ویتامین C حداقل تا ۳۰ دقیقه پس از کاربرد داخل صفاقی آن باقی می‌ماند در حالی که mg/kg ۱ از آسکوربات هیپرآلژزیا و آلودینیا را تخفیف نمی دهد.

پیش از این گزارش شده است که در تست فرمالین مقادیر mg/kg ۵و۳ از ویتامین C در موش‌های سویسی علایم درد را در هر دو فـاز ابتدایی و تأخیـری ایـن تست کاهش می‌دهد (۲۰).

از آن جا که انجام تست فرمالین حدوداً ۱ ساعت زمان می‌برد AA در این مدت اثر ضد دردی خود را حفظ می‌کند. بعلاوه در بررسی انجام شده توسط Rosa و همکارانش نیز تزریق mg/kg۱ آسکوربات اثری بر کاهش درد حاصل از تزریق فرمالین ایجاد نکرده است، که این امر با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد. اما بر خلاف نتایج مطالعه حاضر که تفاوتی در اثر ضد دردی مقادیر mg/kg ۱۰ و ۵ از AA دیده نشد در مطالعه‌ای که توسط kelson A.Rosa و همکارانش انجام گرفته با افزایش غلظت آسکوربات اثر آنالژزیک آن در درد حاصـل از تزریق فرمالیـن کاهـش یافتـه و به طوری که تزریق mg/kg ۱۰ از آن درد را کاهش نداده است (۲۰).

تفاوت بین نتایج به دست آمده در این تحقیق و مطالعه حاضر احتمالاً به دلیل نوع تست به کار گرفته شده و یا شاید نوع درد ایجاد شده می باشد در این رابطه نتایج حاصل از آزمایش Davis و همکارانش نیز نشان دهنده اثر ضد دردی AA در مقادیر بالا می‌باشد.

بر اساس مطالعات این محققین کاربرد زیر پوستی mg/kg ۱۵۰ از AA در مدل موش‌های مبتلا به آرتریت نیز آستانه درد را افزایش می‌دهد (۲۱). با توجه به این داده‌ها می‌توان نتیجه گرفت که AA در مقادیر بالا و غیر سمی هم توانایی تخفیف علایم درد را دارد. هم چنین نتایج مربوط به آزمایش‌های Rogers و Ricketts که بر روی انسان انجام شد نیز نشان داد که مقادیر بالای ویتامین C می‌تواند درد ناشی از شکستگی مچ دست را تسکین دهد (۲۲).

این نتایج نیز نشان دهنده اثر وابسته به مقدار این ویتامین در تسکین درد می‌باشد که مشابه نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر می‌باشد. نتایج آزمایش‌های Kirk و همکارانش نیز نشان دهنده اثرات ضد دردی آنتی اکسیدان‌ها از جمله ویتامین C در غلظت‌های بالا می‌باشد. آزمایش‌های او نیز که بر روی انسان انجام گرفت نشان داد که استفاده از این ویتامین می‌تواند درد مزمن ناحیه شکم را که در اثر التهاب پانکراس ایجاد می‌شود را تسکین داده و کیفیت زندگی را در این افراد بالا ببرد (۲۳).

آن چه مسلم است آسکوربات یک آنتی اکسیدان قوی است که سطح خارج سلولی آن در CNS در پاسخ به محرک‌های متفاوت از جمله استفاده از اسیدهای آمینه تحریکی و GABA تغییر می‌کند و ترشح آن به میزان زیادی با فعالیت سیستم گلوتامنیرژیک تنظیم می‌شود (۲٤). به طوری که در وزیکول های سیناپسی نورون‌های گلوتامیزژیک از طریق انتقال فعال تغلیظ شـده و در پـی تحریک ایـن نورون‌ها آزاد مـی‌شود.(۲۵، ۸). از طرف دیگر اکسید نیتریک (NO) در نورون‌های گلوتامینرژیک با یک مکانیسم وابسته به Ca^{+2} باعث اگزوستیوز AA از وزیکول‌های سیناپسی حاوی آن می‌شود و در عدم حضور Ca^{+2} و یا با وجود برخی مهار کننده‌های NOS مثل NMMA آزادسازی ویتامین C مهار می شود.

این مهار کننده آنزیم NOS با بلوک دپلاریزاسیون غشای نورن های حاوی وزیکول AA مانـع از آزادسازی آن می‌شود (۲۵، ۸ ، ۳). با توجه به این داده‌ها می‌توان گفت آسکوربات یک Co-transmitter است کـه همـراه بـا سایـر تـرانسمیترهـا از وزیکول‌های سیناپسی آزاد شده و در کاهش فعالیت شیمیایی NO هم نقش دارد (۸). بر این اساس برای تعیین نقش NO در اثرات آنالژزیک ویتامیـن C در ایـــن بررسـی از دو مـــاده متفـاوت L-arginine و L-NAME استفاده شده است.

L-arginine بـاعـث تولیـد NO شـده در حالـی که L-NAME بـا مهـار آنـزیـم NOS مانـع از ساخته شدن NO می‌شـود. بـــر طبـق دانسته‌هـای پیشین مقدار mg/kg ۵۰۰ از L-arginine علایم هیپرآلژزیا و آلودینیا را در مـوش‌های CCI شـده تشدیـد می‌نمایـد و ایـــن اثر ۱ ساعت پس از تـزریـق بـــه حـداکثـر خود می‌رسد (۳).

در مطالعـه حاضر نیـز در گـروه کنترل که بـه همـراه L-arginine نرمال سالین دریافت کردند علایم هیپرآلژزیا و آلودینیای مکانیکی و هیپرآلژزیای حرارتی شدت یافته در حالی که تزریق آن به دنبال تزریق

www.SID.ir

mg/kg ۵ از AA موجب تخفیف علایم درد ناشی از CCI شده است. بـه نظـر می‌رسـد ایـن میـزان از AA با کـاهش فعالیت شیمیایـی NO مـانـع از ایجـاد تغییـرات دردزای L-arginine شده است.

هم چنین از آن جا که آسکوربات یک آنتی اکسیدان قوی به شمار می‌رود این احتمال وجود دارد که به طور مستقیم و یا با از میان برداشتن سوبستراهای لازم از طریق سیستم آنزیمی گزانتین اکسیداز از ساخت سوپراکسید و اکسید نیتریک جلوگیری می‌کند و با پیشگیری از واکنش‌های پراکسیداتیو در تقلیل رفتارهای ناشی از درد نوروپاتیک موثر می‌باشد (۲۷ ، ۲٦).

از سوی دیگر در این تحقیق نتایج ترزیق سیستمیک mg/kg ۲۰ از L-NAME به دنبال تزرق داخل صفاقی mg/kg ۵ از AA بیانگر آن است که علایم مربوط به هیپرآلژزیای حرارتی و مکانیکی در گروه مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل بهبودی بیشتری پیدا کرده‌اند. مشخص شده است که مهار کننده‌های آنزیم NOS، درد نوروپاتیک را تخفیف میدهند(۱۲). L-NAME که به طور غیر اختصاصی تمامی ایزوفرم‌های آنزیم NOS را بلوک می‌کند افزایش حساسیت به درد را در موش‌های نوروپاتیک کاهش می‌دهد (۲۸). همچنین مهار کننده‌های اختصاصی NOS مثل GW ۲۷٤۱۵۰ به صورت وابسته بـه مقدار هیپرآلژزیـای ناشـی از CCI را تخفیف می‌دهند (۱٤). درمان بـا آسکوربات بـا افزایش آسکوربات درون سلولـی ساخت NOS را کاهش می‌دهد (۱۲).

با توجه به نتایج قابل مشاهده در نمودارهای مربوطه اسید اسکوربیک در کنار L-NAME به طور معنی دار هیپرآلژزیا را نسبت به زمانی که L-NAME به همراه نرمال سالین به صورت سیستمیک داده می‌شود در پای CCI شده بیشتر کاهش می‌دهد که این اثر می‌تواند نتیجه همراهی عملکرد اسید آسکوربیک و L-NAME در مـهـار سنتـز NO و کـاهش فعـالیت آن بـاشـد کـه منجر بـه تخفیف بیشتر علایم ناشی از صدمه عصبی شده است.

۵- نتیجه گیری

بر اساس نتایج بدست آمده اسید آسکوربیک قادر است آستانه درد را بدنبال آسیب عصبی بهبود بخشد و اثر ضد دردی این ویتامین وابسته به دوز بوده و حداقل تا ۳۰ دقیقه بعد از مصرف نیز باقی می‌ماند. با توجه به نقش مسیر NO در ایجاد دردهای نوروپاتیک و بر اساس دخالت آنتی اکسیدان‌ها در این مسیر، حداقل قسمتی از اثرات ضد دردی اسید آسکوربیک از طریق دخالت در مسیر اکسید نیتریک می باشد.

بنابراین بـا توجه بـه پیچیدگی درمان دارویـی دردهـای نوروپاتیک و عوارض جانبی داروهای فارماکولوژیک حاضـر در درمـان آن، اسیـد آسکوریک هم می‌توانـد در کنار داروهـای تسکین دهنده دیگر و یـا به تنهایی در مقادیـر غیـر سمی در درمان دردهای نوروپاتیک موثر بـاشد.

٦- تشکر و قدردانی

در پایان از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران که با حمایت مالی خود امکان انجام این پژوهش را فراهم نمودند صمیمانه تشکر می کنیم.

www.SID.ir

References:

1. Herrero J.F., Larid J.M., Lopez-Garcia J.A. Wind-up of spinal cord neurons and pain sensation: much ado about something? Progress in neurobiology, 2000, 61(2) : 169-203.

2. Bridges D, Thompson S.W., Rice A.S. Mechanism of neuropathic pain, British Journal of Anesthesiology, 2001, 87(1): 12-16.

3. Naik A.K., Tandan S.K., Kumar D., Dudhgankar S.P. Nitric oxid and its modulators in chronic constriction injury- induced neuropathic pain in rat, European Journal of pharmacology, 2006, 530(1-2): 59-69.

4. Tanabe M., Sakave A., Takasu A., Honda M., Ono H., Centrally mediated antihyperalgesic and antiallodynic effects of zonisamide following partial nerve injury in the mouse, Naunyn Schmiedebergs Arch pharmacology, 2005, 372(2): 107-14.

5. Mc Roberts J.A., Coutiho S.V., Marvizon J.C., Grady F.F., Tognetto M., Sengupata J.N., Enners H.S., Chaban V.V. Role of Peripheral N-Methyl-D-aspartate (NMDA) receptors in visceral nociception in rats, Gastroenterology, 2001, 120(7): 1737-48.

6. Tal M. A novel antioxidant alleviates heat hyperalgesia in rats with an experimental painful peripheral neuropathy, Neuroreport, 1996, 7(8): 1382-4.

7. Alba J., Clayton N.M., Collins S.D., Colthup P., Chessell I., Knowles R.G. GW 274150, a novel and highly selective inhibitor of the inducible isoform of nitric oxide synthase (iNOS), shows analgesic effect in rat models of inflammatory and neuropatihc pain, Pain, 2006, 120 (1-2) : 170-81.

8. Karanth S., Yu W.H., Walczewska A., Mastronardic M.C., Cann S.M. Ascorbic acid acts an inhibitory transmitter in the hypothalamus to inhibit stimulated luteinizing hormone-releasing hormone release by scavenging nitric oxide, Proceeding of the National Academy of Sciences of the United State of America, 2000, 97(4): 1891-6.

9. Grunewald R.A. Ascorbic acid in the brain. Brain Research Review, 1993, 18(1): 123-33.

10. Rosa A., Lin J., Calixto J.B., Santos A.R., Rodrigus A.L. Involvement of NMDA receptors and L-arginine nitric oxide pathway in the antidepressant-like effects of zinc in mice, Behavioral Brain Research, 2003, 144(1-2): 87-93.

11. Cammack J., Ghasemzadeh A., Adams R.N. The pharmacological profile of glutamate-evoked ascorbic acid efflux measured by in vivo electrochemistry, Brain Research, 1991, 565(1): 17-22.

12. Korcok, WU F., Tyml K., Hammond R.R., Wilson J.X. Sepsis inhibits reduction of dehydroascorbic acid and ascorbate depletion increases nitric oxide synthase induction and glutamate uptake inhibition, Journalof Neurochemistry 2002, 81(1): 185-93

13. Bronstein S.R., Patak P., willenberg H.S. A vitamin C is an important cofactor for both adrenal cortex and adrenal medulla. Endocrine Research, 2004, 30 (4) : 871-5.

14. Huang J., Agus D.B., winfree C.J., kiss S., Mack W.J. Dehydroascorbic acid, a blood brain barrier transportable form of vitamin C, mediates potent cerebroprotection in experimental stroke, Proceeding of the National Academy of Sciences of the United State of America, 2001, 98(20):11720-4

15. Lery D., Hoke A., Zochodne D.W. Local expression of inducible nitric oxide synthase in an animal model of neuropathic pain Neuroscience Letter, 1999, 260(3): 207-9.

16. Van Dyke K., Sacks M., Qazi N. A new Screening method to detect water- soluble antioxidants: acetaminophen (Tylenol) and other phenols react as antioxidants and destroy peroxynitrite based luminol-dependent chemiluminescence, Journal of Bioluminescence and chemiluminescence, 1998, 13(16): 339-48.

17. Bennett G.J., xie Y.K. A peripheral mononeuropathy in rat that produce disorder of pain sensation like those seen in man, Pain, 1988, 33:87-107.

18. Attal N. Chronic neuropathic pain: mechanism and treatment, Clinical Journal of Pain, 2000, 16(3 suppl): S118-30.

19. Galluzzi K.E. Management of neuropathic pain, The Journal of the American Osteopathic Association, 2005, 105 (9 suppl 4): S 12-9.

20. Rosa K.A., Gadotti V.M., Rosa A.O. Evidance for the involvement of glutamatergic system in the antinociceptive effect of ascorbic acid, Neuroscience letter, 2005, 381(1-2): 185-8.

21. Davis R.H., Rosenthal K.Y., Cesario L.R., Rouw G.R. Vitamin C influence on localized adjuvant arthritis, Journal of the American Podiatric Medical Association, 1990, 80(8): 414-8.

22. Zollinger P.E., Tuinebreijer W.E., Breederveld R.S., Kreis R.W. Can vitamin C prevent complex regional pain syndrome in patients with wrist fractures? A randomized controlled multicenter dose-response study. The Journal of Bone and joint surgery American Volume, 2007, 89(7):1424-31.

23. Kirk G.R., White J.S., Mckie L., Stevenson M., Young L., Clements W.D., et al. Combined antioxidant therapy reduces pain and improves quality of life in chronic pancreatitis, Journal of Gastrointestinal Surgery, 2006, 10(4): 499-503.

www.SID.ir

24. Rice M.E. Ascorbate regulation and its neuroprotective role in the brain, Trends in Neuroscience, 2000, 23(5): 299-16.
25. Rebec G.V., Pierce R.C. A vitamin as a neuromodulator release; ascorbate release into the extracellular fluid of the brain regulates dopaminergic and glutamatergic transmission, Progress in Neurobiology, 1994, 43(6): 537-65.
26. Gordh T. The role of nitric oxide in neuropathic pain and neurodegeneration, Acta Anaesthesiolgica Scandinavica. Supplementum , 1998, 113: 29-30.
27. Kacmaz M., Oztrok H.S., Karaayvaz M., Guven C., Durak I. Enzymatic antioxidant defense mechanism in rat intestinal tissue is charged after ischemia-reperfusion, Effects of an allopurinol plus antioxidant combination, Canadian Journal of surgery, 1999, 42(6): 427-31.
28. Hao J.X., Xu X.J. Treatment of a chronic allodynia like response in spinally injured rats: effects of systemically administered excitatory amino acid receptor antagonists, Pain, 1996, 66(2-3): 279-85.

www.SID.ir