

بررسی اثر MK-801 بر درد حاد و مزمن در موش صحرایی نر

منصوره اسلامی^۱

چکیده

زمینه و هدف: گیرنده‌های اسید آمینه‌های تحریکی (Excitatory Amino Acids: EAAs) دارای اعمال گسترده‌ای می‌باشند که یکی از اثرات احتمالی آنها در درد می‌باشد؛ اگرچه در مورد نقش این اسید آمینه‌ها (یعنی N-methyl D-aspartic Acid (NMDA) یا N- methyl D-aspartic Acid (NMDA) بر درد حاد و مزمن نتایج متفاوتی گزارش شده است ولی بیشتر مشاهدات بر این امر دلالت دارند که گیرنده NMDA در پیشرفت و افزایش درد به دنبال آسیب عصبی و بافتی نقش اساسی دارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر مقادیر مختلف MK-801 (آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده NMDA) بر درد حاد و مزمن در موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، از فرمالین به عنوان یک محرک شیمیایی که تزریق زیر پوستی آن درد دو مرحله‌ای حاد و مزمن را ایجاد می‌کند، استفاده شد؛ به منظور بررسی تأثیر MK-801 بر درد حاصل از این ماده، از موشهای صحرایی نر به وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم و در هر گروه ۶ موش استفاده شد. ۲۰ دقیقه قبل از انجام آزمایش فرمالین، غلظتهای مختلف MK-801 (۰/۴۵ mg/kg و ۰/۳، ۰/۱۵، ۰/۱ و ۰/۰۷۵) به طریق داخل صفاقی به موشها تزریق شد (گروه مورد)؛ به نمونه‌های گروه شاهد سالیین ۰/۹٪ تزریق گردید؛ سپس عکس‌العمل نسبت به درد ناشی از فرمالین، از رتبه ۰-۳ ثبت شد. اطلاعات به دست آمده با استفاده از آزمونهای آماری ANOVA و Tukey مورد تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: MK-801 در مقدار بالاتر از ۰/۳mg/kg درد حاصل از فرمالین را در مرحله اول ($P < 0/001$) و در مقادیر بالاتر از ۰/۱mg/kg در مرحله دوم تسکین داد ($P < 0/05$) و با مقدار ۰/۴۵mg/kg اثر بیشتری نشان داد ($P < 0/001$) این مقدار با سایر مقادیر MK-801 نیز اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). در این غلظت افزایش حرکات نیز مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: این تحقیق نشان داد که MK-801 موجب کاهش درد حاد و مزمن می‌شود؛ بنابراین گیرنده NMDA در روند درد نقش اساسی دارد.

کلید واژه‌ها: اسید آمینه‌های تحریکی؛ MK-801؛ آزمایش فرمالین؛ درد حاد؛ درد مزمن

افق دانش؛ مجله دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی گناباد (دوره ۱۰؛ شماره ۲؛ سال ۱۳۸۳)

^۱ نویسنده مسؤول؛ عضو هیأت علمی گروه آموزشی فیزیولوژی و بیولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

آدرس: تهران - میدان قدس - خیابان دربند - دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی - گروه آموزشی فیزیولوژی و بیولوژی - کد پستی: ۱۹۳۹۵-۴۶۱۸
تلفن: ۳۱ و ۲۷۱۸۵۲۸ (کد: ۰۲۱) - نمابر: ۲۷۲۱۱۵۰ (کد: ۰۲۱) - پست الکترونیکی: ma.eslami@yhoo.com

مقدمه

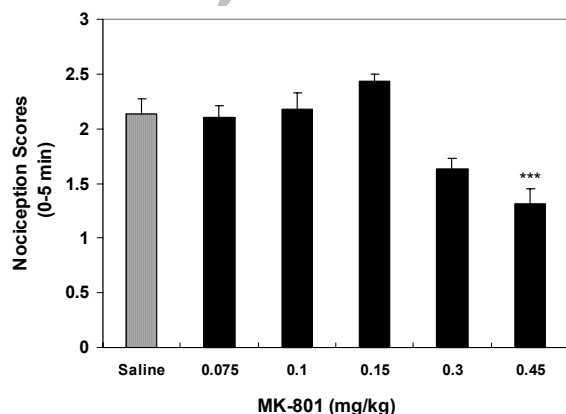
به گروه مورد به ترتیب مقادیر MK-801 (0.3 و 0.45 mg/kg) و 0.3، 0.15، 0.1، 0.075 و 0.09٪ به طریق داخل صفاقی تزریق شد. ۲۰ دقیقه بعد بر روی هر گروه آزمایش فرمالین انجام شد؛ بدین منظور طبق روش Dennis و Dubisson ۵۰ میکرولیتر محلول فرمالین ۱٪ به کف پای چپ موش تزریق گردید (۶)؛ سپس حیوان به جعبه مخصوص آزمایش منتقل شد و رتبه دهی به رفتارهای درد حیوان از ۰-۳ آغاز شد. هر حیوان در این جعبه مخصوص به مدت یک ساعت مورد بررسی قرار گرفت و هر ۱۵ ثانیه یک بار رتبه درد مشاهده و ثبت گردید. به طور قراردادی و با توجه به علائم درد، ۵ دقیقه اول آزمایش فرمالین را مرحله درد حاد و حدود ۱۰-۱۵ دقیقه که تقریباً حیوان با درد بسیار کمتری روبه‌رو بود، مرحله اینترفاز و از دقیقه ۲۰-۶۰ مرحله درد مزمن در نظر گرفته شد (۶).

اطلاعات جمع‌آوری‌شده با استفاده از آزمونهای آماری ANOVA و Tukey مورد تحلیل قرار گرفتند. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

MK-801 با میزان بالاتر از 0.3 mg/kg موجب کاهش درد حاد شد ($P < 0.001$) (نمودار ۱)؛ همچنین MK-801 در مقادیر بالاتر از 0.1 mg/kg موجب کاهش درد مزمن شد ($P < 0.05$) (نمودار ۲)؛ مقدار 0.45 mg/kg اختلاف بیشتری را نسبت به گروه شاهد نشان داد ($P < 0.001$). این مقدار با سایر مقادیر MK-801 نیز دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P < 0.05$).

براساس مقادیر مختلف MK-801 و میانگین رتبه‌های درد، منحنی پاسخ میزان MK-801 در مرحله اول و دوم نیز رسم گردید (نمودارهای ۳ و ۴).



درد یک روند آگاه‌کننده و ناخوشایند است. با وجود انجام تحقیقات زیادی در جهت تسکین درد، راه حل واحدی ارائه نشده است که شاید به علت فرایندهای متعددی است که در این پدیده دخالت دارند. یکی از ابعادی که در توجیه روند درد مطرح است، اسید آمینه‌های تحریکی مانند گلوتمات و آسپارات می‌باشند که در سیستم عصبی مهره‌داران یافت شده‌اند. (۲،۱). آسپارات و گلوتمات نورترانس‌میتزهای تحریکی مهمی در سیستم عصبی مرکزی هستند (۴،۳).

گیرنده‌های اسید آمینه‌های تحریکی به دو نوع گیرنده‌های NMDA (N متیل D-آسپاراتات) و Non-NMDA تقسیم می‌شوند. گیرنده‌های NMDA به مقدار فراوانی در هیپوکامپ وجود دارند (۵). بررسی‌های اخیر نشان داده‌اند که اسید آمینه‌های تحریکی که در سطح گیرنده‌های NMDA عمل می‌کنند، در پاسخ درد ناشی از فرمالین دخالت دارند. تزریق فرمالین موجب آزاد شدن گلوتمات و آسپاراتات در شاخ خلفی نخاع می‌گردد (۲).

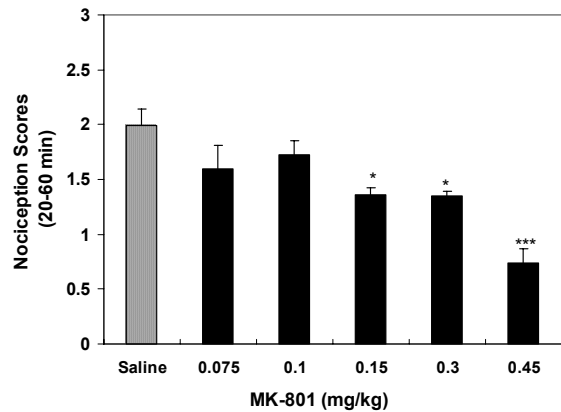
آنتاگونیست‌های گیرنده NMDA به دو دسته آنتاگونیست‌های رقابتی و غیررقابتی طبقه‌بندی می‌شوند. در این تحقیق اثر مقادیر مختلف MK-801 (آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده NMDA) بر درد حاد و مزمن در موش صحرایی بررسی گردید و از فرمالین به عنوان محرک شیمیایی ایجادکننده درد استفاده شد.

روش بررسی

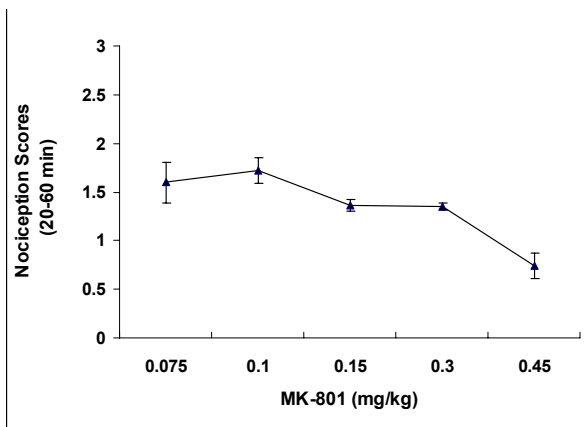
در این مطالعه تجربی، از موش‌های صحرایی نر به وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شد؛ از نمونه‌ها در قفسهایی به گنجایش ۴ موش نگهداری شد و آب و غذا به میزان کافی در اختیار آنان گذاشته شد.

نور محل نگهداری به میزان طبیعی و به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی رعایت گردید. درجه حرارت اتاق 23 ± 1 درجه سانتیگراد بود. حیوانات یک ساعت قبل از آزمایش به آزمایشگاه آورده شدند و به طور تصادفی به گروه‌های مورد و شاهد تقسیم شدند. در هر گروه ۶ موش مورد بررسی قرار گرفت.

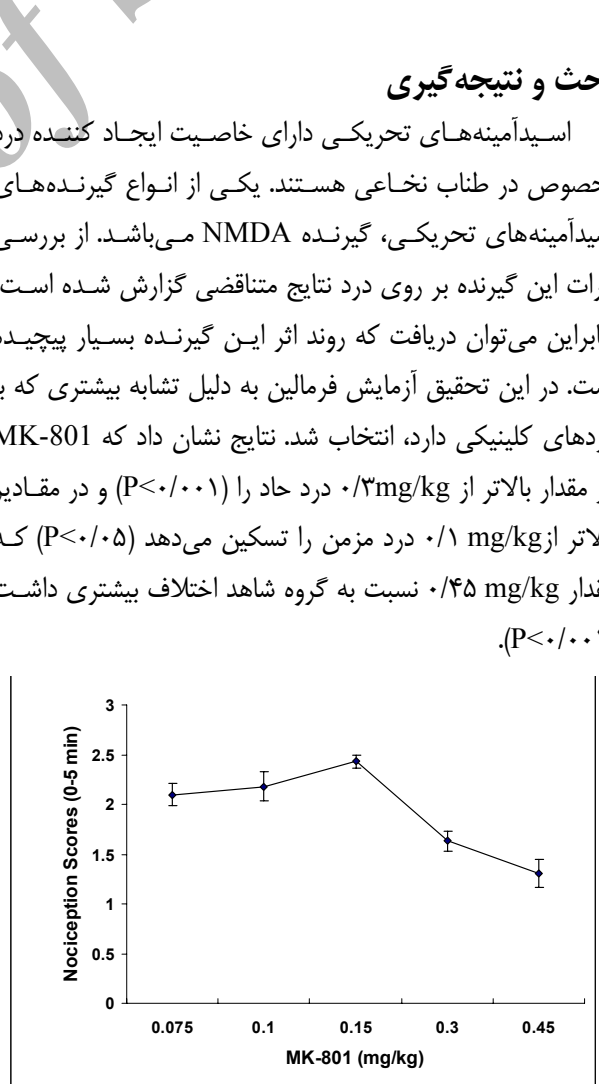
نمودار ۱- اثر دوزهای مختلف MK-801 بر درد حاد



نمودار ۳- منحنی پاسخ دوز MK-801 در درد حاد



نمودار ۲- اثر دوزهای مختلف MK-801 بر درد مزمن



نمودار ۴- منحنی پاسخ دوز MK-801 در درد مزمن

بحث و نتیجه گیری

نتایج تحقیق Berrino و همکاران در سال ۲۰۰۳، نیز تأییدکننده اثر تسکین دهنده درد MK-801 می باشد؛ در مطالعه این محققان، MK-801 با میزانهای ۰/۰۱ و ۰/۰۲۵ mg/kg در موش سوری موجب کاهش درد مزمن شد (۲). گزارش شده است که تزریق فرمالین موجب آزاد شدن گلوتامات و آسپاراتات در شاخ خلفی نخاع می گردد (۳،۴). با اضافه کردن MK-801، پاسخ نرون های شاخ خلفی به تزریق زیرجلدی فرمالین کاهش می یابد (۲،۷،۸). گلوتامات در بیشتر فیبرهای عصبی C که در بردارنده ماده P هستند وجود دارد. تحریک فیبرهای آوران دردزا در محیط ممکن است موجب آزاد شدن تعدادی از پپتیدها به همراه اسید آمینه های تحریکی در طناب نخاعی شود.

آزاد شدن همزمان پپتیدها با اسید آمینه های تحریکی در دپلاریزاسیونی که توسط گیرنده Non-NMDA ایجاد می شود و به این وسیله مهار منیزیم را از روی کانال بر می دارد، شرکت می کند؛ بنابراین اسید آمینه های تحریکی و پپتیدها با هم اما از طریق فرایندهای غیر وابسته به هم عمل می کنند (۱). در مورد روند اثر گیرنده NMDA بر درد نظرات متفاوتی مطرح شده است.

اسید آمینه های تحریکی دارای خاصیت ایجاد کننده درد بخصوص در طناب نخاعی هستند. یکی از انواع گیرنده های اسید آمینه های تحریکی، گیرنده NMDA می باشد. از بررسی اثرات این گیرنده بر روی درد نتایج متناقضی گزارش شده است؛ بنابراین می توان دریافت که روند اثر این گیرنده بسیار پیچیده است. در این تحقیق آزمایش فرمالین به دلیل تشابه بیشتری که با دردهای کلینیکی دارد، انتخاب شد. نتایج نشان داد که MK-801 در مقدار بالاتر از ۰/۳ mg/kg درد حاد را ($P < 0/001$) و در مقادیر بالاتر از ۰/۱ mg/kg درد مزمن را تسکین می دهد ($P < 0/05$) که مقدار ۰/۴۵ mg/kg نسبت به گروه شاهد اختلاف بیشتری داشت ($P < 0/001$).

بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که MK-801 به عنوان یک مهارکننده درد قابل طرح است؛ البته برای پیشنهاد کاربرد بالینی آن به بررسیهای گسترده‌تری نیاز است.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد؛ بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی اعلام می‌گردد؛ همچنین از جناب آقای دکتر فتح‌اللهی و تمامی اساتید و عزیزانی که به نحوی در جهت پیشبرد اهداف این تحقیق، همکاری نمودند، تشکر می‌شود.

به نظر می‌رسد که پروتئین Fos ماده‌ای است که در سطح سلول تنظیم‌کننده روندهایی است که به تغییرات ماندگار نورونی می‌انجامد (۵).

همچنین مطرح شده است که گیرنده NMDA با پیامبرهای ثانویه متعددی نظیر اینوزیتول تری فسفات (IP₃)، آدنوزین منوفسفات حلقوی (CAMP) و گوانوزین منوفسفات حلقوی (CGMP) ارتباط دارد (۳،۴)؛ همچنین احتمال این که تزریق فرمالین باعث تحریک گیرنده‌های NMDA شود و سپس از طریق تداخل با پیامبرهای ثانویه و ثالث درون سلولی (پروتئین‌هایی نظیر Fos) موجب تغییرات ماندگار در عمل نورونی CNS شود، مطرح گردیده است (۱).

منابع:

- 1- Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*. 1992; 51(1):5-17.
- 2- Berrino L, Oliva P, Massimo F, Aurilio C, Maione S, Grella A, Rossi F. Antinociceptive effect in mice of intraperitoneal N-methyl-D-aspartate receptor antagonists in the formalin test. *Eur J Pain*. 2003; 7(2): 131-7.
- 3- Berrino L, Oliva P, Rossi F, Palazzo E, Nobili B, Maione S. Interaction between metabotropic and NMDA glutamate receptors in the periaqueductal grey pain modulatory system. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2001; 364 (5): 437-43.
- 4-Coderre TJ, Vaccarino AL, Melzack R. Central nervous system plasticity in the tonic pain response to subcutaneous formalin injection. *Brain Res*. 1990 Dec 3; 535 (1): 155-8.
- 5- Dickenson AH. A cure for wind up: NMDA receptor antagonists as potential analgesics. *Trends Pharmacol Sci*. 1990; 11(8):307-9.
- 6- Kuraishi Y, Hirota N, Sato Y, Hanashima N, Takagi H, Satoh M. Stimulus specificity of peripherally evoked substance P release from the rabbit dorsal horn in situ. *Neuroscience*. 1989; 30(1):241-50.
- 7- Pearse DD, Bushell G, Leah JD. Jun, Fos and Krox in the thalamus after C-fiber stimulation: coincident-input-dependent expression, expression across somatotopic boundaries, and nucleolar translocation. *Neuroscience*. 2001; 107(1):143-59.
- 8- Ungerer A, Schmitz-Bourgeois M, Melan C, Boulanger Y, Reinbolt J, Amiri I, de Barry J. Gamma-L-glutamyl-L-aspartate induces specific deficits in long-term memory and inhibits [3H]glutamate binding on hippocampal membranes. *Brain Res*. 1988 Apr 19; 446(2):205-11.