

بررسی پاسخ‌های رفتاری و اثر پیش‌درمانی MK-801 و مورفین در مدل درد نوروپاتی SNI در موش صحرایی نر بالغ

غلامعلی حمیدی* (M.D)، هما مناهجی^۱ (M.Sc)، حسینعلی صفاخواه^۳ (M.Sc)

۱- دانشگاه علوم پزشکی کاشان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی - فارماکولوژی

۲- دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب

۳- دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی

چکیده

سابقه و هدف: درد نوروپاتی در نتیجه آسیب به سیستم عصبی ایجاد می‌شود. با توجه به این که درمان‌های دارویی برای دردهای نوروپاتیک به‌طور کامل شناخته نشده و درمان‌های دارویی کنونی چندان مؤثر نیست و مطالعات تجربی نشان داده است که MK-801 به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA در کاهش اثرات ناشی از ضایعه عصب که به دنبال آزاد شدن اسید آمینه‌های تحریکی حادث می‌شود نقش مهمی دارد؛ در این مطالعه برخی ویژگی‌های رفتاری و نیز اثرات پیش‌درمانی MK-801 و مورفین در مدل درد نوروپاتی SNI (Spared nerve injury) مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: این تحقیق به روش تجربی بر روی ۶ گروه ۸-تایی از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد Sprague Dawley در محدوده وزنی ۲۳۰ تا ۲۸۰ گرم انجام شد. در ۴ گروه دریافت‌کننده دارو؛ یک گروه، مورفین (۸ mg/kg، ۳۰ دقیقه قبل از عمل جراحی) و در گروه دیگر MK-801 (۳ mg/kg، ۳۰ دقیقه قبل از عمل جراحی) و دوز تکمیلی به همین میزان ۶ ساعت بعد از عمل جراحی) و در گروه سوم این دو دارو توأم با همان دوز و فاصله زمانی و در گروه چهارم به عنوان شاهد سالیین تجویز گردید. سپس عمل جراحی به روش SNI انجام شد، بدین ترتیب که دو شاخه (Tibia و Common proneal) از سه شاخه عصب گره محکم زده شد سپس حدود ۲ میلی‌متر بعد از گره به طرف دیستال دو شاخه عصب قطع شده و فقط شاخه سورال باقی ماند. پاسخ رفتاری حیوانات به وسیله تست‌های آلودینیای حرارتی و مکانیکی و هایپرالژزیای حرارتی و مکانیکی طی روزهای صفر، ۳، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ پس از جراحی مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز آماری ANOVA تکراری جهت مقایسه نتایج حاصل از تست‌های رفتاری استفاده شد. یافته‌ها: پاسخ‌های رفتاری حیوانات گروه SNI در مقابل گروه شاهد نسبت به تحریکات مکانیکی و حرارتی غیردردناک و آسیب‌رسان افزایش معنی‌داری داشت که این به ترتیب نشان‌دهنده آلودینیای و هایپرالژزیای می‌باشد. تجویز توأم مورفین و MK-801 در مقایسه با گروه سالیین، آلودینیای و هایپرالژزیای را کاهش (بهبود) داد، که این یافته در تست آلودینیای حرارتی طی روز ۱۴ از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: حیوانات در مدل SNI حساسیت شدیدی به محرک‌های حرارتی و مکانیکی غیردردناک و دردناک نشان دادند. ارزیابی حساسیت پاسخ‌های رفتاری به تجویز توأم مورفین و MK-801 مشخص نمود که تجویز آن‌ها یک اثر کاهشی روی دردهای نوروپاتیک ایجاد می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: درد نوروپاتی، آلودینیای، هایپرالژزیای، SNI، MK-801، مورفین

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۳۶۱-۵۵۵۶۸۷۸، فاکس: ۰۳۶۱-۵۵۵۶۸۷۸، E-mail: hamidi@yahoo.com

مقدمه

درد نوروپاتییک به دردی اطلاق می‌شود که به دنبال آسیب به سیستم اعصاب محیطی و مرکزی ایجاد می‌شود، که در مورد آسیب اعصاب محیطی شایع‌تر است. این نوع درد با عوارض متعددی نظیر افزایش حساسیت به محرک‌های دردناک (هایپرالژزیا)، احساس درد نسبت به محرک‌های مکانیکی و حرارتی غیردردناک (آلودینیا) و درد خودبه‌خودی همراه می‌باشد [۱،۲،۳]. مطالعات حاکی از این است که مکانیسم‌های متعددی در بروز دردهای نوروپاتییک دخالت دارند، از جمله ترشح بیش از حد اسیدهای آمینه تحریکی نظیر گلوتامات و آسپاراتات از پایانه آوران اولیه و فعال شدن گیرنده‌های NMDA و non-NMDA که نقش اصلی را در انتقال پیام آوران‌های درد در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک دارند [۴،۵]. جوانه زدن فیبرهای اعصاب جانی، تغییر در تحریک‌پذیری آکسون‌های آسیب‌دیده و تخلیه‌های نابه‌جا را می‌توان اشاره نمود [۶،۷]. در بین این موارد، حساس شدن مرکزی حائز اهمیت بسیار است، لذا هر گاه بتوان حساس شدن مرکزی را مهار نمود گامی مؤثر در درمان دردهای نوروپاتییک برداشته خواهد شد. پیش‌درمانی (Pre-emptive) با داروهای ضد درد، متد درمانی بسیار مناسبی است که از حساس شدن مرکزی جلوگیری می‌نماید. این متد را اولین بار Crile در اوایل قرن بیستم مطرح نمود [۸]، وی از بلوک موضعی به همراه بی‌هوشی عمومی برای جلوگیری از درد و تشکیل اسکارهای دردناک (که به وسیله تغییرات عملکرد سیستم عصب مرکزی ضمن عمل جراحی ایجاد می‌گردد) استفاده نمود [۸]؛ قطع ورودی‌های آوران درد از محل آسیب دیده (با استفاده از مهار کننده‌های انتقال عصبی) باعث کاهش فعال شدن گیرنده‌های NMDA مرکزی می‌شود. این خود در جلوگیری و یا به حداقل رساندن تغییرات سیستم اپیوئیدی مؤثر است زیرا فعالیت گیرنده‌های NMDA باعث پایدار شدن درد و کاهش تأثیر اپیوئیدها برای درمان درد می‌شوند [۹]. مطالعه دیگر بیانگر آن است که کاربرد MK-801 به‌عنوان آنتاگونیست غیررقابتی گیرنده‌های NMDA در کاهش آلودینیا و

هایپرالژزیا اثرات قابل توجهی دارند [۱۰]. در یک مطالعه دیگر مشخص شده است که تجویز آنتاگونیست‌های گیرنده NMDA و آنتاگونیست گیرنده AMPA رفتارهای درد را تسکین نداده است [۱۱]. یکی از جدیدترین روش‌های ایجاد درد نوروپاتی مدل SNI (Spared nerve injury) می‌باشد که توسط Decosterd و Woolf در سال ۲۰۰۰ ارائه شد. از پیامدهای این مدل درد افزایش شدید پاسخ به محرک‌های مکانیکی و حرارتی غیردردناک می‌باشد [۴]. براساس تحقیقات انجام شده Decosterd و همکارانش، به‌دنبال آسیب عصب سیاتیک در مدل SNI علاوه بر وجود دو پدیده آلودینیای مکانیکی و حرارتی، هایپرالژزیا مکانیکی نیز بروز می‌نماید [۱۲]. هم‌چنین آن‌ها در سال ۲۰۰۴ گزارش نمودند که آلودینیای مکانیکی حاصل از مدل SNI ناشی از افزایش حساسیت فیبرهای آوران آسیب‌دیده می‌باشد [۱۲]. با استفاده از این مطالب و اطلاعات ارائه شده، باید استراتژی‌های جدید درمانی برای درمان بهتر دردهای نوروپاتییک و به‌ویژه در برخی از حالات مزمن درد مثل آسیب به عصب و التهاب لحاظ گردد. لذا بر آن شدیم تا در این مدل، درد نوروپاتی (SNI) در رت نر بالغ که علائم درد ایجاد شده طی آن با علائم ایجاد شده درد نوروپاتی محیطی تا حدودی در انسان مطابقت دارد، بررسی نماییم و از طرفی اثرات Pre-emptive دوز واحد و مؤثر MK-801 و مورفین را بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

حیوانات. این مطالعه به روش تجربی و بر روی موش‌های صحرایی نر از نژاد Sprague Dawley (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) در محدوده وزنی ۲۳۰ تا ۲۸۰ گرم انجام شد. آب و غذا به صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار داشت و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در حرارت 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند. قبل از انجام آزمایش، حیوانات به صورت تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند که در هر گروه ۸ موش قرار داشت. در گروه اول پس از بی‌هوش نمودن حیوانات، عصب سیاتیک پای چپ آن‌ها طبق

مدل SNI مورد جراحی قرار گرفت. در گروه شاهد پوست و عضله در ناحیه بالای ران برش داده شد و پس از نمایان شدن عصب سیاتیک بدون دست‌کاری عصب، پوست و عضله با نخ بخیه ۴/۰ سیلک بخیه زده می‌شد. چهار گروه دیگر از حیوانات ابتدا تحت تجویز دارو قرار گرفتند و بعد عمل جراحی SNI بر روی آن‌ها انجام می‌شد.

تجویز دارو. مورفین به میزان ۸ mg و MK-801 به مقدار ۰/۳ mg در یک سی‌سی نرمال سالین حل شد و بعد بر اساس وزن بدن حیوان مورد استفاده قرار گرفت. چهار گروه حیوان تحت تجویز دارو عبارت بودند از: گروه دریافت‌کننده مورفین که یک دوز ۸ mg/kg مورفین را ۳۰ دقیقه قبل از عمل جراحی دریافت نمودند [۱۳]. گروه دریافت‌کننده MK-801 که یک دوز ۰/۳ mg/kg را ۲۰ دقیقه قبل از عمل جراحی و یک دوز تکمیلی به همین میزان، ۶ ساعت بعد از عمل جراحی دریافت نمودند [۱۴]. گروه دریافت‌کننده دو داروی MK-801 + مورفین به صورت توأم، که داروها را با همان مقادیر و زمان‌های ذکر شده در بالا دریافت می‌کردند. گروه دریافت‌کننده سالین با همان حجم و فاصله زمانی سالین دریافت نمودند که به عنوان گروه شاهد گروه‌های دریافت‌کننده دارو محسوب می‌گردید.

روش جراحی مدل SNI. جهت ایجاد مدل SNI روی عصب سیاتیک، ابتدا حیوان بی‌هوش شد، پس از اطمینان از بی‌هوشی کامل، موهای ناحیه ران حیوان در روی پای چپ تمیز گردید. سپس با اسکالپل یک شکاف به طول چند سانتی‌متر روی پوست و عضله حیوان در ناحیه ران ایجاد و براساس مدل ارائه شده توسط Decosterd & Woolf در سال ۲۰۰۰ در ناحیه سه شاخه شدن عصب با استفاده از نخ بخیه چهار صفر سیلک، دو شاخه (Tibia و Common proneal) از سه شاخه عصب گره محکم زده شد. سپس حدود ۲ میلی‌متر بعد از گره به طرف دیستال دو شاخه عصب قطع شد و فقط شاخه سورال باقی ماند. سپس عضله و پوست به‌طور مجزا بخیه زده شد [۴]. در گروه Sham بعد از بی‌هوش نمودن حیوان

موهای بالا و پشت ران کاملاً تراشیده و با استفاده از تیغ بیستوری شکافی به طول چند سانتی‌متر روی قسمت خارج ران پای چپ در محل عصب سیاتیک ایجاد و بعد از رؤیت عصب، بدون هیچ‌گونه دست‌کاری عصب، عضله و پوست دوخته شد. پس از عمل جراحی، حیوان به قفس منتقل و بعد از به‌هوش آمدن به اتاق مخصوص نگهداری حیوانات منتقل گردید. سپس طبق برنامه و پروتکل مربوطه بررسی‌های اعمال رفتاری انجام گرفت.

بررسی اعمال رفتاری. تست‌های رفتاری زیر برای بررسی رفتار حسی حیوانات قبل از جراحی (روز صفر) و ۳، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز بعد از جراحی مورد استفاده قرار گرفت.

۱- آلودینیای حرارتی. جهت مشخص کردن حساسیت حیوان به آلودینیای حرارتی از تست استن استفاده شد. در این روش حیوان بر روی یک شبکه سیمی قرار گرفت و به‌وسیله یک سرنگ انسولین که به جای سوزن آن یک لوله باریک پلی‌پروپیلن قرار داشت یک قطره استن به کف پای چپ حیوان پاشیده شد. این آزمایش ۵ بار و هر بار به فاصله ۳ دقیقه انجام گرفت. در صورتی که با پاشیده شدن استن، حیوان پای خود را بلند می‌کرد پاسخ مثبت و در غیر این صورت پاسخ منفی در نظر گرفته می‌شد. سپس درصد پاسخ از طریق تعداد پاسخ مثبت حیوان نسبت به کل تعداد تحریک محاسبه گردید.

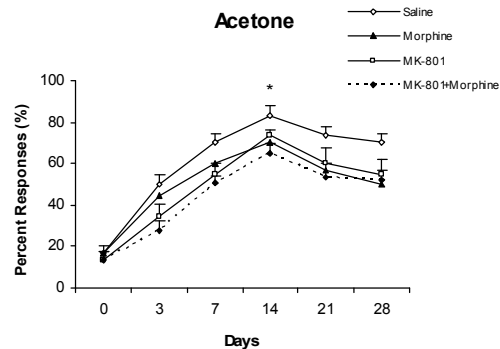
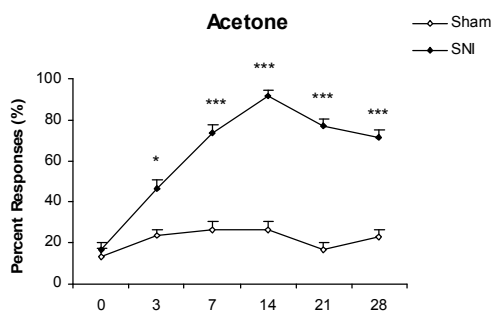
$$R = \frac{\text{تعداد پاسخ مثبت}}{\text{تعداد تحریک}} \times 100$$

۲- آلودینیای مکانیکی. در این تست حیوان بر روی یک شبکه سیمی و در داخل یک محفظه پلکسی‌گلاس به ابعاد ۲۰×۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر قرار می‌گرفت، پس از عادت کردن حیوان به محیط جدید، جهت سنجش آلودینیای مکانیکی، از تارهای مختلف von Frey در محدوده ۲ تا ۶۰ (۲، ۴، ۶، ۸، ۱۵، ۲۶، ۶۰) گرم ساخت شرکت Stolting Inc استفاده شد. هر آزمایش با تار دارای کم‌ترین وزن شروع

Post hoc از نوع تست Tukey جهت تعیین سطح تفاوت معنی دار بین گروه‌ها استفاده شد. در تست هایپراآلژیای حرارتی (Radiant heat) از آزمون آماری Non-parametric (Kruskal-Wallis) استفاده گردید. نتایج به صورت Mean±SEM گزارش و $p < 0.05$ معنی دار تلقی گردید.

نتایج

در مدل درد نوروپاتی SNI، پاسخ حیوانات به تحریکات حرارتی و مکانیکی غیردردناک (که به ترتیب توسط استن و تارهای von Frey اعمال می‌شد) و نیز پاسخ حیوانات نسبت به تحریکات حرارتی دردناک (که به ترتیب توسط Radiant heat و سوزن کند اعمال می‌شد) بررسی گردید.



نمودار ۱. مقایسه پاسخ گروه‌های مختلف به تحریک ناشی از پاشیدن استن (آلودینیای حرارتی) A: مقایسه دو گروه SNI و شاهد را نشان می‌دهد. B: اثرات سالین، مورفین، MK-801 و مورفین+MK-801 را بر روی آلودینیای حرارتی نشان می‌دهد. علامت * نشان‌گر اختلاف معنی دار بین گروه‌های مورفین+MK-801 و سالین می‌باشد.

***: ($p < 0.001$), *: ($p < 0.05$)

می‌شد و در صورت عدم ایجاد پاسخ، به ترتیب از تارهای با وزن بالاتر استفاده می‌گردید. برای ایجاد تحریک هر تار سه بار متوالی به فاصله ۵ ثانیه و هر بار به مدت ۱ ثانیه به بخش جانبی کف پای چپ حیوان فشار داده می‌شد. اگر ۲ بار متوالی پاسخ (بلند کردن همان پا به وسیله حیوان) مشاهده می‌گردید، همان وزن به عنوان آستانه پاسخ محسوب شده و دیگر آزمایش ادامه پیدا نمی‌کرد. در صورتی که حیوان به هیچ‌یک از تارها از جمله تار شماره ۶۰ نیز پاسخ نمی‌داد عدد ۶۰ به عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته می‌شد [۱۵].

۳- هایپراآلژیای حرارتی. با استفاده از دستگاه Radiant heat بخش جانبی کف پای سالم و آسیب‌دیده حیوان در مدل SNI از میان سطح پلکسی گلاس در معرض تشعشع ثابت حرارتی قرار می‌گرفت و زمان پس‌کشیدن پا (Latency) ثبت می‌گردید. تحریکات گرمایی سه مرتبه و با فواصل ۵ تا ۱۰ دقیقه تکرار می‌شد. روش محاسبه پاسخ در ذیل آمده است [۴،۱۶]:

میانگین تأخیر پاسخ در پای راست - میانگین تأخیر پاسخ در پای چپ = تفاوت زمانی پاسخ بین دو پا

۴- هایپراآلژیای مکانیکی. جهت سنجش هایپراآلژیای مکانیکی، حیوان را همانند تست آلودینیای مکانیکی بر روی یک شبکه سیمی قرار داده و ۵ بار متوالی به فاصله ۱۵ ثانیه و به مدت ۱ ثانیه کف پای چپ حیوان با وارد نمودن نیرو توسط سوزن کند یا Pin prick تحریک می‌گردید. در صورتی که حیوان پای خود را بلند می‌کرد به عنوان پاسخ مثبت و در غیر این صورت به عنوان پاسخ منفی در نظر گرفته می‌شد. سپس درصد پاسخ از طریق تعداد پاسخ مثبت حیوان نسبت به کل تعداد تحریک محاسبه می‌گردید.

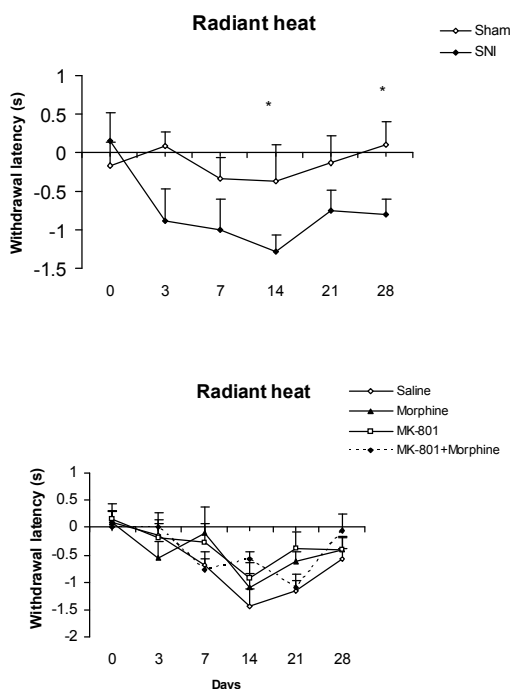
تعداد پاسخ مثبت

$$R = \frac{\text{تعداد پاسخ مثبت}}{\text{تعداد تحریک}} \times 100$$

تعداد تحریک

آنالیز آماری. از نرم‌افزار Statistica و با استفاده از آزمون Repeated measures ANOVA برای مقایسه نتایج حاصل از تست‌های رفتاری استفاده گردید. همچنین از آنالیز

مکانیکی گروه SNI در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری را در روزهای ۳ و ۷ ($p < 0.01$) و ۱۴، ۲۱ ($p < 0.001$) و ۲۸ ($p < 0.01$) بعد از عمل نشان داد (A ۲). مقایسه پاسخ گروه‌های دریافت‌کننده مورفین، MK-801 و گروه مورفین + MK-801 با سالیین نسبت به تحریکات مکانیکی، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (B ۲).

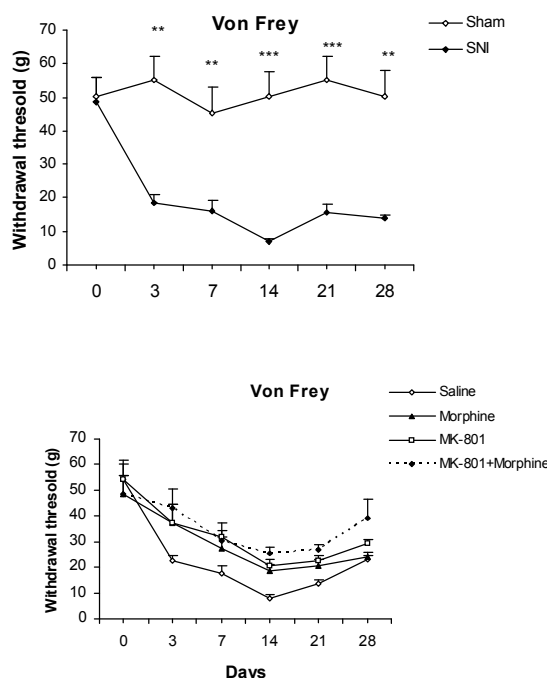


نمودار ۳. مقایسه پاسخ گروه‌های مختلف به تحریک ناشی از اشعه مادون قرمز (هایپرآلترزیای حرارتی). A: مقایسه دو گروه SNI و شاهد را نشان می‌دهد. B: اثرات سالیین، مورفین، MK-801 و مورفین + MK-801 را بر روی آلودینیای حرارتی نشان می‌دهد. $(p < 0.05)$.*

هایپرآلترزیای حرارتی (تست Radiant heat).

تحریکات دردناک ناشی از تابش حرارتی که توسط دستگاه (Radiant heat) plantar test اعمال می‌شد موجب گردید تا حیوانات، ضمن عقب کشیدن پا رفتار تهاجی نظیر تکان دادن و لیسیدن پای تحریک شده را نیز از خود نشان دهند. همان‌گونه که در نمودار ۳ نشان داده شده است؛ نتایج حاصل از تحریکات حرارتی دردناک در گروه SNI نسبت به گروه شاهد در طی روزهای ۱۴ و ۲۸ ($p < 0.05$) اختلاف معنی‌داری را در افزایش رفتار درد نشان می‌دادند (A ۳).

آلودینیای حرارتی (تست استن). همان‌طور که در نمودار A ۱ نشان داده شده است اختلاف معنی‌داری بین دو گروه SNI و شاهد نسبت به پاشیدن استن به کف پای حیوان در روزهای ۳ ($p < 0.05$) و ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ ($p < 0.001$) بعد از عمل وجود داشت. مقایسه پاسخ به تحریکات ناشی از پاشیدن استن در گروه مورفین و MK-801 به تنهایی با گروه سالیین حاکی از این است که اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. ولی اختلاف معنی‌داری بین گروه MK-801 + مورفین با گروه سالیین در طی روز ۱۴ ($p < 0.05$) بعد از عمل نسبت به تست استن وجود داشت (B ۱).



نمودار ۲. مقایسه پاسخ گروه‌های مختلف به تحریک ناشی از تماس von Frey (آلودینیای مکانیکی). A: مقایسه دو گروه SNI و شاهد را نشان می‌دهد. B: اثرات سالیین، مورفین، MK-801 و مورفین + MK-801 را بر روی آلودینیای مکانیکی نشان می‌دهد. $(p < 0.01)$ **، $(p < 0.001)$ ***.

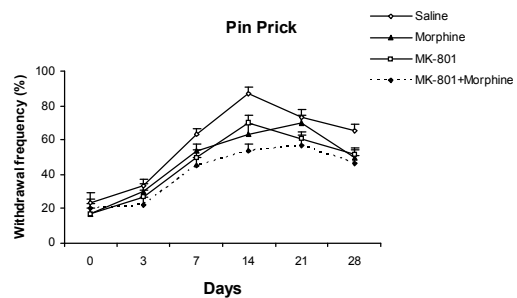
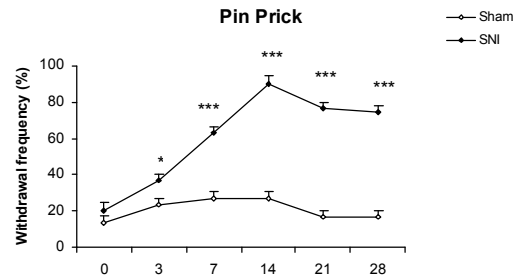
آلودینیای مکانیکی (تست von Frey).

همان‌طوری که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود، حساسیت حیوانات بعد از عمل جراحی نسبت به تحریک مکانیکی غیردردناک که توسط تارهای نازک von Frey اعمال می‌گردید، افزایش یافت. بدین ترتیب که پاسخ به تحریک

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در مدل درد نوروپاتی SNI، پاسخ به محرک‌های حرارتی (سرما) و مکانیکی غیردردناک (پدیده آلودینیا) و محرک حرارتی (گرما) و مکانیکی دردناک (پدیده هایپرآلژیا) افزایش یافته است؛ بدین ترتیب که پدیده‌های آلودینیا و هایپرآلژیا سه روز بعد از عمل جراحی بروز نموده و در روز چهاردهم بعد از عمل جراحی به اوج خود رسید و پس از آن به تدریج کاهش یافت. تجویز مورفین و MK-801 به صورت پیش‌درمانی به تنهایی اثری بر روی آلودینیای مکانیکی و حرارتی و هم‌چنین هایپرآلژیای حرارتی و مکانیکی نداشت، اما تجویز توأم مورفین و MK-801 آلودینیای سرمایی را کاهش داد. گرچه تجویز توأم این دو دارو آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژیای حرارتی و مکانیکی را به میزان مختصری کاهش داد اما از لحاظ آماری معنی دار نبود. Decosterd و همکارانش در سال ۲۰۰۰ گزارش نمودند که در مدل SNI پاسخ افزایش یافته‌ای نسبت به محرک‌های حرارتی و مکانیکی غیردردناک بلافاصله در شروع و ادامه عمل جراحی ایجاد می‌گردد [۴]. هم‌چنین حیوانات جراحی شده حساسیت بالایی نسبت به محرک‌های سرمایی ضعیف نشان می‌دهند که در حالت طبیعی این پاسخ بسیار ناچیز است [۴]. یافته‌های ما نیز با این نتایج مطابقت داشته و در واقع یکی از مشخصه‌های این مدل حساسیت شدید به محرک‌های مکانیکی غیردردناک می‌باشد. بدین ترتیب که یافته‌های ما نیز نشان داد که آلودینیای مکانیکی در مدل SNI در روز سوم بروز می‌نماید و دارای شدت به نسبت بالایی است. در حالی که پدیده آلودینیای حرارتی کمی با تأخیر ایجاد می‌گردد و نسبت به پدیده آلودینیای مکانیکی از سرعت و شدت کم‌تری برخوردار است. حساسیت نسبت به حرارت شدید (هایپرآلژیای حرارتی) با تأخیر و در زمان اوج درد بروز می‌نماید، که این نتایج تا حدود زیادی مطابق یافته‌های محققین دیگر می‌باشد [۴]. یافته‌های ما نشان داد که حیوانات در مدل SNI نسبت به تحریکات دردناک ناشی از اشعه مولد حرارت که به صورت یک نقطه به کف پا تابیده می‌شد و محدوده

مقایسه پاسخ گروه‌های دریافت‌کننده مورفین، MK-801 و مورفین+MK-801 با سالین نسبت به تحریکات حرارتی دردناک در طی روزهای تست، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (۳ B).



نمودار ۴. مقایسه پاسخ گروه‌های مختلف به تحریک ناشی از Pin prick (هایپرآلژیای مکانیکی). A: مقایسه دو گروه SNI و شاهد را نشان می‌دهد. B: اثرات سالین، مورفین، MK-801 و مورفین+MK-801 را بر روی هایپرآلژیای مکانیکی نشان می‌دهد.

***: (p<0.001) *: (p<0.05)

هایپرآلژیای مکانیکی (تست Pin-prick).

همان‌طوری که در نمودار ۴ نشان داده شده است درصد پاسخ به تحریک دردناک با Pin prick در گروه‌های آزمایش افزایش یافته ولی در گروه شاهد تغییر نکرده است. پاسخ به تحریک دردناک مکانیکی گروه SNI نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را طی روزهای ۳ (p<0.05) و ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ (p<0.001) بعد از عمل جراحی نشان می‌داد (۴ A). مقایسه پاسخ گروه‌های آزمایش دریافت‌کننده مورفین، MK-801 و مورفین+MK-801 با سالین در تست هایپرآلژیای مکانیکی طی روزهای آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (۴ B).

معین، دقیق و کوچکی از کف پا در معرض حرارت قرار می‌گرفت واکنش نشان دادند. حیوانات گروه SNI در مقایسه با گروه شاهد در طی روز چهاردهم آزمایش که مصادف با اوج درد بود حساسیت افزایش یافته‌ای را نشان دادند که حاکی از بروز پدیده هایپرآلژیای حرارتی در حیوانات در مدل‌های فوق می‌باشد. Decosterd و همکارانش گزارش نمودند که پاسخ رفتاری در آلودینیای مکانیکی ناشی از افزایش حساسیت فیبرهای آوران آسیب ندیده است [۱۲]. برخی مطالعات، یکی از دلایل مهم بروز هایپرآلژیای حرارتی را کاهش فیبرهای قطور میلینه می‌دانند و معتقدند ارتباط مستقیمی بین هایپرآلژیای حرارتی و میزان آسیب به فیبرهای قطور میلینه وجود دارد [۱۷، ۱۸]. تجویز نوروکسین در حیوانات نوروپاتیکی سبب حذف هایپرآلژیای حرارتی می‌شود ولی آلودینیای مکانیکی باقی می‌ماند، که این نشان‌گر علل زمینه‌ای متفاوت در ایجاد پدیده‌های فوق می‌باشد [۱۶]. در خصوص اثرات اپیویدها به‌عنوان داروهای آنالژیک و نیز پیش‌درمانی با این داروها در کلینیک گزارشات متفاوتی مطرح می‌باشد [۲۰، ۲۱، ۱۹]. مطالعه دیگر بیان‌گر این است که کاربرد MK-801 به‌عنوان آنتاگونیست غیررقابتی گیرنده‌های NMDA به همراه مورفین به‌عنوان آگونیست گیرنده‌های μ در درمان دردهای نوروپاتیکی اثر قابل توجهی دارد [۱۰]. Smith و همکارانش با استفاده از تجویز MK-801 با استفاده از دوز 0.3mg/kg به‌صورت داخل صفاقی قبل از عمل جراحی و مدل Constriction chronic injury (CCI) توانست هایپرآلژیای ناشی از تست مکانیکی را در فواصل زمانی ۱۴، ۲۸ و ۴۲ روز پس از CCI نسبت به گروهی که نرمال سالین گرفته بودند، کاهش دهد [۱۴]. یافته‌های ما نشان از کاهش پاسخ درد در پدیده آلودینیای حرارتی در زمان تجویز MK-801 طی روزهای ۱۴ بعد از عمل داشت، لیکن در سایر تست‌های انجام شده، تأثیر مختصری داشت که از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. شاید دوز داروی مورد استفاده، نحوه تجویز و زمان تجویز دارو سبب اختلاف نتایج ما با یافته‌های دیگران باشد. برخی محققین کاهش تأثیر مورفین در

دردهای نوروپاتیکی را ناشی از کاهش تعداد گیرنده‌های اپیویدی پیش‌سیناپسی می‌دانند که در نتیجه دژنره شدن نرون‌های آوران عصبی ایجاد می‌گردد [۲۲]. در حقیقت کاهش تعداد گیرنده‌های اپیویدی μ ممکن است یک عامل مهم در کاهش کارایی مورفین و آگونیست گیرنده اپیویدی μ باشد [۲۳]. مطالعه دیگر نشان داد که ترشح بیش از حد گلوتامات در حالت‌های التهابی و نوروپاتی سرآغاز یک‌سری از وقایع درون سلولی است که می‌تواند به تغییرات مورفولوژیکی و یا حتی مرگ سلولی بیانجامد [۲۴]. بررسی دیگری حاکی از آن است که تزریق مورفین با دوزهای پائین پاسخ به تحریکات ناشی از فیلامان‌های von Frey و Pin prick و حساسیت به سرما را کاهش می‌دهد. همچنین آنتاگونیست‌های گیرنده NMDA و آنتاگونیست‌های گیرنده AMPA روی رفتارهای درد در مدل SNI بی‌اثر است [۹]. با توجه به گزارشات علمی ذکر شده مبنی بر تداخل گیرنده‌های NMDA و اپیویدی و اثر بخشی بهتر تجویز توأم MK-801 و مورفین در تسکین درد [۲۰، ۱۰]، در این پژوهش نیز نشان داده شده است که تجویز توأم MK-801 و مورفین به‌صورت پیش‌درمانی بر روی کاهش درد نوروپاتیکی نسبت به تجویز هر یک از آن‌ها به‌تنهایی مؤثرتر است. مطالعات سلولی و ملکولی درد برخی از پیامدهای درد نظیر هایپرآلژیای و آلودینیا که در التهاب بافتی و آسیب عصب محیطی (مشابه مدل درد CCI) رخ می‌دهند را با فعال شدن گیرنده‌های NMDA و برخی وقایع درون سلولی مرتبط دانسته است [۲۴]. مطالعه دیگر نشان داد که هایپرآلژیای ناشی از تجویز فرمالین به‌وسیله MK-801 و مورفین درمان می‌گردد و تجویز IT مورفین و MK-801 به‌طور مؤثری در تغییر آلودینیای لمسی درد در مدل L5، L6 مؤثر است [۲۵].

نتیجه‌گیری

اطلاعات ارائه شده در این مقاله نشان داد که در مدل SNI، حیوانات پاسخ رفتاری شدید در مقابل محرک‌های غیردردناک (پدیده آلودینیا) و محرک‌های دردناک معمولی (پدیده هایپرآلژیای) نشان دادند. به نظر می‌رسد که فعالیت رسپتورهای

[10] Martinez V, Christensen D, Kayser V. The glycine/NMDA receptor antagonist (+)-HA966 enhances the peripheral effect of morphine in neuropathic rats. *Pain*, 2002; 99(3):537-45.

[11] Erichsen HK, Blackburn-Munro G. Pharmacological characterisation of the spared nerve injury model of neuropathic pain. *Pain*, 2002; 98(1-2):151-61.

[12] Decosterd I, Allchorne A, Woolf CJ. Differential analgesic sensitivity of two distinct neuropathic pain models. *Anesth Analg*, 2004; 99(2):457-63.

[13] Page GG, McDonald JS, Ben-Eliyahu S. Pre-operative versus postoperative administration of morphine: impact on the neuroendocrine, behavioural, and metastatic-enhancing effects of surgery. *Br J Anaesth*, 1998; 81(2):216-23.

[14] Smith GD, Wiseman J, Harrison SM, Elliott PJ, 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(1-2):79-83.

[15] Kingery WS, Guo TZ, Davies MF, Limbird L, Maze M. The alpha(2A) adrenoceptor and the sympathetic postganglionic neuron contribute to the development of neuropathic heat hyperalgesia in mice. *Pain*, 2000; 85(3):345-58.

[16] Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*, 1988; 33(1):87-107.

[17] Basbaum AI, Gaulton M, Jazat F, Mayes M, Guilbaud G. The spectrum of fiber loss in a model of neuropathic pain in the rat: an electron microscopic study. *Pain*, 1991; 47(3):359-67.

[18] Liu H, Wang H, Sheng M, Jan LY, Jan YN, Basbaum AI. Evidence for presynaptic N-methyl-D-aspartate autoreceptors in the spinal cord dorsal horn. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994; 91(18):8383-7.

[19] Arner S, Meyerson BA. Lack of analgesic effect of opioids on neuropathic and idiopathic forms of pain. *Pain*, 1988; 33(1):11-23.

[20] Dickenson AH, Matthews EA, Suzuki R. Central nervous system mechanisms of pain in peripheral neuropathy. In: Hansson PT, Fields HL, Hill RG, Marchettini P (Eds). *Neuropathic Pain: Pathophysiology and Treatment, Progress in Pain Research and Management*, Vol. 21. Seattle: IASP Press, 2001.

[21] Galer BS. Neuropathic pain of peripheral origin: advances in pharmacologic treatment. *Neurology*, 1995; 45(12 Suppl 9):S17-25; discussion S35-6.

[23] Ossipov MH, Lopez Y, Nichols ML, Bian D, Porreca F. The loss of antinociceptive efficacy of spinal morphine in rats with nerve ligation injury is prevented by reducing spinal afferent drive. *Neurosci Lett*, 1995; 199(2):87-90.

[24] Mayer DJ, Mao J, Holt J, Price DD. Cellular mechanisms of neuropathic pain, morphine tolerance, and their interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999; 96(14):7731-6.

[25] Nichols ML, Lopez Y, Ossipov M.H, Bian D, Porreca F. Enhancement of the antiallodynic and antinociceptive efficacy of spinal morphine by antisera to dynorphin A (1-13) or MK-801 in a nerve-ligation model of peripheral neuropathy. *Pain*, 1997; 69(3):317-22.

NMDA در القا و حفظ درد دخالت داشته باشد، به طوری که تجویز توام MK-801 و مورفین به صورت پیش‌درمانی بر روی پاسخ‌های رفتاری در حیوانات تحت ضایعه فشاری عصب سیاتیک مؤثر بوده و در کاهش درد نوروپاتیکی مدل SNI نقش دارد.

تشکر و قدردانی

این طرح با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان و مرکز علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام گرفته است. بدین وسیله از دانشگاه‌های فوق و مسئولین مربوطه تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

- [1] Bonica JJ. Evolution and current status of pain programs. *J Pain Symptom Manage*, 1990; 5(6):368-74.
- [2] Devor M. Nerve pathophysiology and mechanisms of pain in causalgia. *J Auton Nerv Syst*, 1983; 7(3-4):371-84.
- [3] Merskey H, Bogduk N. Classification of chronic pain: Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain term. 2nd ed. Seattle: IASP Press, 1994.
- [4] Decosterd I, Woolf CJ. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain*, 2000; 87(2):149-58.
- [5] Mayer DJ, Mao J, Holt J, Price DD. Cellular mechanisms of neuropathic pain, morphine tolerance, and their interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999; 96:7731-6.
- [6] Nakamura S, Myers RR. Myelinated afferents sprout into lamina II of L3-5 dorsal horn following chronic constriction nerve injury in rats. *Brain Res*, 1999; 13:285-90.
- [7] Woolf CJ, Shortland P, Coggeshall RE. Peripheral nerve injury triggers central sprouting of myelinated afferents. *Nature*, 1992; 2(355):75-8.
- [8] Crile GW. The kinetic theory of shock and its prevention through anoci-association (shockless operation). *Lancet*, 1913(2): 7-16.
- [9] Mao J. NMDA and opioid receptors: their interactions in antinociception, tolerance and neuroplasticity. *Brain Res Brain Res Rev*, 1999; 30(3):289-304.