# نقش گیرنده های گلوتامینرژیک بر پاسخ ضددردی گاباپنتین در ناحیه نوکی بصل النخاع شکمی میانی موش صحرایی

دکتر عباس حق پرست*، دکتر مینا مبشر**

تاریخ دریافت مقاله : ۸۴/۸/۲۲
تاریخ پذیرش مقاله : ۸۵/۶/۲۵

* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان، دانشکده پزشکی مهندس افضلی پور، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی
** دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان، معاونت پژوهشی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان

Downloaded from zjrms.ir at 20:27 +0430 on Monday June 3rd 2019

## چکیده

**زمینه و هدف :** ناحیه نوکی بصل النخاع شکمی میانی عمده ترین ارسال کننده نرونهای سروتونینرژیک به شاخ خلفی نخاع بوده و نقش مهمی در تعدیل درد در مسیر نزولی به نخاع دارد. سلولهای این ناحیه دارای گیرنده های گلوتامینرژیک هستند. گاباپنتین یک داروی ضد صرع جدید است که کاربردهای ضددردی نیز دارد. در این پژوهش، نقش گیرنده های non-NMDA و NMDA در ناحیه نوکی بصل النخاع شکمی میانی به عنوان یک مرکز فوق نخاعی مهم در تعدیل درد، بر پاسخ ضددردی گاباپنتین مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه از ۵۶ سر موش صحرایی نر نژاد NMRI با وزن تقریبی ۳۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. برای تزریق داخل هسته ای داروهای DNQX (۱µg در ۱µl سالین) و MK-801 (۶µg در ۱µl سالین) به ترتیب بعنوان آنتاگونیست گیرنده non-NMDA و NMDA در ناحیه نوکی بصل النخاع شکمی میانی، حیوانات در دستگاه استریوتاکسی جراحی و کانول گذاری شدند. موشها به ۷ گروه ۸ تایی شامل گروه های دست نخورده، شاهدکاذب، گاباپنتین، گروه DNQX، گروه گاباپنتین+DNQX، گروه MK-801 و گروه گاباپنتین+MK-801 تقسیم شدند. گاباپنتین ۷۵ mg/kg به روش داخل صفاقی تزریق گردید. در هر گروه پس از تزریق داروها، هر ۵ دقیقه یکبار به مدت ۳۰ دقیقه، زمان تأخیر پس کشیدن دم با استفاده از دستگاه tail-flick ثبت شد. جهت بررسی داده ها از حداکثر درصد اثردهی ممکن (%MPE) به عنوان یک شاخص درد استفاده گردید.

**یافته ها :** نتایج نشان داد که تزریق گاباپنتین باعث افزایش زمان تأخیر پس کشیدن دم (۰/۲ ± ۵/۸۶ ثانیه) و حداکثر اثردهی ممکن (۵/۳۵ ± ۳۲/۶۴ درصد) در مقایسه با گروه کنترل (۰/۲۶ ± ۳/۸۱ ثانیه) شد. از طرفی تزریق همزمان گاباپنتین سیستمیک با DNQX و یا MK-801 به روش داخل هسته ای سبب کاهش زمان تأخیر پس کشیدن دم (به ترتیب ۰/۳۶ ± ۵/۴۸ و ۰/۲۶± ۴/۸۵ ثانیه) نسبت به گروه گاباپنتین (کاهش ضددردی) گردید.

**نتیجه گیری :** یافته های این تحقیق نشان داد که احتمالاً اثر ضددردی گاباپنتین از طریق عملکرد آن بر ناحیه نوکی بصل النخاع شکمی میانی و شاخ خلفی نخاع است. اما با مهار گیرنده های non-NMDA در ناحیه فوق توسط DNQX، راههای نزولی این هسته به شاخ خلفی فعال می شوند. بنابراین، گاباپنتین نمی تواند در سطح نخاع عمل کرده و اثر ضد دردی آن کاهش می یابد. مهار گیرنده NMDA در ناحیه نوکی بصل النخاع شکمی میانی توسط MK-801 نیز اثر ضددردی گاباپنتین را کاهش داد. بنابراین بخشی از اثر ضددردی گاباپنتین، احتمالاً از طریق فعال کردن گیرنده NMDA و افزایش رهایش گلوتامات در ناحیه نوکی بصل النخاع شکمی میانی می باشد. **(مجله طبیب شرق، سال هشتم، شماره۲، تابستان ۱۳۸۵، ص ۸۱ تا ۹۱)**

**گل‌واژه ها: نوک بصل النخاع شکمی میانی، گاباپنتین، NMDA، non-NMDA، تعدیل درد، موش صحرایی**

## مقدمه

درد مکانیسمی است که از طریق آن پیام محرک درد آور به سیستم عصبی مرکزی منتقل می شود. در پاتوفیزیولوژی درد یکسری ارتباطات بسیار پیچیده بین ساختمانهای محیطی و مرکزی از سطح پوست تا قشر مغز دخالت دارند.[1] درد یک

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب شهید بهشتی
Email:Haghparast@yahoo.com

Downloaded from zjrms.ir at 20:27 +0430 on Monday June 3rd 2019

مکانیزم دفاعی برای بدن محسوب می شود و هرگاه بافتی دچار آسیب شود، بوجود آمده و موجب می گردد که شخص از خود واکنش نشان داده و محرک درد را از میان بر دارد.[۲] بطور کلی درد تجربه حسی پیچیده ای است که در سطح قشر مغز جامعیت پیدا می کند و سیگنالی که به عنوان درد تفسیر می شود، می تواند در هر نقطه از طریق مسیرهای درد به سمت بالا سیر کند. یکی از اجزاء اصلی سیستم عصبی مرکزی که در کنترل فوق نخاعی انتقال درد نخاعی شرکت دارد، ناحیه نوکی بصل النخاع شکمی میانی [1](RVM) می باشد.[۳ و ۴] RVM منبع اصلی آکسونهایی است که از تنه مغزی شروع شده و از طریق دسته تار پشتی جانبی[۲] به شاخ خلفی نخاع در لایه V که محل آورانهای اولیه درد می باشد ختم می شود. شواهد نشان می دهد که تغییرات در پاسخهای درد به هنگام هوشیاری، توجه و استرس، نتیجه ای از فعالیت شبکه های تعدیل کننده (تشکل تورنیه ای)[۳] می باشد که انتقال پیامهای درد در سیستم اعصاب مرکزی را کنترل می کند.[۵و۶] وجود این شبکه از نظر آناتومیک و فیزیولوژیک شناخته شده است. این شبکه با ساقه مغز و هیپوتالاموس در ارتباط بوده و نرونهای شاخ خلفی را که پاسخ دهنده به درد هستند را کنترل می کند. این شبکه حساس به اوپیوئیدها نیز هست. ناحیه نوکی بصل النخاع شکمی میانی شامل هسته سجافی بزرگ[4] (NRM) در خط وسط و هسته های رتیکولار نوکی شکمی جانبی و ناحیه ژیگانتوسلولاریس در ناحیه جانبی می باشد. تحریک الکتریکی، تزریق درون هسته ای مخدرها و یا اسید آمینه های تحریکی بداخل RVM باعث ایجاد بی دردی و مهار پاسخ نرونی شاخ خلفی نخاع نسبت به محرکهای دردآور می گردد.[۷-۱۰]

RVM یک منطقه ساقه مغز با نقش کاملاً شناخته شده در تعدیل نزولی فرآیند درک درد نخاعی می باشد. آزمایشات نشان داده است که با تحریک الکتریکی این ناحیه، پاسخهای رفتاری به تحریک دردناک متوقف و نرونهای پاسخ دهنده به درد در نخاع و شاخ خلفی مهار می شوند.[۱۱] طبق مطالعات قبلی، ناحیه RVM از طریق پیامهای نزولی عمدتاً سروتونینرژیک خود سبب تحریک نرونهای واسطه انکفالینرژیک لایه V نخاع می شود و این نرونها که با آورانهای حس درد این ناحیه سیناپس مهاری دارند، باعث مهار درد شده و لذا پیام حس درد در این ناحیه مهار می شود.[۳و۱۲]

اکثر پیامهای سروتونینرژیک در هسته متقارن بزرگ و تحت تأثیر آورانهای گلوتامینرژیک نواحی مجاور هسته پاراژیگانتوسلولاریس[۵] و نواحی بالاتر مانند ماده خاکستری دور قناتی (PAG)[۶] در ناحیه مزانسفال می باشد.[۱۳] بنابراین، مسیرهای گلوتامینرژیک در تعدیل پیامهای نزولی ناحیه RVM بطور غیر مستقیم نقش دارند. از طرفی در ناحیه RVM گیرنده های گلوتامینرژیک نیز وجود دارد و به همین دلیل تزریق گلوتامات بداخل آن باعث تعدیل درد می شود.[۱۴] از طرفی داروی گاباپنتین (GBP)[۷] یک داروی ضد صرع جدید است که کاربردهای ضددردی نیز دارد و شواهدی وجود دارد که نخاع به عنوان محل اثر ضددردی آن در برابر محرکهای آزار دهنده عمل می کند. بنظر میرسد که عمل ضددردی این دارو از طریق تأثیر بر میزان آزاد سازی اسیدهای آمینه تحریکی همچون گلوتامات در نواحی نخاعی و فوق نخاعی انجام گردد.[۱۵ و ۱۶] لذا در این تحقیق، اثرات تزریق داخل هسته‌ای آنتاگونیست گیرنده های گلوتامات ([8]NMDAو non-NMDA) در ناحیه RVM به عنوان یک مرکز فوق نخاعی مهم در تعدیل درد، بر

[1] *Rostral ventromedial medulla*
[2] *Dorsolateral fasiculus*
[3] *Reticular formation*
[4] *Nucleus raphe magnus*

[5] *Paragigantocellularis nucleus*
[6] *Periaqueductal gray*
[7] *Gabapentin*
[8] *N-methyl-D-aspartate*

Downloaded from zjrms.ir at 20:27 +0430 on Monday June 3rd 2019

پاسخ ضددردی داروی گاباپنتین که بصورت داخل صفاقی تزریق شد، مورد مطالعه قرار گرفته است.

## روش کار

در این مطالعه از ۵۶ عدد موش صحرایی نر با وزن تقریبی ۳۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. موشها از نژاد NMRI و از مؤسسه رازی ایران خریداری شدند و بعد از یک هفته نگهداری در اطاق حیوانات و عادت کردن به شرایط و محیط جدید تحت مطالعه قرار گرفتند. حیوانات از نظر خوردن غذا و آب محدودیتی نداشتند و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می شدند.

در روز آزمایش، ابتدا حیوان توزین و سپس با استفاده از تیوپنتال سدیم به میزان ۶۰-۴۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش، بصورت داخل صفاقی بیهوش و به دستگاه استریوتاکسی (Steolting; USA) انتقال یافته و بعد از ثابت کردن سر، شکافی طولی از ناحیه بین دو چشم به سمت عقب سر حیوان ایجاد می گردید. سپس بعد از بازکردن پوست، نسوج زیر پوستی و سطح جمجمه تمیز می شد تا نقاط مبنا (برگما و لامبدا) نمایان شود. در این مرحله با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون [۱۷] مختصات ناحیه RVM نسبت به نقطه برگما (۱۱ میلیمتر عقب نسبت به برگما، ۰/۵ میلی متر در سمت راست خط وسط و عمق ۸/۵ میلیمتر) تعیین می گردید. آنگاه در این نقطه، روی سطح جمجمه با استفاده از مته دندانپزشکی سوراخهایی به قطر ۲ میلیمتر ایجاد و سخت شامه به کمک سر سوزن و پنسهای ظریف از سطح مغز برداشته می شد و با استفاده از استریوتاکس یک عدد کانول راهنما (سر سوزن۲۳) به طول ۷/۵ میلیمتر (یک میلیمتر کمتر از عمق ناحیه فوق نسبت به سطح جمجمه) در سوراخ مورد نظر وارد شده تا به نزدیکی محل هسته برسد. بعد از وارد نمودن کانول راهنما برای ثابت کردن آن از سیمان دندانپزشکی و پیچهای کوچک عینک استفاده می شد. برای جلوگیری از انسداد کانول راهنما، از یک رشته سیم فولادی زنگ نزن که به اندازه آن آماده شده بود، استفاده گردید. بعد از عمل جراحی و کانول گذاری، حیوان به مدت یک هفته در همان شرایط نگهداری قبل از جراحی تحت نظر بود تا بهبودی کامل حاصل گردد. در طول این مدت بطور متوالی حیوان کنترل و رشته سیم فولادی داخل کانول در آورده و ناحیه تحت عمل جراحی ضدعفونی می گردید و در پایان هفته، آزمایش بر روی حیوان انجام می گرفت.[۹] در این مطالعه برای تزریق داروهای مورد نظر در ناحیه RVM از یک کانول تزریق (قطر خارجی این کانول به اندازه قطر داخلی کانول راهنما بود) که طول آن ۸/۵ میلیمتر و لوله پلی اتیلن ۲۰ متصل شده به سرنگ یک میکرولیتری هامیلتون استفاده گردید. مدت زمان تزریق برای کلیه داروها یک دقیقه در نظر گرفته شد.

برای ایجاد محرک دردآور از دستگاه درد سنجی (Sparco; Iran) استفاده گردید. دستگاه با پلاریته ۹۰-۰ تنظیم و اشعه در فواصل ۲، ۳ و ۴ سانتیمتری از انتهای دم حیوان تابانده می شد و مدت زمانی که طول می کشید تا حیوان دم خود را از ناحیه تابش دور کند، به عنوان زمان تأخیر پس کشیدن دم اندازه گیری و ثبت می گردید.[۹و۱۰] حداکثر زمان قطع (برای جلوگیری از آسیب بافتی و سوختن دم حیوان) تحریک ۱۰ ثانیه در نظر گرفته شد و جهت بررسی پاسخ دهی داروهای تزریقی به محرک دردآور حرارتی فوق و مقایسه آن با گروه های کنترل، از حداکثر درصد اثردهی ممکن که فرمول آن به شرح زیر می باشد، استفاده گردید:[۱۸]

$$\%\ MPE = \frac{\text{(زمان پاسخ پایه - زمان تأخیر در پاسخ پس از تزریق ماده مورد نظر)}}{\text{(Cut-off Point - زمان پاسخ پایه)}} \times ۱۰۰$$

در این مطالعه ۷ گروه ۸ تایی موش صحرایی بطور تصادفی انتخاب و به گروه های دست نخورده (Intact)، شاهدکاذب

Downloaded from zjrms.ir at 20:27 +0430 on Monday June 3rd 2019

(Sham-operated)، گروه گاباپنتین، گروه DNQX (آنتاگونیست گیرنده non-NMDA)، گروه گاباپنتین+ DNQX، گروه MK-801 (آنتاگونیست گیرنده NMDA) و گروه گاباپنتین + MK-801 تقسیم شدند. در گروه دست نخورده، موشهای صحرایی بدون هیچگونه عمل جراحی و بعد از عادت کردن به محفظه نگهداری و برای دستیابی به زمان پاسخ پایه، در دقایق ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ [۹و۱۰] مورد آزمون پس کشیدن دم قرار گرفتند. در گروه Sham-operated، بعد از عمل جراحی و کانول گذاری، آزمون طبق روش فوق انجام شد و سپس سالین به میزان ۱ میکرولیتر در ناحیه RVM تزریق شد و مجدداً حیوان در دقایق ۲، ۷، ۱۲، ۱۷، ۲۲ و ۲۷ پس از تزریق [۹] مورد آزمون TF قرار گرفت.

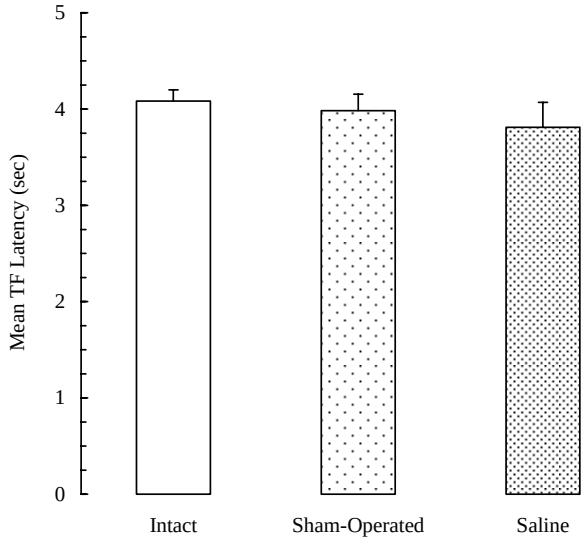
در گروههای دارویی گاباپنتین، DNQX و MK-801 نیز مانند گروه Sham-operated آزمون TF در دو مرحله قبل و بعد از تزریق دارو با دوزهای مشخص (گاباپنتین ۷۵ mg/kg داخل صفاقی، DNQX یک میکروگرم در ۱ میکرولیتر سالین بصورت داخل هسته ای و MK-801 شش میکروگرم در ۱ میکرولیتر سالین بصورت داخل هسته ای) در دقایق مورد نظر آزمون انجام شد. در گروه DNQX + گاباپنتین، آزمون TF یک مرحله قبل از تزریق صورت گرفت و سپس DNQX با همان دوز داخل هسته RVM (۱µg/۱µl) یک دقیقه پیش از تزریق گاباپنتین (۷۵ mg/kg داخل صفاقی) تزریق شد. آنگاه دو دقیقه پس از تزریق داخل هسته ای DNQX، مجدداً آزمون TF در دقایق فوق به مدت ۳۰ دقیقه، هر ۵ دقیقه یکبار انجام گردید. در گروه MK-801 + گاباپنتین، موشها مانند گروه قبل مورد بررسی قرار گرفتند و در ناحیه RVM، MK-801 با دوز ۶µg/۱µl تزریق گردید. بعد از انجام آزمایشات لازم در تمام گروههای آزمایشی که کانول گذاری شده بودند، تزریق ماده رنگی پونتامین اسکی بلو به میزان یک میکرولیتر انجام شد. در این مرحله حیوان با استفاده از دوز کشنده تیوپنتال سدیم کشته شده و مغز حیوان پس از بیرون آوردن به مدت سه روز در فرمالین ۱۰٪ قرار داده می شد. سپس از آنها، برشهای ۱۰۰-۵۰ میکرومتری تهیه و از نظر صحت ناحیه کانول گذاری بررسی گردید. چنانچه محل کانول گذاری و تزریق مواد درست بود، اطلاعات مربوط به آن موش استفاده و در غیر این صورت، داده های آن کنار گذاشته می شدند. در روشهای آماری برای مقایسه تفاوت زمان تأخیر پس کشیدن دم و MPE در گروهها و یا دقایق مختلف از آنالیز واریانس (ANOVA) و پس آزمون Tukey استفاده گردید. از طرفی جهت بررسی اختلاف درون گروهی از ANOVA مدل Repeated measures استفاده گردید که با پس آزمون Tukey همراه بود. برای مقایسه میانگین زمان تأخیر در گروههای مختلف از T-test یا t-test Paired استفاده و سطح معنی داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد. در تمامی موارد داده ها به شکل میانگین ± میانگین خطای استاندارد (Mean ± SEM) نشان داده شده اند.

## یافته ها

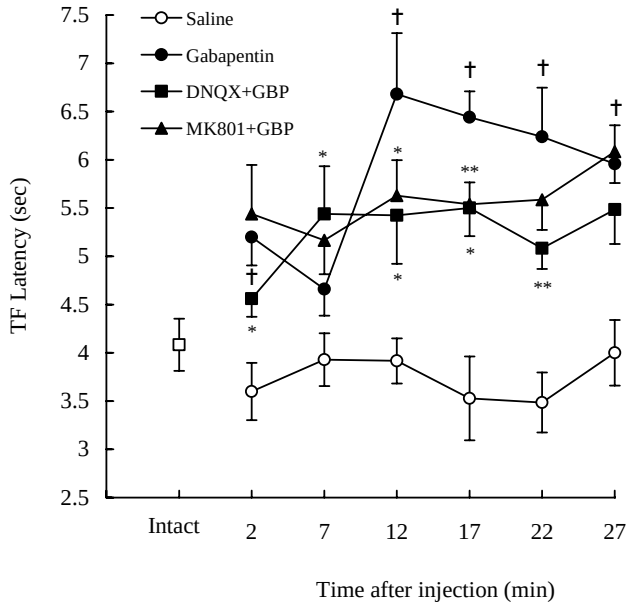
مقایسه زمان تأخیر پس کشیدن دم در گروههای کنترلی، هیچگونه اختلاف معنی داری را بین گروههای دست نخورده (Intact)، شاهدکاذب (Sham-operated) و سالین نشان نداد (نمودار ۱). لذا گروه سالین در کلیه آزمونهای آماری به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد.

با تزریق داخل صفاقی گاباپنتین (GBP) زمان تأخیر پس کشیدن دم (۰/۲ ± ۵/۸۶ ثانیه) و درصد MPE (۵/۳۵ ± ۳۲/۶۴٪) افزایش قابل ملاحظه ای نسبت به گروه سالین نشان داد. این افزایش بویژه از دقیقه ۱۲ پس از تزریق بسیار چشمگیر بوده و تا دقیقه ۲۷ آزمایش مشاهده گردید (نمودار ۲). از طرفی هنگامیکه همراه با تزریق داخل هسته ای آنتاگونیستهای non-NMDA و یا NMDA، گاباپنتین سیستمیک (داخل صفاقی) تزریق شد، تأثیر مهار گیرنده های گلوتامینرژیک بر پاسخ ضددردی GBP بطور واضح مشخص گردید (نمودار ۲).

Downloaded from zjrms.ir at 20:27 +0430 on Monday June 3rd 2019




**نمودار ۱ :** نقش عمل جراحی و تزریق درون هسته ای سالین در ناحیه RVM بر زمان تاخیر پس کشیدن دم (TFL). مطابق شکل، تزریق سالین و عمل جراحی تأثیری بر TFL ندارند. جهت تجزیه و تحلیل آماری داده ها از آنالیز واریانس مدل Repeated measures استفاده شده است.داده ها بصورت میانگین ± میانگین خطای معیار (Mean ± SEM) بیان شده اند.

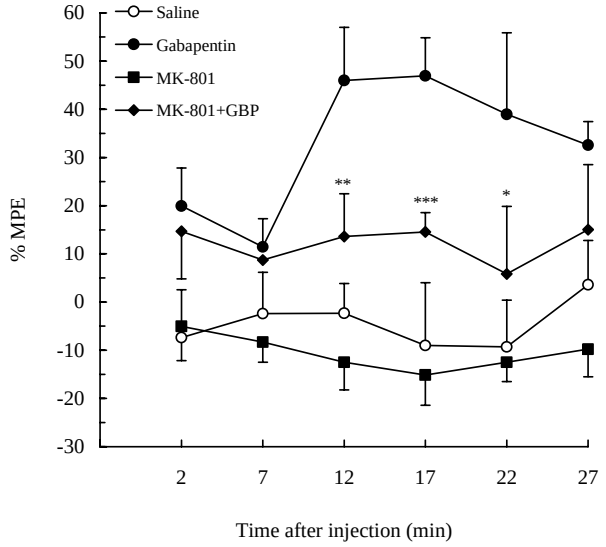



**نمودار ۲ :** تأثیر تزریق داخل صفاقی گاباپنتین به تنهائی و همزمان با تزریق درون هسته ای آنتاگونیست گیرنده های گلوتامات (MK-801 و DNQX) در ناحیه RVM بر زمان تأخیر پس کشیدن دم (TFL). تزریق داخل صفاقی گاباپنتین باعث افزایش قابل ملاحظه TFL نسبت به گروه سالین شد. جهت تجزیه و تحلیل آماری داده ها از آنالیز واریانس مدل Repeated measures و متعاقب آن پس آزمون Tukey استفاده شده است.

† $P<0/0001$ نسبت به گروه سالین (Saline) * $P<0/05$ و ** $P<0/01$ نسبت به گروه گاباپنتین

Downloaded from zjrms.ir at 20:27 +0430 on Monday June 3rd 2019

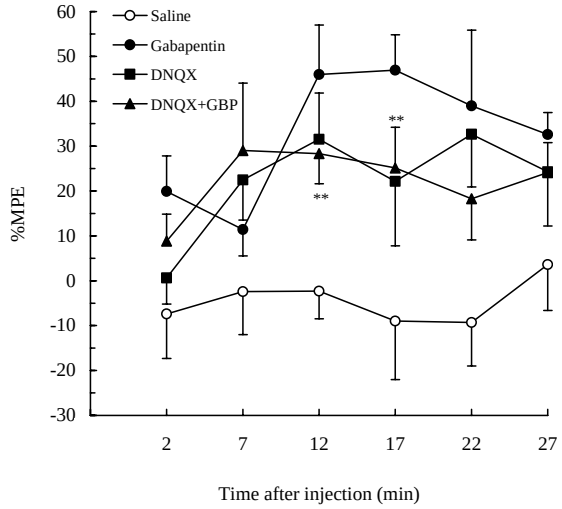
با تزریق داخل هسته ای DNQX (آنتاگونیست گیرنده non-NMDA) و MK-801 (آنتاگونیست گیرنده NMDA) تأثیر این داروها بر سیستم تعدیل درد در ناحیه RVM مورد بررسی قرار گرفت. مهار گیرنده NMDA در ناحیه RVM بر زمان تأخیر پس کشیدن دم (۰/۱۷ ± ۳/۰۱ ثانیه) اثر کاهشی واضحی نداشت و درصد MPE نیز با مهار گیرنده NMDA در ناحیه RVM به میزان ۳/۶ ± ۱۰/۵۳ درصد کاهش نشان داد که در مقایسه با گروه سالین از نظر آماری معنی دار نبود. این در حالی است که مهار گیرنده NMDA در ناحیه RVM توسط MK-801 همراه با تزریق سیستمیک GBP، پاسخ ضددردی گاباپنتین را بطور قابل ملاحظه ای کاهش داد. بطوری که زمان تأخیر پس کشیدن دم در مقایسه با گروه GBP، به ۰/۲۶ ± ۴/۸۵ ثانیه و درصد MPE به ۸ ± ۱۳/۴۶٪ رسید و این کاهش بویژه در دقایق ۱۲، ۱۷ و ۲۲ پس از تزریق درون هسته ای MK-801 معنی دار بود (نمودار ۳). مهار گیرنده non-NMDA در ناحیه RVM زمان تأخیر پس کشیدن دم (۰/۳۹ ± ۵/۵۶ ثانیه) را نسبت به گروه سالین (۰/۲۶ ± ۳/۸۱ ثانیه) بطور معنی داری افزایش داد (نمودار ۴). این در حالی است که مهار گیرنده non-NMDA در ناحیه RVM توسط DNQX همراه با تزریق داخل صفاقی گاباپنتین، باعث کاهش زمان تأخیر پس کشیدن دم (۳۶/ ۰± ۵/۴۸ ثانیه) و درصد MPE (۱۰/۸ ± ۲۵/۲۸٪) نسبت به گروه گاباپنتین به تنهائی شد. اما این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود و تنها کاهش درصد MPE این گروه در دقایق ۱۲ و ۱۷ بعد از تزریق درون هسته ای DNQX نسبت به گروه GBP معنی دار بود (نمودار ۴؛ P<۰/۰۱)




**نمودار ۳ : تأثیر MK-801 (آنتاگونیست گیرنده NMDA) تزریق شده در هسته RVM بر پاسخ ضددردی گاباپنتین سیستمیک (داخل صفاقی). تزریق درون هسته ای MK-801 همراه با تزریق داخل صفاقی گاباپنتین باعث کاهش معنی داری در درصد MPE نسبت به گروه گاباپنتین (به تنهائی) شده است. این کاهش در دقایق ۱۲، ۱۷ و ۲۲ معنی دار بوده است. جهت تجزیه و تحلیل آماری داده ها از آنالیز واریانس مدل Repeated Measures استفاده شده است. داده ها بصورت میانگین ± میانگین خطای معیار (Mean ± SEM) بیان شده اند.**

*** P<۰/۰۵ و ** P<۰/۰۱ و *** P<۰/۰۰۰۱ نسبت به گروه گاباپنتین**

Downloaded from zjrms.ir at 20:27 +0430 on Monday June 3rd 2019




**نمودار ۴ : تأثیر DNQX (آنتاگونیست گیرنده non-NMDA) تزریق شده در نامیه RVM بر پاسخ ضددردی گاباپنتین داخل صفاقی. داده ها نشان داد که تزریق درون هسته ای DNQX همراه با تزریق داخل صفاقی گاباپنتین باعث کاهش معنی داری در درصد MPE نسبت به گروه گاباپنتین (به تنهائی) شده است. این کاهش در دقایق ۱۲ و ۱۷ پس از تزریق معنی دار بوده است. جهت تجزیه و تحلیل آماری داده ها از آنالیز واریانس مدل Repeated measures و متعاقب آن پس آزمون Tukey استفاده شده است.P<۰/۰۱ ** نسبت به گروه گاباپنتین**

## بحث

یافته های بدست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که گاباپنتین دارای اثرات ضددردی قابل ملاحظه ای است و تزریق همزمان آنتاگونیست گیرنده های NMDA (MK-801) و یا non-MNDA (DNQX) در ناحیه نوکی بصل النخاع شکمی میانی (RVM) سبب کاهش اثرات ضددردی گاباپنتین سیستمیک می گردد. RVM شامل چندین هسته از جمله هسته سجافی بزرگ (NRM) است که عمده ترین ارسال کنندهٔ نرونهای سروتونینرژیک به شاخ خلفی نخاع بوده و نقش مهمی در فرآیند تعدیل درد در مسیر نزولی به نخاع اعمال می کند.[۱۲ و ۱۸] تزریق درون هسته ای گلوتامات بداخل PAG (ماده خاکستری دور قناتی) و NRM، باعث افزایش آستانهٔ درد در موش صحرایی می شود و از طرفی مهار گیرنده NMDA بوسیله تزریق درون هسته ای MK-801 بداخل NRM و RVM باعث کاهش اثر ضـددردی بوجود آمده به وسیلهٔ تزریق سیستمیک مرفین و هم چنین مرفین تزریق شده بداخل PAG می گردد.[۱۹-۲۱] در این تحقیق تزریق درون هسته ای MK-801 بداخل RVM باعث کاهش در زمان تأخیر پس کشیدن دم و کاهش درصد MPE شد. لذا یافته های فوق نشان می دهد که بخشی از اثرات ضددردی ایجاد شده بوسیله هسته RVM بواسطه گیرنده NMDA اعمال می شود. مطالعات پیشین نشان داده که RVM از سه گروه سلولی تشکیل شده است. سلول on که در تسهیل انتقال درد نقش دارد و فعالیت ناگهانی را درست قبل از رفلکس پس کشیدن دم نشان می دهد. سلول off که فعالیت آن قبل از رفلکس پس کشیدن دم متوقف می شود و در مهار انتقال درد دخالت دارد و سلولهای خنثی که نقش آنها در انتقال درد شناخته شده نیست.[۱۱] مهار گیرنده non-NMDA بوسیلهٔ تزریق درون هسته ای DNQX و یا CNQX بداخل RVM فعالیت سلولهای on را کاهش می دهد. این در حالی

Downloaded from zjrms.ir at 20:27 +0430 on Monday June 3rd 2019

است که در بعضی از مطالعات، زمان تأخیر پس کشیدن دم پس از تزریق درون هسته‌ای آنتاگونیست non-NMDA در RVM بطور قابل ملاحظه ای تغییر نیافته است.[۱۶ و ۲۲] از طرفی مطالعات دیگری نشان داده اند که تزریق درون هسته‌ای آنتاگونیست non-NMDA گیرنده در RVM و NRM باعث کاهش آستانهٔ درد (حساسیت به درد) می شود.[۲۳] اساس این تفاوتها هنوز مشخص نشده است. در این مطالعه تزریق درون هسته ای DNQX بداخل RVM باعث افزایش معنی داری در زمان تأخیر پس کشیدن دم نسبت به گروه کنترل شد که می توان آن را به کاهش فعالیت سلولهای on توسط DNQX نسبت داد.

محققین نشان داده اند که GBP در لایه سطحی شاخ خلفی نخاع مهار آزاد سازی گلوتامات را بصورت پیش سیناپسی انجام می دهد. درحالی که لایه عمقی شاخ خلفی نخاع آزاد سازی گلوتامات را بصورت پس سیناپسی افزایش می دهد و به دلیل اثر ضد دردی این دارو به نظر می رسد که عملکرد آن در مهار آزاد سازی اسیدهای آمینه تحریکی از لایه سطحی شاخ خلفی نخاع بارزتر باشد.[۱۰ و ۱۵] در این مطالعه تجویز سیستمیک (داخل صفاقی) گاباپنتین همزمان با تزریق سالین در هسته RVM، باعث افزایش قابل ملاحظه و معنی داری در زمان تأخیر پس کشیدن دم و درصد MPE نسبت به گروه سالین گردید. تأثیر ضددردی GBP سیستمیک را می توان به عملکرد آن در سطح نخاع و RVM مربوط دانست. به این ترتیب که در سطح نخاع مهار آزاد سازی گلوتامات را انجام می دهد و از انتقال پیامهای درد جلوگیری می کند.[۱۵] ضمناً در سطح RVM ممکن است گاباپنتین با افزایش آزاد سازی گلوتامات سبب فعال شدن گیرنده NMDA و کاهش فعالیت on-cell ها شود و لذا عملکرد آنها در تسهیل درد از بین رود. از طرفی ارتباط مهاری بین سلولهای on و off که باعث مهار سلولهای off می‌شود، نیز برداشته شده و تحریک پذیری سلولهای off بیشتر اعمال میگردد.[۹، ۲۰، ۲۳] حال هنگامیکه گیرنده NMDA بواسطه تزریق درون هسته ای آنتاگونیست آن (MK-801) بداخل RVM مهار می شود، اثر ضددردی GBP تزریق شده بصورت سیستمیک بطور معنی داری کاهش می یابد و لذا می توان نتیجه گرفت که قسمتی از اثر ضددردی GBP سیستمیک بر اثر افزایش گلوتامات در سطح RVM و غیر فعال کردن سلولهای on باشد.[۸ و ۱۱] از طرفی چون با مهار گیرنده های NMDA هنوز اثر ضددردی GBP ادامه دارد، احتمالاً GBP از راه دیگری نیز اثر ضددردی خود را اعمال می کند که ممکن است تأثیر بر شاخ خلفی نخاع باشد. طبق مطالعات انجام شده GBP و آنتاگونیست non-NMDA در موقع تزریق داخل نخاعی اثر سینرژیسم در کاهش درد نوروپاتیک دارند [۱۶] و لذا نخاع یکی از مکانهای اثر ضددردی گاباپنتین محسوب می شود. در این مطالعه زمان تأخیر پس کشیدن دم هنگامی که GBP بصورت سیستمیک و DNQX در هسته RVM تزریق شده است، تفاوت چندانی با زمانی که DNQX به تنهائی در هسته تزریق شده، ندارد که شاید بتوان آن را به عمل DNQX نسبت داد که با مهار گیرنده non-NMDA در سطح RVM باعث فعال شدن راههای نزولی مؤثر بر شاخ خلفی نخاع شده و با غیر فعال کردن سلولهای on، اثر آنها را بر تسهیل درد از بین برده است. علاوه بر این درصد MPE نیز در این گروه به طور معنی داری کمتر از زمانی است که تنها GBP بصورت سیستمیک تجویز شده است که می توان آن را به همین عملکرد DNQX نسبت داد. به این ترتیب احتمالاً GBP سیستمیک فقط از طریق گیرنده NMDA در RVM عمل می کند و نمی تواند بر شاخ خلفی نخاع اثر بگذارد.

## سپاسگزاری

نویسندگان بر خود واجب می دانند که از همکاران در مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان، پرسنل بخش نگهداری حیوانات آن مرکز و سرکار خانم تاج پری کلانتری پور برای همکاری صمیمانه در طول این تحقیق، کمال تشکر و قدردانی را بنمایند.

Downloaded from zjrms.ir at 20:27 +0430 on Monday June 3rd 2019

## *References* منابع


1. Furst SO. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. Brain Res Bull 1999; 48: 129-41.
2. Dubner R. The neurobiology of persistent pain and its clinical implications. Suppl Clin Neurophysiol 2004; 57: 3-7.
3. Fields HL, Heinricher MM, Mason P. Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits. Annu Rev Neurosci 1991; 14: 219-45.
4. Gaun Y, Guo W, Robbins MT, Dubner R, Ren K. Changes in AMPA receptor phosphorylation in the rostral ventromedial medulla after inflammatory hyperalgesia in rats. Neurosci Lett 2004; 366: 201-5.
5. Minowa S, Ishihara S, Tsuchiya S, Horie S, Watanabe K, Murayama T. Involvement of glutamate and gamma-amino-butyric acid receptor systems on gastric acid secretion induced by activation of kappa-opioid receptors in the central nervous system in rats. Br J Pharmacol 2003; 138: 1049-58.
6. Zanchet EM, Longo I, Cury Y. Involvement of spinal neurokinins, excitatory amino acids, proinflammatory cytokines, nitric oxide and prostanoids in pain facilitation induced by Phoneutria nigriventer spider venom. Brain Res 2004; 1021: 101-11.
7. Richter RC, Behbahani MM. Evidences for glutamic acid as a possible neurotrans-mission between the mesencephalic nucleus cuniformis and medullary neucleus raphe magnus in the lightly anesthetized rat. Brain Res 1991; 544: 279-86.
8. Heinricher MM, Roychowdhary SM. Reflex related activate of putative pain facilitation neurons in RVM requires excitatory amino acid transmission. Neuroscience 1997; 78 : 1159-65.
9. Heinricher MM, Mc Garanghtys, Farr DA. The role of excitatory amino acid transmitter within the RVM in the nociceptive actions of systemically administered morphine. Pain 1999; 81: 557-65.
10. Heinricher MM, Kaplan HL. GABA mediated inhibition in rostral ventromedial medulla: role in nociceptive modulation in the light anesthetized rat. Pain 1991; 47: 105-13.
11. Heinricher MM, Barboro MN, Howard L, Fields HL. Putative nociceptive modulating neurons in the rostral ventromedial medulla of the rat: Firing on- and off-cells is related to nociceptive responsiveness. Somatosense Mot Res 1989; 6: 427-39.
12. Tao R, Auerbach SB. mu-Opioids disinhibit and kappa-opioids inhibit serotonin efflux in the dorsal raphe nucleus. Brain Res 2005; 1049: 70-9.
13. Morgan MM, Heinricher MM, Fields HL. Circuity linking opioid sensitive nociceptive modulatory system in PAG and spinal cord with RVM. Neuroscience. 1992; 47: 803-71.

14. Pan ZZ, Fields HL. Endogenous opioid-mediated inhibition of putative pain modulating neurons in rat rostral ventromedial medulla. Neuroscience 1996; 74: 855-62.
15. Shimoyama M, Shimoyama N, Hori Y. Gabapentin effects glutaminergic excitatory neurotransmission in the rat dorsal horn. Pain 2000; 85: 405-14.
16. Chen SR, Eisenach JC, Mccaslin PP, Pan HL. Synergistic effect between intrathecal non-NMDA antagonist and gabapentin on allodynia induced by spinal nerve ligation in Rats. Anesthesiology 2000; 92: 500-6.
17. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd ed. San Diego, California: Academic Press; 1986.
18. Urban MO, Smith DJ. Nuclei within the rostral ventromedial medulla mediating morphine antinociception from the periaqueductal gray. Brain Res 1994; 652: 9-16.
19. Heinricher MM, Schouten JC, Jobst EE. Activation of brainstem N-methy-D-aspartate receptors is required for the analgesic action of morphine given systemically. Pain 2001; 92: 112-38.
20. Javanmardi K, Parviz M, Sadr SS, Keshavarz M, Minaii B, Dehpour AR. Involvement of N-methyl-D-aspartate receptors and nitric oxide in the rostral ventromedial medulla in modulating morphine pain-inhibitory signals from the periaqueductal grey matter in rats. Clin Exp Pharmacol Physiol 2005; 32: 585-9.
21. Tseng LF. Evidence for opioid receptor mediated endorphin induced analgesia. Rev Tren Pharmacol Sci 2001; 22: 623-30.
22. Spinella M, Cooper ML, Bodnar RJ. Excitatory amino acid antagonists in the rostral ventromedial medulla inhibit mesencephalic morphine analgesia in rats. Pain 1996; 64: 545-52.
23. Countinho SV, Urban MO, Gebhart GF. Role of glutamate receptors and nitric oxide in the rostral ventromedial medulla in visceral hyperalgesia. Pain 1998; 78: 59-69.

Downloaded from zjrms.ir at 20:27 +0430 on Monday June 3rd 2019

Downloaded from zjrms.ir at 20:27 +0430 on Monday June 3rd 2019

# *Role of glutaminergic receptors in the rostral ventromedial medulla on antinociceptive effect of gabapentin in rat*

**Haghparast A., PhD*; Mobasher M., MD****

***Background:*** *Rostroventromedial medulla (RVM) is the most principal source of serotoninergic neurons to the dorsal horn of the spinal cord and it has important role in pain modulation. Rostroventromedial medulla neurons have glutaminergic receptors. Gabapentin is a novel anticonvulsant drug, which has antinociceptive used. Therefore, in the present study, we investigated the role of glutaminergic receptors in rostroventromedial medulla as an important supraspinal center, on antinociceptive effect of gabaoentin in rat.*

***Methods and Materials:*** *In this study, 56 NMRI male rats weighing 250-300 gr has been used. Surgical procedure and rostroventromedial medulla cannulation was done in stereotaxic apparatus for intranuclear injection of DNQX (1μg/μl saline) and/or MK-801 (6μg/μl saline) into this area as non-NMDA and NMDA antagonists, respectively. Animals were divided to 7 groups as Intact, Sham-operated, Gabepentin, DNQX, Gabapentin+ DNQX, MK-801 and Gabapentin+MK-801. Gabapentin was injected intraperitoneally (75mg/kg). Then tail-flick latency was recorded for 30 min in 5 min-intervals by tail flick analgesiometer. We used maximal possible effect of drug as an index for its analgesic effect.*

***Results:*** *Gabapentin increases tail flick latency (5.86 ± 0.2 Sec) and maximal possible effect (32.64% ± 5.35) in compared to control group (3.81 ± 0.26 Sec). On the other hand, DNQX and/or MK-801 microinjection in combination with gabapentin, decreased tail flick latency (5.48 ± 0.36 and 4.85 ± 0.26 Sec, respectively) as compared to gabapentin group.*

***Conclusions:*** *These findings have been shown that a part of antinociceptive action of gabapentin is done through the rosroventromedial medulla. DNQX inhibits non-NMDA receptors in this area and activates its descending pathways to the dorsal horn of the spinal cord. Therefore, gabapentin can not be affected on the spinal cord and so, analgesic action of gabapentin is reduced. MK-801 inhibits NMDA receptors in rosroventromedial medulla and it also decreased analgesic effect of gabapentin. It's possible that gabapentin enhances glutamate release and activates NMDA receptors in the rosroventromedial medulla.*

***KEY WORDS:*** *Rostroventromedial medulla, Gabapentin, NMDA, non-NMDA, Pain modulation, Rat*

*** Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran**
**** Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran**