بررسی دخالت رسپتورهای NMDA در اثر ضد دردی ویتامین C در یک مدل درد نوروپاتیک

*دکتر فریناز نصیری‌نژاد I

سپیده صفارپور II

چکیده

زمینه و هدف: اسید آسکوربیک (Ascorbic Acid-AA)، با غلظت زیاد در سیستم عصبی وجود دارد و به‌دنبال فعالیت نورون‌های گلوتامینرژیک آزاد می‌شود. از آنجا که رسپتورهای NMDA (N-methyl-D-aspartic acid) به میزان زیاد در سیستم عصبی وجود دارند، هدف مطالعه حاضر بررسی اثر ضد دردی اسید آسکوربیک و نقش رسپتورهای NMDA در ایجاد این اثرات در مدل درد نوروپاتیک می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه که از نوع تجربی می‌باشد، جهت ایجاد درد بر طبق مدل CCI (Chronic Constriction Injury) عصب سیاتیک در پای چپ موش‌های صحرایی تحت فشار قرار گرفت. در هفته دوم پس از CCI حیوانات ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن(mg/kg) محلول ویتامین C و یا نرمال سالین دریافت کردند و ۱۵ و ۳۰ دقیقه پس از آن تست‌های سنجش درد در مورد آن‌ها انجام گرفت. .جهت بررسی نقش رسپتورهای NMDA در فرآیند ضد دردی آسکوربیک‌اسید، گروه‌های جداگانه‌ای از حیوانات در هفته دوم پس از CCI ۳۰ دقیقه پس از دریافت اسید آسکوربیک با (غلظت ۱mg/kg) و یا سرم فیزیولوژیک، کتامین ۵mg/kg و یا MK-۸۰۱ (۰/۰۱ mg/kg) به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. ۲۰ دقیقه پس از آن تست‌های سنجش درد در مورد آن‌ها انجام گرفت. جهت سنجش آلودینیای مکانیکی از تست Von Frey و جهت سنجش هیپرآلژزیای مکانیکی و حرارتی به ترتیب از تست‌های Randal selitto و Radiant heat استفاده شد. نتایج به دست آمده با استفاده از تست‌های آماری ANOVA و Newman-Keuls مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت $P<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: تزریق داخل صفاقی اسیدآسکوربیک در مقادیر ۵mg/kg و ۱۰ mg/kg باعث افزایش آستانه درد در تست‌های سنجش هیپر آلژزیای حرارتی و مکانیکی و آلودینیای مکانیکی شده است. در حالی که تزریق آن به میزان ۱mg/kg اثری در تغییر آستانه درد نداشته است. همچنین تزریق AA به میزان ۱mg/kg، باعث مهار اثرات ضد دردی کتامین و یا MK-۸۰۱ شد و میزان درد در این گروه‌ها تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروهی که سرم فیزیولوژیک دریافت کرده بودند نشان داد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به دست آمده تزریق ویتامین C باعث کاهش درد ایجاد شده پس از آسیب عصبی می‌شود. این اثر وابسته به مقدار بوده و از طریق بلوک رسپتورهای NMDA اعمال می‌شود.

کلیدواژه ها: ۱ـ آسکوربیک‌اسید، ۲ـ رسپتور NMDA، ۳ـ درد نورو پاتیک، ٤ـ ضد دردی

مقدمه

درد نوروپاتیک، به‌دلیل یک ضایعه ابتدایی یا عملکرد بد سیستم عصبی ایجاد می‌شود. این درد که نوعی درد مزمن به حساب می‌آید به‌دنبال طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله دیابت، ایسکمی، عفونت و کموتراپی ایجاد می‌شود. تظاهرات کلینیکی دردهای مزمن بسیار متفاوت بوده، ولی غالباً به‌صورت درد سوزشی مداوم از سوی بیماران گزارش می‌شود که با علایم عصبی غیرطبیعی مثل آلودینیا (درد در نتیجه اعمال محرکی که ذاتاً دردزا نیست) و هیپرآلژزیا (پاسخ افزایش یافته به یک محرک دردزا) و یا حتی به صورت درد خود به خودی همراه است.

درمان‌های فارماکولوژیک رایج برای این درد مثل ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ای و ضد تشنج‌ها تا کنون کمتر از ۵۰٪ کارایی داشته و همراه با عوارض جانبی بوده‌اند. از سوی دیگر اپیوئیدها و داروهای ضد التهاب که درمانی مؤثر در دردهای التهابی به حساب می‌آیند، متأسفانه جهت درمان درد نوروپاتیک مؤثر نبوده‌اند.[1]

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان‌نامه خانم سپیده صفارپور جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد فیزیولوژی به راهنمایی دکتر فرناز نصیری نژاد و مشاوره دکتر همایونفر. همچنین این مقاله در کنگره فیزیولوژی و فارماکولوژی مشهد و EFNS در ایران و بلژیک سال ۱۳۸٦ ارائه شده است.

I) استادیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، تقاطع بزرگراه‌های شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران، ایران (*مؤلف مسؤول)

II) کارشناس ارشد فیزیولوژی

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24]

مشخص شده که در درد نوروپاتیک، فعالیت نورون‌های راه گلوتامینرژیک از طریق رسپتورهای NMDA افزایش چشمگیری می‌یابد. با تحریک این گیرنده‌ها، منیزیوم از جایگاه خود بر روی گیرنده رها شده و باعث باز شدن کانال Ca^{+2} می‌شود. در نتیجه Ca^{+2} به داخل سلول سرازیر شده و به عنوان پیامبر ثانویه فعالیت پروتئین کیناز C، پروتئین لیپاز C، NO سنتتاز (آنزیم سازنده نیتریک اکسید) و بیان proto-oncogen را سبب می‌شود، که در نهایت افزایش حساسیت به درد را موجب می‌گردد.[۲-٤] بنابراین موادی که بلوک‌کننده گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی باشند، توانایی تخفیف درد را دارند و در برخی موارد در کلینیک قابل استفاده‌اند. بسیاری از این مواد به صورت مصنوعی ساخته شده‌اند، اما به دلیل عوارض جانبی فراوان تمایل زیادی به استفاده از آن‌ها در درمان بیماران وجود ندارد.[۵]

اسید آسکوربیک (AA) غلظت بالایی در سیستم اعصاب مرکزی (Central Nervous System-CNS) دارد و در مطالعات بسیاری به عنوان یک تنظیم‌کننده عصبی مهم در مغز معرفی شده است.[۶-۸]

در مدولای آدرنال نیز آسکوربات همراه با کاته‌کول‌آمین‌ها ترشح می‌شود.[۹] آزادسازی آن از سلول‌های مغزی به طور عمده همراه با فعالیت نورون‌های گلوتامینرژیک، خصوصاً از طریق مبادله خلاف جهت آسکوربات- گلوتامات از غشای نورون یا گلیاها، می‌باشد.[۱۰و۱۱]

دی هیدروکسی آسکوربیک اسید، که فرم اکسیدشده ویتامین C است از راه گیرنده‌های Glut-1 همراه با گلوکز از سد خونی- مغزی (Blood Brain Barrier-BBB) انتقال می‌یابد.[۱۲] از سوی دیگر نشان داده شده که این ویتامین قادر به مهار گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی است.[۱۱و۱۳] بنابراین می‌تواند در تنظیم احساس درد نیز نقش داشته باشد.

با توجه به اهمیت سیستم گلوتامینرژیک در تنظیم عصبی درد و اثر ویتامین C بر گیرنده‌های گلوتامات، این مطالعه برای بررسی نقش رسپتورهای NMDA در اثرات ضد دردی اسید آسکوربیک بر درد نوروپاتیک با استفاده از مدل chronic constriction injury یا CCI انجام شده است.

روش بررسی

حیوانات آزمایشگاهی

در این تحقیق که از نوع تجربی می‌باشد، از موش‌های صحرایی نر نژاد wistar در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شده است. حیوانات از مرکز پرورش حیوانات، انستیتو پاستور تهیه شدند و قبل از شروع آزمایش جهت سازگاری آن‌ها با شرایط آزمایشگاهی حداقل به مدت سه هفته در قفس‌های حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی ایران با درجه حرارت ۲۲±۲°C با شرایط نوری طبیعی نگهداری شده و با غذای مخصوص تغذیه می‌شدند. در زمان آزمایش، حیوانات به صورت تصادفی به ۸ گروه تقسیم شده و هر گروه شامل ۸ موش سفید صحرایی بود. این ۸ گروه عبارتند از:

۱) گروه دریافت‌کننده اسید آسکوربیک به میزان ۱mg/kg

۲) گروه دریافت‌کننده اسید آسکوربیک به میزان ۵mg/kg

۳) گروه دریافت‌کننده اسید آسکوربیک به میزان ۱۰mg/kg

٤) گروه دریافت‌کننده نرمال سالین

۵) گروه دریافت‌کننده اسید آسکوربیک (۱mg/kg) و کتامین (۵mg/kg)

٦) گروه دریافت‌کننده اسید آسکوربیک (۱mg/kg) و MK-۸۰۱ (۰/۰۱mg/kg)

۷) گروه دریافت‌کننده نرمال سالین و کتامین (۵mg/kg)

۸) گروه دریافت‌کننده نرمال سالین و MK-۸۰۱ (۰/۰۱mg/kg)

داروهای مورد استفاده

به منظور بیهوشی حیوانات از پودر پنتاباربیتال سدیم به میزان ٦۰mg/kg استفاده شد. همچنین پودر اسید

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24]

آسکوربیک به میزان ۱mg/kg، ۵mg/kg، ۱۰mg/kg، کتامین به مقدار ۵mg/kg و MK-۸۰۱ به میزان ۰/۰۱mg/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 صفاتی (ip) تزریق شدند.

نحوه به کارگیری داروها

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

به منظور بررسی دخالت گیرنده‌های NMDA در اثرات ضد دردی ویتامین C در گروه‌های جداگانه‌ای ۲ هفته پس از انجام CCI، اسید آسکوربیک به مقدار ۱mg/kg تزریق گردید. ۳۰ دقیقه پس از آن، کتامین و یا MK-۸۰۱ به عنوان آنتاگونیست گیرنده NMDA به ترتیب به میزان ۵ mg/kg و یا ۰/۰۱mg/kg تزریق گردید. حیوانات گروه کنترل به جای AA، ۰/۵cc نرمال سالین به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

نحوه ایجاد درد نوروپاتیک

برای این منظور، از مدل CCI که توسط Bennet و Xie (۱۹۸۸) پیشنهاد شده است استفاده شد.[۱۵] جهت این منظور، پس از اطمینان از بیهوشی حیوانات موهای ناحیه ران چپ تراشیده شد و به موازات خارایلیاک شکافی بر روی عضله biceps ران ایجاد شد. بعد 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 خون‌رسانی به عصب اختلال ایجاد نشود.

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

نحوه اندازه‌گیری هیپرآلژزیای مکانیکی (Randal Selitto test)

جهت اندازه‌گیری 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 گرفته شد. سپس 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 می‌شد. عدد نشان داده شده بر روی خط کش دستگاه ثبت می‌شد. این تست با فواصل ۲ دقیقه برای پای چپ ۲ بار انجام می‌شد.

نحوه اندازه‌گیری هیپرآلژزیای حرارتی (Radiant Heat test)

برای انجام این تست، 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 به کف پای آن تابانده می‌شد که باعث گرم شدن ناحیه شده زمان توسط کرونومتر دستگاه ثبت می گردید. به محض حرکت دادن و یا بلند کردن پا، کرونومتر متوقف شده و Time latency ثبت می‌شد. این عمل برای پای آسیب دیده ۳ بار به فواصل حداقل ۲ دقیقه انجام گردید.

نحوه اندازه‌گیری آلودینیای مکانیکی

برای این منظور، از موهای Von-Frey با شماره‌های ٤/٥٦، ٤/٧٤، ٤/٩٣، ٥/٠٧، ٥/١٨، ٥/٤٦ و ٥/٨٨ استفاده شد. برای انجام آن حیوان در محفظه‌ای با کف مشبک که ۳۰ سانتی‌متر بالاتر از سطح زمین قرار داشت، گذاشته

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24]

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. سه بار بلند کردن و یا حرکت دادن پا برای آن شماره از تار مو مثبت تلقی شد.

ترتیب انجام جراحی و تست‌های رفتاری

در کلیه گروه‌ها، ابتدا جراحی CCI برای هر حیوان انجام شد و ۲ هفته پس از آن یعنی در زمان حداکثر درد[۱] استعمال دارو و تست‌های رفتاری انجام گرفت.

در گروه‌هایی که مقادیر متفاوت اسید آسکوربیک را به شیوه گفته شده دریافت می‌کردند ۱۵ دقیقه و ۳۰ دقیقه پس از تزریق، تست‌های رفتاری مذکور انجام شد. در گروه کنترل نیز پس از تزریق نرمال سالین، با همین شیوه تست‌های رفتاری انجام گردید.

در گروه‌هایی که AA به علاوه آنتاگونیست رسپتورهای NMDA دریافت می‌کردند، ۳۰ دقیقه بعد از تزریق ویتامین C، داروی کتامین و یا MK-۸۰۱ تزریق شده و ۲۰ دقیقه بعد از آن رفتار حیوان مورد بررسی قرار گرفت.

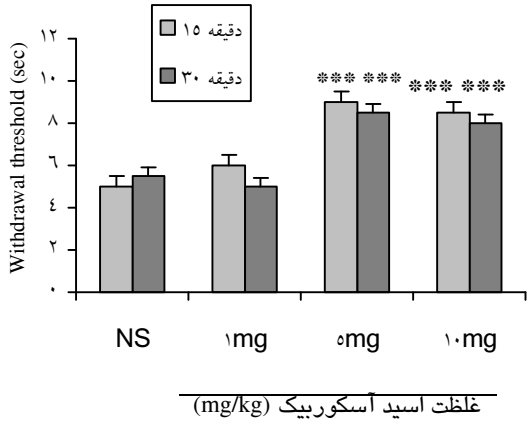
حیوانات گروه کنترل نیز با دریافت نرمال سالین به جای اسید آسکوربیک با همین پروتکل تست رفتاری شدند.

بررسی آماری

جهت بررسی وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های دریافت‌کننده دارو و نرمال سالین از برنامه نرم‌افزاری Graph pad و تست آماری Two Way ANOVA و Newman-Keuls استفاده گردید. نتایج به صورت Mean ± SEM نشان داده شده است و P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نمودار شماره ۱ نشان‌دهنده اثر تزریق مقادیر مختلف ویتامین C و نرمال سالین بر هیپرآلژزیای حرارتی ایجاد شده دو هفته پس از انجام عمل CCI می‌باشد. همان‌گونه که در نمودار مشخص است تزریق داخلی صفاتی ۱۰mg/kg 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 معنی‌داری را (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه دریافت‌کننده نرمال سالین نشان می‌دهد.



نمودار شماره ۱- اثر تزریق داخل صفاقی مقادیر مختلف ویتامین C و نرمال سالین بر هیپرآلژزیای حرارتی. علامت *** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه دریافت‌کننده نرمال سالین (NS) می‌باشد.

Withdrawal latency در حیواناتی که نرمال سالین دریافت کرده بودند ۱۵ و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق به ترتیب ۵/۱±۰/۵ و ۵/۶±۰/۲ ثانیه است، در حالی که در حیواناتی که ۵mg/kg 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.

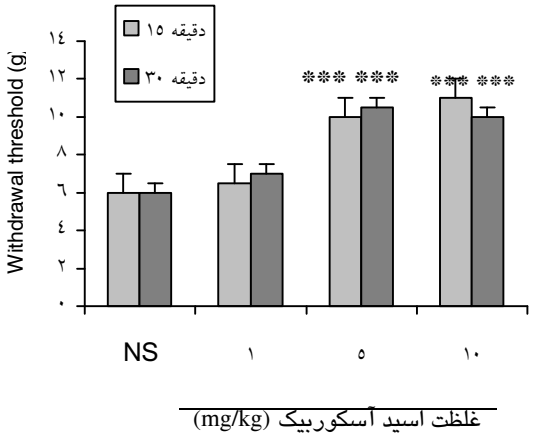
تزریق ۱۰mg/kg AA نیز اثر مشابهی در withdrawal latency داشت. در حیوانات این گروه نیز ۱۵ و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق، این زمان به ترتیب ۹/۰۸±۰/۲۴ و ۸/۷±۰/۳۱ ثانیه بوده است. تزریق اسید آسکوربیک به میزان ۱mg/kg اثری بر هیپرآلژزیای حرارتی ایجاد شده به دنبال CCI نداشته و ۱۵ و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق withdrawal latency در حیوانات این گروه به ترتیب ۵/۹±۰/۲ و ۵/۰۹±۰/۴۶ ثانیه بوده. تفاوت معنی‌داری بین گروهی که به میزان ۱mg/kg اسید آسکوربیک دریافت نموده‌اند با گروه دریافت‌کننده نرمال سالین دیده نشده؛ که

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24]

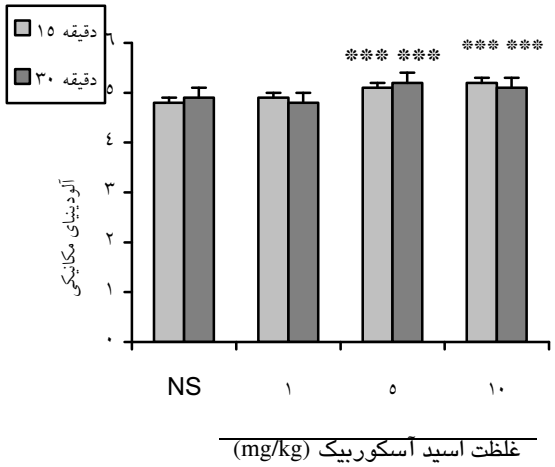
نشان‌دهنده بی‌تأثیر بودن این مقدار از AA در تغییر آستانه حس حرارتی در حیوانات CCI شده می‌باشد.

Withdrawal latency در حیواناتی که نرمال سالین و یا اسید اسکوربیک دریافت کرده بودند در دقیقه ۱۵ و ۳۰ بعد از تزریق، تفاوت معنی‌داری را نشان نداد.

مشابه نتایج ذکر شده در تست‌های مربوط به سنجش هیپرآلژزیا و آلودینیای مکانیکی نیز وجود دارد (نمودارهای شماره ۲ و۳). تزریق ۱۰mg/kg و ۵ اسیدآسکوربیک باعث افزایش آستانه حس مکانیکی شده و در حیوانات این گروه ۱۵ و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق، تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) در آستانه حس مکانیکی نسبت به حیوانات دریافت‌کننده نرمال سالین دیده شد. نتایج آماری به دست آمده تفاوت معنی‌دار در آستانهٔ حس مکانیکی بین حیواناتی که اسید آسکوربیک به میزان ۱mg/kg دریافت کرده بودند با حیواناتی که نرمال سالین دریافت نموده بودند را نشان نداد. ۱۵ و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق ۵mg/kg از AA، آستانه حس مکانیکی در تست Randal-Selitto ۱۰/۲۷±۰/۶۲ و ۱۰/۷۸±۰/۳۹ و در تست Von Frey به ترتیب ۵/۴±۰/۰۷ و ۵/۶±۰/۰۹ می‌باشد که تفاوت مشخصی نسبت به زمانی که مقدار تزریقی اسید آسکوربیک به دو برابر افزایش یافته (۱۰mg/kg) نشان نمی‌دهد (۱۱/۳۶±۰/۳۹ و ۱۰/۳۶±۰/۴۱ در تست Randal-Selitto ۵/۵±۰/۱ و ۵/۴±۰/۰۶ در تست Von - Frey).



نمودار شماره ۲- اثر تزریق داخل صفاقی مقادیر مختلف ویتامین C و نرمال سالین بر هیپرآلژزیای مکانیکی. علامت *** نشان‌دهنده تفاوت معنی دار (P<0.001) نسبت به گروه دریافت کننده نرمال سالین (NS) می‌باشد.



نمودار شماره ۳- اثر تزریق داخل صفاقی مقادیر مختلف ویتامین C و نرمال سالین بر آلودینیای مکانیکی. علامت *** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه دریافت‌کننده نرمال سالین (NS) می‌باشد.

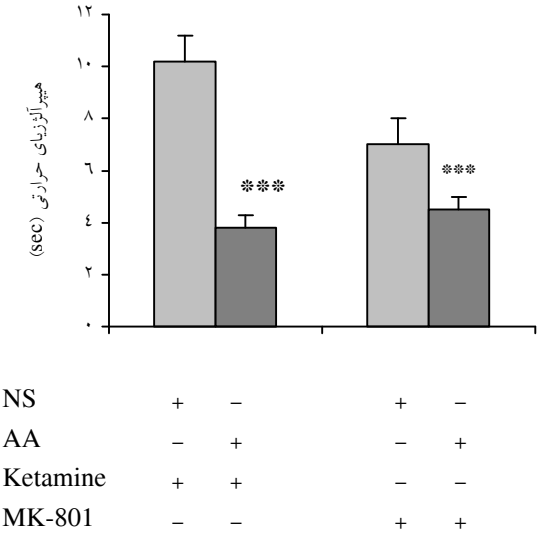
در حیواناتی که ۱mg/kg اسید آسکوربیک گرفته بودند، آستانه حس مکانیکی ۱۵ دقیقه بعد از تزریق در تست Randal-Selitto ۶/۹±۰/۴۸ و در تست Von Frey، ۴/۸۴±۰/۰۷ بود. این مقادیر ۳۰ دقیقه بعد از تزریق به ترتیب به ۷/۳۹±۰/۸۷ و ۴/۸±۰/۰۶ تغییر کرد.

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 Selitto 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. بر اساس تست‌های آماری تفاوت معنی‌داری بین این گروه با گروهی که AA به میزان ۱mg/kg دریافت کرده بودند وجود نداشت.

در بررسی نقش رسپتورهای NMDA در ایجاد اثرات ضد دردی اسید آسکوربیک، با توجه به این که تزریق ۱mg/kg از AA تغییر رفتاری در تست‌های به کار گرفته شده ایجاد نکرد، این مقدار از ویتامین C به همراه آنتاگونیست‌های گیرنده NMDA به کار گرفته شد. نمودار شماره ٤ نشان‌دهنده مقایسه تزریق کتامین (۵mg/kg) و MK-۸۰۱ (۰/۰۱mg/kg) بعد از تزریق AA و یا نرمال سالین در هیپرآلژزیای حرارتی ایجاد شده دو

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24]

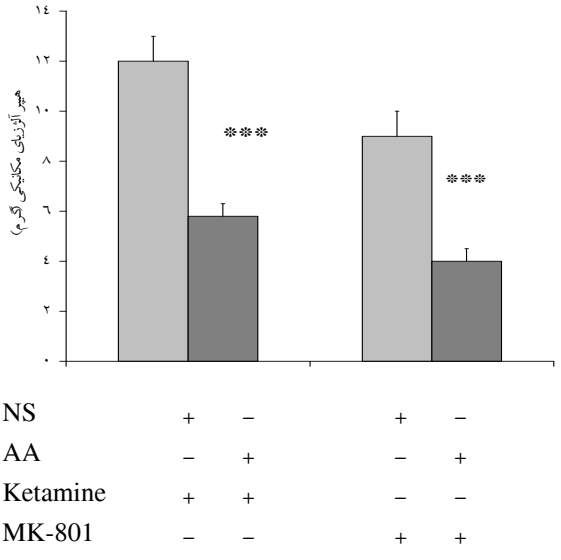
هفته بعد از آسیب عصبی می‌باشد. با توجه به نمودار، تزریق ۱mg/kg اسید آسکوربیک مانع از ایجاد اثرات ضد دردی قابل انتظار از مقادیر گفته شده کتامین و MK-۸۰۱ شده است. در صورتی که تزریق همین مقدار از کتامین و یا MK-۸۰۱ به همراه نرمال سالین، باعث بروز اثرات ضد دردی این آنتاگونیست‌ها می‌شود و تفاوت معنی‌داری بین گروهی که به همراه کتامین و یا MK-۸۰۱ اسید آسکوربیک را دریافت کرده‌اند با گروه دریافت‌کننده نرمال سالین در Withdrawal latency حاصل از تابش اشعه به کف پای حیوان وجود دارد (P<۰/۰۰۱).



نمودار شماره ۴- مقایسه تزریق کتامین و MK-801 بعد از تزریق AA و یا نرمال سالین در هیپرآلژزیای حرارتی. علامت *** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه دریافت‌کننده نرمال سالین (NS) می‌باشد.

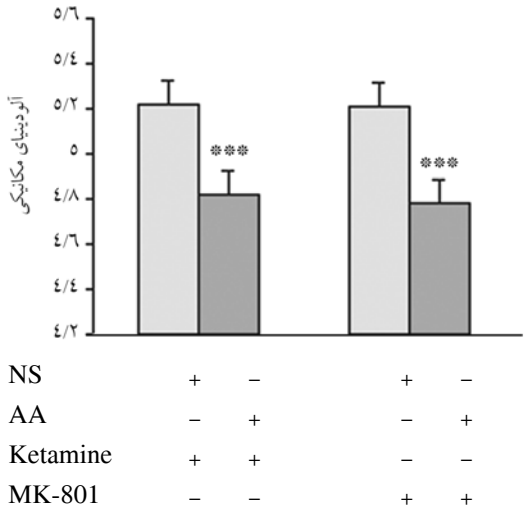
Withdrawal latency در حیواناتی که به همراه کتامین و یا MK-۸۰۱، اسید اسکوربیک دریافت کرده بودند به ترتیب ۳/۸۲±۰/۳۲ و ٤/۱±۰/٤۲ ثانیه و در حیواناتی که نرمال سالین گرفته بودند به ترتیب ۱۰/۳۸±۰/٤۷ و ۷/۷ ±۰/۵٦ بود. نمودارهای شماره ۵ و ٦ به ترتیب نشان‌دهنده مقایسه تزریق کتامین و MK-۸۰۱ بعد از تزریق اسید آسکوربیک و یا نرمال سالین در هیپرآلژزیا و آلودینیای مکانیکی می‌باشد. نتایج به دست آمده در این تست‌ها نیز، مشابه نتایج به دست آمده از تست هیپرآلژزیای حرارتی بود. آستانه حس مکانیکی در حیواناتی که کتامین یا MK-۸۰۱ به دنبال تزریق اسید آسکوربیک دریافت نموده‌اند، به طور معنی‌دار (P<۰/۰۰۱) کمتر از حیواناتی است که به جای اسید آسکوربیک نرمال سالین گرفته بودند.

آستانه حس مکانیکی در تست Randal Selitto در حیواناتی که به همراه کتامین و MK-۸۰۱، اسید آسکوربیک گرفتند به ترتیب ۵/۸±۰/٦۹ و ٤/۳۸±۰/۳۱ و در تست Von Frey به ترتیب ٤/۹±۰/۰٤ و ٤/۷٦±۰/۵٤ بود. در حیواناتی که به جای AA نرمال سالین دریافت کردند، اثر ضد دردی داروهای کتامین و اسید آسکوربیک نمایان شده و آستانه حس مکانیکی در این گروه‌ها در تست Randal Selitto به ترتیب ۱۱/۸±۰/٤٤ و ۸/۹٦±۰/٦۵ و در تست Von Frey به ترتیب به مقادیر ۵/۳۲±۰/۰۵ و ۰/۰۵ ± ۵/۳ افزایش یافته بود (نمودارهای شماره ۵ و ٦).



نمودار شماره ۵- مقایسه تزریق کتامین و MK-801 بعد از تزریق AA و یا نرمال سالین در هیپرآلژزیای مکانیکی. علامت *** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (P<0.001) نسبت به گروه دریافت‌کننده نرمال سالین (NS) می‌باشد.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24]



نمودار شماره ۶- مقایسه تزریق کتامین و MK-۸۰۱ بعد از تزریق AA و یا نرمال سالین در آلودینیای مکانیکی. علامت *** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ($P<0/001$) نسبت به گروه دریافت‌کننده نرمال سالین (NS) می‌باشد.

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

جدول شماره ۱- تغییرات آستانه حس مکانیکی و حرارتی ۱۵ و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق در گروه‌های دریافت کننده نرمال سالین و اسید آسکوربیک

	دقیقه	نرمال سالین	اسید آسکوربیک (۱mg/kg)	اسید آسکوربیک (۵mg/kg)	اسید آسکوربیک (۱۰mg/kg)
هیپرآلژزیای حرارتی (Sec)	۱۵	۵/۱±۰/۵	۵/۹±۰/۲	۹/۵±۰/۳۶	۹/۰۸±۰/۲۴
	۳۰	۵/۰۹±۰/۴۶	۵/۶±۰/۲	۹/۲±۰/۳۹	۸/۷±۰/۳۱
هیپرآلژزیای مکانیکی (g)	۱۵	۶/۱۸±۰/۴۷	۶/۹±۰/۴۸	۱۰/۲۷±۰/۶۲	۱۱/۳۶±۰/۳۹
	۳۰	۶/۲±۰/۷۱	۷/۳۹±۰/۸۷	۱۰/۷۸±۰/۳۹	۱۰/۳۶±۰/۴۱
آلودینیای مکانیکی	۱۵	۴/۷±۰/۰۶	۴/۸۴±۰/۰۷	۵/۴±۰/۰۷	۵/۵±۰/۱
	۳۰	۴/۸±۰/۰۴	۴/۸±۰/۰۶	۵/۶±۰/۰۹	۵/۴±۰/۰۶

جدول شماره ۲- تغییرات آستانه حس مکانیکی و حرارتی در گروه‌هایی که به همراه نرمال سالین و اسید آسکوربیک داروهای بلاک‌کننده رسپتورهای NMDA (ketamin و MK-801) نیز دریافت کرده‌اند

	Ketamin+AA	MK-801+AA	Ketamin+NS	MK-801+NS
هیپرآلژزیای حرارتی (Sec)	۳/۸۲±۰/۳۲	۴/۱±۰/۴۲	۱۰/۳۸±۰/۴۷	۷/۷±۰/۵۶
هیپرآلژزیای مکانیکی (g)	۵/۸±۰/۶۹	۴/۳۸±۰/۳۱	۱۱/۸±۰/۴۴	۸/۹۶±۰/۶۵
آلودینیای مکانیکی	۴/۹±۰/۰۴	۴/۷۶±۰/۵۴	۵/۳۲±۰/۰۵	۵/۳±۰/۰۵

با توجه به این که تزریق ۱mg/kg اسید آسکوربیک به تنهایی قادر به تغییر رفتار درد به دنبال عمل CCI در حیوانات نمی‌باشد، به نظر می‌رسد تزریق این مقدار از AA می‌تواند مانع عمل ضد دردی آنتاگونیست‌های رسپتور NMDA گردد.

بحث

آلودینیا و هیپرآلژزیا از مهم‌ترین علایم درد نوروپاتیک هستند، که با تست‌های رفتاری قابل ارزیابی‌اند. به همین جهت داروهای ضد درد مؤثر بر نوروپاتی بیشتر بر اساس تأثیرشان بر این دو علامت، ارزشیابی فارماکولوژیکی می‌شوند.[۱۴]

در سال‌های اخیر برای بررسی مکانیسم‌های پدیدآورنده درد نوروپاتیک و اثر درمان‌های متفاوت دارویی برای آن، مدل‌های حیوانی متعددی پیشنهاد شده که در بین آن‌ها مدل CCI به دلیل شباهت علایم ناشی از آن با علایم نمونه انسانی و ایجاد قابل قبول هیپرآلژزیا و آلودینیا، مورد پذیرش بیشتری قرار گرفته[۱۵] و در این تحقیق نیز از این مدل استفاده شده است.

نتایج این بررسی نشان داد که تزریق داخل صفاقی آسکوربیک اسید (AA)، توانایی تخفیف علایم درد ناشی از آسیب عصبی را دارد و این اثر وابسته به مقدار مصرفی آن دارد. بر اساس نتایج بررسی‌های رفتاری مقادیر ۵mg/kg و ۱۰mg/kg از AA به طور معنی‌داری درد را در 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 معنی‌دار 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 ۱mg/kg از آسکوربات، هیپرآلژزیا و آلودینیا را تخفیف نمی دهد. پیش از این گزارش شده است که در تست

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24]

فرمالین، مقادیر ۵mg/kg و ۳mg/kg از ویتامین C در موش‌های سویسی علایم درد را در هر دو فاز ابتدایی و تأخیری این تست کاهش می‌دهد.[۱۶] از آنجا که انجام تست فرمالین حدوداً ۱ ساعت زمان می‌برد، AA در این مدت اثر ضد دردی خود را حفظ می‌کند. در ضمن در این بررسی نیز تزریق ۱mg/kg AA اثری بر کاهش درد حاصل از تزریق فرمالین ایجاد نکرده است؛ این امر با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد. اما بر خلاف نتایج مطالعه حاضر که تفاوتی در اثر ضد دردی مقادیر ۱۰mg/kg و ۵mg/kg از AA دیده نشد، در مطالعه‌ای که توسط Kelson A.Rosa و همکارانش انجام گرفته[۱۶] با افزایش غلظت اسید آسکوربیک اثر آنالژزیک آن در درد حاصل از تزریق فرمالین کاهش یافته؛ به طوری که تزریق ۱۰mg/kg از آن درد را کاهش نداده است. 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 می‌باشد. در این رابطه نتایج حاصل از آزمایش Davis و همکارانش نیز نشان‌دهنده اثر ضد دردی AA در مقادیر بالا می‌باشد. بر اساس مطالعات این محققین، کاربرد زیرپوستی ۱۵۰mg/kg از AA در مدل موش‌های مبتلا به آرتریت نیز آستانه درد را افزایش می‌دهد.[۱۷] با توجه به این داده‌ها می‌توان نتیجه گرفت که AA در مقادیر بالا و غیرسمی هم توانایی تخفیف علایم درد را دارد. همچنین نتایج مربوط به آزمایش‌های Rogers و Ricketts که بر روی انسان انجام شد نیز نشان داد که دوزهای بالای ویتامین C می‌تواند درد ناشی از شکستگی مچ دست را تسکین دهد. این نتایج نیز نشان‌دهنده اثر وابسته به دوز این ویتامین در تسکین درد می‌باشد[۱۸] که مشابه نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر است. نتایج آزمایش‌های Kirk و همکارانش نیز نشان دهنده اثرات ضد دردی آنتی‌اکسیدان‌ها ازجمله 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، تسکین داده و کیفیت زندگی را در این افراد بالا ببرد[۱۹]

آنچه مسلم است آسکوربات یک آنتی‌اکسیدان قوی است که سطح خارج سلولی آن در CNS در پاسخ به محرک‌های متفاوت ازجمله استفاده از اسیدهای آمینه تحریکی و GABA تغییر می‌کند و ترشح آن به میزان زیادی با فعالیت سیستم گلوتامینرژیک تنظیم می‌شود.[۶] AA در وزیکول‌های سیناپسی نورون‌های گلوتامینرژیک از طریق انتقال فعال تغلیظ شده، به گونه‌ای که غلظت داخل نورونی آن حدوداً به ۱۰ برابر غلظت خارج سلولی‌اش می‌رسد. سپس در پی تحریک این نورون‌ها در بخشی از فرآیند بازجذب گلوتامات- آسکوربات آزاد می‌شود و نه تنها در واکنش های شیمیایی و آنزیمی درون نورون‌ها دخالت می‌کند، بلکه در میان کنش‌های بین نورونی نیز نقش دارد.[۶و۲۰]

از سوی دیگر اکنون به خوبی مشخص شده فعال شدن گیرنده های NMDA گلوتامینرژیکی، باعث ایجاد رفتارهای ناشی از درد می شوند و این امر در پدید آمدن حساسیت مرکزی نقش مهمی دارند و ظهور درد نوروپاتیک با افزایش فسفریلاسیون این گیرنده‌ها در ارتباط است.[۲۱-۲۴] بنابراین با توجه به این داده ها، دخالت گیرنده‌های NMDA در اثرات ضد دردی ویتامین C با استفاده از دوآنتاگونیست این رستپور، کتامین (۵mg/kg) و MK-۸۰۱ (۰/۰۱mg/kg) در این مطالعه بررسی شده است.

کتامین، بلوک‌کننده کوتاه‌مدت و اختصاصی گیرنده NMDA است که تغییرات فیزیولوژیک طولانی‌مدت بر روی آن ایجاد نکرده و با کاهش حساسیت مرکزی بر درد نوروپاتیک موثر است.[۴]

ماده صناعی MK-۸۰۱ نیز در کمپلکس رسپتور NMDA جایگاه شناخته شده دارد که با اتصال

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24]

غیر رقابتی با آن، اثرات مهار خود را اعمال می‌نماید. همچنین با تأثیرگذاری بر جایگاه Redox، این گیرنده باعث افزایش غلظت AA و گلوتامات در کورتکس می‌شود.[۲۵]

نتایج حاصل از تزریق داخلی صفاقی این دو ماده پس از تزریق سیستمیک ویتامین C و نرمال سالین نشان داد که گر چه مقادیر به کار رفته از این دو دارو در زمان استفاده به همراه نرمال سالین، توانایی ایجاد اثرات ضد هیپرآلژزیک و ضد آلودینیک دارند، اما در هنگام کاربرد همزمان با اسید آسکوربیک به میزان ۱mg/kg اثرات ضددردی مورد انتظار را بروز نمی‌دهند و در واقع اسید آسکوربیک مانع از عملکرد آن‌ها می‌شود. چرا که در گروه‌های کنترل علایم هیپرآلژزیای حرارتی، مکانیکی و آلودینیای مکانیکی کاهش چشمگیری می‌یابد.

قابل ذکر است که این داده، مشابه نتایج به دست آمده توسط Rosa و همکارانش است. این محققین نیز با استفاده همزمان مقادیر sub-threshold اسید آسکوربیک با آنتاگونیست‌های رسپتور NMDA، اثرات مهاری این مواد را مشاهده نکرده‌اند.[۲۶]

در توجیه این یافته می‌توان گفت با توجه به اینکه گیرنده NMDA یک کمپلکس دارای جایگاه‌های اتصال متعدد است، لیگاندهای متفاوتی می‌توانند با اتصال به آن عملکرد این رسپتور را تغییر دهند. برخی از این لیگاندها، با ایجاد تغییر ساختمانی در گیرنده مذکور بر کارکرد آن تأثیر می گذارند. برای مثال Tang و همکارانش[۲۷] نشان داده‌اند که مواد احیاکننده مثل Dithiothreitol (DDT, ۰/۱-۱۰ mM) با تغییر اجزای سولفیدریلی در مولکول آن، باعث افزایش پاسخ گیرنده می‌شوند؛ در حالی که مواد اکسیدکننده، اثر معکوس داشته و این پاسخ‌ها را کاهش می‌دهند. همان‌طور که پلی‌آمین‌ها مانند spermine و spermidine نیز با ایجاد تغییرات آلوستریک در تنظیم این رسپتور دخالت می‌کنند.[۲۷]

گیرنده NMDA، دارای جایگاه تنظیمی Redox است که یک سری از پدیده‌های وابسته به رسپتور همانند تحریک‌پذیری، تخلیه طولانی‌مدت و آزادسازی نوروترنسمیتر را تنظیم می‌کند. این جایگاه به مواد سولفیدریل حساس بوده و به وسیله گروه متفاوتی از مواد آندوژن همچون رادیکال‌های آزاد اکسیژن‌دار، گلوتاتیون اکسید شده و ریز مغذی‌های حاوی quinine Pyroloquinoline تعدیل می‌شود.[۲۷-۲۹] مواد احیاءکننده هم می‌توانند عملکرد این جزء از گیرنده را تحت تأثیر قرار دهند. در این میان، آسکوربات نیز بر جایگاه Redox در رسپتورهای NMDA اثر گذاشته و آن را مهار می‌کند و از همین طریق از نورون‌های کورتیکال در مقابل فعالیت زیاد گلوتامات محافظت می‌نماید.[۷و۱۱] همچنین Zuo و همکارانش نشان دادند که استفاده از بلاک‌کننده‌های غیر رقابتی رسپتورهای NMDA به صورت مزمن و یا حاد، باعث کاهش میزان ساخته شدن و ترشح گلوتامات و اسید آسکوربیک در سیستم عصبی موش‌ها خواهد شد. در این رابطه اثر استفاده طولانی‌مدت از این بلاک‌کننده، بارزتر از اثر حاد آن می‌باشد.[۲۵]

از آنجا که AA به عنوان یک مهار کننده آلوستریک شناخته شده است، می‌تواند عملکرد رسپتورهای دوپامینی را تغییر داده و با دوزهای بالای سیستمیک (ip, ۱۰۰mg/kg) در موش‌های صحرائی اثر آنتی دوپامینرژیک داشته باشد[۲۰] و یا در مقادیر پایین در حد 10^{-3} تا 10^{-5} مول با تغییر در کارکرد گیرنده NMDA از رها شدن LH-RH جلوگیری کند.[۱۰] بنابراین با اینکه مقدار اندک ۱mg/kg از AA مستقیماً اثری بر رفتار حسی در موش‌ها ندارد، این احتمال وجود دارد که اتصال این میزان از ویتامین C به رسپتور NMDA با ایجاد تغییر ساختمانی مانع از اتصال آنتاگونیست‌های این رسپتور به آن شده و در نتیجه اثرات ضد دردی قابل انتظار کتامین و MK-۸۰۱ مشاهده نشده است. در حالی که مقادیر بالاتر آن (۱۰mg/kg و ۵) به عنوان

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24]

یک آنتاگونیست، سبب ایجاد اثرات ضد دردی شده‌اند.

نتیجه‌گیری

با توجه به اثرات ناخواسته آنتاگونیست‌های گیرنده NMDA، که کاربرد کلینیکی این داروها را در درمان درد نوروپاتیک محدود می‌نماید، استفاده از سایر مواد ایمن‌تر که بدون ایجاد اختلال در عملکرد فیزیولوژیک این گیرنده‌ها قادر به جلوگیری از اثرات پاتولوژیک آن‌ها باشند، می‌تواند گامی در جهت درمان این درد پیچیده باشد. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، مصرف اسید آسکوربیک از طریق اثر بر گیرنده‌های NMDA قادر به کاهش درد بوده و اثر ضد دردی این ویتامین حداقل تا ۳۰ دقیقه بعد از مصرف نیز باقی می‌ماند. بنابراین به نظر می‌رسد اسید آسکوربیک هم می‌تواند در کنار داروهای تسکین‌دهنده دیگر و یا به تنهایی در مقادیر غیر سمی در درمان دردهای نوروپاتیک مؤثر باشد.

فهرست منابع

1- Hama A, Borsook D. Behavioral and pharmacological characterization of a distal peripheral nerve injury in the rat. Pharmacol Biochem Behav 2005; 81: 170-181.

2- Bridges D, Thompsonm S, Rice AS. Mechanisms of neuropathic pain. British J of Anesth 2001; 87: 12-29.

3- Neugebauer V. Metabotropic glutamate receptors – important modulators of nocieption and pain behavior. Pain 2002; 98: 1-8.

4- Christiph T, Schiene K, Englberger W, Parsons CG, Chizh BA. The antiallodynic effect of NMDA antagonist in neuropathic pain outlasts the duration of the in vivo NMDA antagonism. Neuropharmacology 2006; 51: 12-7.

5- Wie K, Keifer RT , Topfrer S, Preissl H, Braun C, Unertl K, et al. A placebo-controlled randomized cross over trail of the NMDA receptor antagonist, memantine, in patients with chronic phantom limb pain. Anesth Analg 2004; 98: 408-413.

6- Rice ME. Ascorbate regulation and its neuroprotective role in the brain. Trends Neurosci 2000; 23(5): 209-16

7- Grunewald RA. Ascorbic Acid in the brain. Brain Res Brain Res Rev 1993; 18(1):123-33.

8- Urk RF, Christensen JM, Maguire MJ, Austin LM, Whetsell WO Jr, May JM, et al. A combined deficiency of vitamins E and C causes severe central nervous system damage in guinea pigs. J Nutr 2006; 136(6):1576-81.

9- Patak P, Willenberg HS, Bornstein SR. Vitamin C is an important cofactor for both adrenal cortex and adrenal medulla. Grndoer Res 2004; 3(4): 871-5

10- Karanth S, Yu WH, Walczewska A, Mastronardi C, Mc Cann SM. Ascorbic Acid acts an inhibitory transmitter in the hypothalamus to inhibit stimulated luteinizing hormone-releasing hormone release by scavenging nitric oxide. Proc Natl Acad Sci (USA) 2000; 97(4):1891-6.

11- Majewska M, Bell JA. Ascorbic Acid protects neurons from injury induced by glutamate and NMDA. Neuroreport 1990; 1(3-4):194-6.

12- Huang J, Agus D, Winfree CJ, Ryan A, Taggart M, Choudhri TF, et al. Dehydroascorbic acid, a blood – brain barrier transportable form of vitamin C mediates potent cerebral protection in experimental stroke model. Proc Natl Acad Sci (USA) 2001; 98: 11720- 11724.

13- Qiu S, Li L, Weeber EJ, May JM. Ascorbate transport by primary cultured neurons and its role in neuronal function and protection against excitotoxicity. J Neurosci Res 2007;85(5):1046-56.

14- Yamamoto T, Yaksh TL. Spinal pharmacology of thermal hyperesthesia induced by constriction injury of sciatic nerve, excitatory amino acid antagonists. Pain 1992; 49(1): 121-128.

15- Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. Pain 1988; 33: 87-107.

16- Rosa KA, Gadotti VM, Rosa AO, Rodirigues AL, Calixto JB, Santos AR. Evidence for the involvement of glutamatergic system in the antinociceptive effect of ascorbic acid. Neurosci Lett 2005; 381 (1-2): 185-188.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24]

17- Davis RH, Rosenthal KY, Cesario LR, Rouw GR. Vitamin C influence on localized adjuvant arthritis. J Am Pediatr Med Assoc 1990; 80: 414 -8.

18- Rogers BA, Ricketts DM. Can vitamin C prevent complex regional pain syndrome in patients with wrist fractures? J Bone Joint Surg Am 2007; 89(7):1424-31.

19- Kirk GR, White JS, Mckie L, Stevenson M, Young L, Clements WD, et al. Combined antioxidant therapy reduces pain and improves quality of life in chronic pancreatitis. J Gastrointest Surg 2006;10(4): 499-503.

20- Rebec GV, Pierce RC. A vitamin as a neuromodulator: ascorbate release into the extracellular fluid of the brain regulates dopaminergic and glutamatergic transmission. Prog Neurobiol 1994; 43(6):537-65.

21- Pace MC, Mazzariello L, Passavanti MB , Sanson P, Barbarisi M, Aurilio C. Neurobiology of pain. J cell Physiol 2006; 209(1): 8-12.

22- Gao X, Kim HK, Chung JM, Chung K. Reactive oxygen species (ROS) are involved in enhancement of NMDA receptor phosphorylation in animal models of pain. Pain 2007; 131(3): 262-71.

23- Millan MJ. The induction of pain: an integrative review, prog. Neurobiol 1999; 57: 1-164.

24- Woolf CJ , Salter MW. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. Science 2000; 288(5472): 1765-9.

25- Zuo DY, Zhang YH, Cao Y, Wu C, Tanaka I. Effect of acute and chronic MK-801 administration on extracellular glutamate and ascorbic acid release in the prefrontal cortex of freely moving mice with open filed behavior. Life Science 2006; 78: 2172-2178.

26- Rosa AO, Lin J, Calixto JB, Santos AR, Rodrigues AL. Involvement of NMDA receptors and L-arginine –nitric oxide pathway in the antidepressant – Like effects of zinc in mice. Behavio Brain Res 2003; 144: 87-93.

27- Tang LH, Aizenaman E. The modulation of NMDA receptors by redox and alkylating reagents in rat cortical neurons in vitro. J Physiol 1993; 465: 303-323.

28- Majeaweska MD, Bell JA , London ED. Regulation of the NMDA receptor by redox phenomena. Brain Res 1990; 537: 328-32.

29- Rokyta R, Holeced V, Pelearkova I, Kerjcova J, Racek J , Trefil L, et al. Free radicals after painful stimulation are influenced by antioxidants and analgesics. Neuro Endocrinol Lett 2003; 24: 304 -9

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24]

Involvement of NMDA Receptors in Antinociceptive Effect of Ascorbic Acid in a Neuropathic Pain Model

***F. Nasirinezhad, PhD[I] S. Saffarpour, MSc[II]**

Abstract

Background and Aim: Ascorbate (ascorbic acid) is present in high concentration in the nervous system and is released as a result of activation of glutaminergic neurons. Due to high concentration of NMDA receptors in the nervous system, this study investigated the analgesic efficacy of ascorbic acid (AA) in neuropathic pain condition and the role of NMDA receptors in this effect.

Materials and Methods: In this experimental study, neuropathic pain was induced by chronic constriction injury of sciatic nerve (CCI, model) in the left hind paw. In the second week after CCI, animals received 1, 5, 10 mg/kg of ascorbic acid or normal saline and pain threshold was determined 15 and 30 minutes later. To determine the role of NMDA receptor in nociceptive effect of AA, separate groups of animals were tested. In these groups in the second week after CCI, 30 min after injection of saline or AA (1mg/kg) animals received intraperitoneal injection of Ketamin (5 mg/kg) or MK-801 (0.01 mg/kg) and were tested 20 min afterwards. Mechanical allodynia was assessed by Von Frey hairs and mechanical and thermal hyperalgesia were determined by Randall Selitto and Radiant Heat tests, respectively. Data were analyzed by ANOVA and Newman Keuls tests.

Results: Intraperitoneal injection of 5 and 10 mg/kg but not 1mg/kg ascorbic acid increased mechanical and thermal threshold in the second week after CCI. Ascorbic acid (1mg/kg, i.p.) also produced significant inhibition of MK-801 and ketamin - induced antinociception response. In these groups there was no significant difference in the pain threshold as compared to animals that received normal saline.

Conclusion: The results indicate that ascorbic acid produced a dose dependent antinociceptive effect that seems to be mediated through its interaction with NMDA receptors.

Key words: 1) Ascorbic acid 2) NMDA receptor 3) Neuropathic pain 4) Antinociception

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24]

This article is a summary of the thesis by S. Saffarpour, MSc under supervision of F. Nasirinezhad, Ph.D. and consultation with Dr. HomayounFar. It has also been presented in the Physiology and Pharmacology Congress – Mashhad and EFNS held in Iran and Belgium (2007).

I) *Assistant Professor of Physiology, Crossing of Chamran and Hemmat Expressways, School of Medicine, Physiology Research Center, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran (*Corresponding Author)*
II) *MSc in Physiology*