

مقاله پژوهشی

اثر MK-801 - آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده NMDA - بر اختلالات حسی - حرکتی ناشی از ایسکمی ناحیه ای مغزی در رت

اسماعیل خدائی^۱، سید رضا فاطمی^۲، زیبا رجائی^{۳*}، سعید سمرقندیان^۴، موسی الرضا حاج زاده^۵

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
^۲ استادیار گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
^۳ استادیار گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
^۴ استادیار گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
^۵ استاد گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
^{*} نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات علوم اعصاب و گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
پست الکترونیک: rajaeiz@mums.ac.ir

وصول: ۱۳۹۱/۴/۷ اصلاح: ۱۳۹۱/۶/۱۶ پذیرش: ۱۳۹۱/۹/۷

چکیده

زمینه و هدف: از آنجائی که گیرنده‌های NMDA به عنوان یک هدف درمانی در سکنه مغزی پیشنهاد شده‌اند، در این مطالعه اثر MK-801، آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده NMDA بر اختلالات حسی- حرکتی ناشی از ایسکمی در مدل انسداد شریان مغزی میانی (MCAO) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار: در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار (۳۵۰-۳۰۰ گرم) بطور تصادفی در ۵ گروه کنترل، شام، ایسکمی و دو گروه ایسکمی تحت تیمار با MK-801 با دوزهای ۰/۵ و ۱ میلی گرم/کیلوگرم مورد بررسی قرار گرفتند. القاء ایسکمی با انسداد شریان مغزی میانی (MCAO) صورت گرفت. بررسی وضعیت حرکتی حیوانات با استفاده از تست روتارود و آزمون تخته شیبدار در طول سه روز مطالعه انجام شد. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی انجام شد.

یافته ها: القاء ایسکمی باعث کاهش مدت زمان باقی ماندن بر روی استوانه در حال حرکت روتارود و نیز کاهش زاویه تخته شیبدار در گروه ایسکمی نسبت به گروه شام گردید ($P < 0/001$). تزریق MK-801 با دوزهای ۰/۵ و ۱ میلی گرم/کیلوگرم در طی سه روز بصورت وابسته به دوز باعث افزایش مدت زمان باقی ماندن بر روی روتارود و نیز افزایش زاویه سطح شیبدار نسبت به گروه ایسکمی گردید ($P < 0/001$).

نتیجه گیری: تزریق MK-801 اختلالات حسی- حرکتی ناشی از ایسکمی ناحیه ای مغزی را بهبود می بخشد، بنابراین استفاده از این دارو ممکن است ارزش درمانی برای بیماری سکنه مغزی داشته باشد.

واژه های کلیدی: MK-801 - رسپتور NMDA - ایسکمی مغزی - انسداد شریان مغزی میانی

مقدمه

شایعترین اختلال ناتوان کننده در بین بزرگسالان است. شیوع سکنه مغزی با بالا رفتن سن افزایش یافته و در مردها بیشتر از زنان و در سیاهپوستان آفریقایی بیشتر از سفید پوستان است [۲۰۱]. عوامل خطر ساز سکنه شامل افزایش فشار خون سیستولیک یا دیاستولیک، تنگی بدون علامت کاروتید، بالا بودن کلسترول، سیگار کشیدن،

سکنه مغزی (Stroke) سندرمی است که ناشی از اختلال جریان خون مغز می باشد و با شروع حاد علائم نورولوژیک که حداقل ۲۴ ساعت طول می کشد و نشانه درگیری موضعی سیستم عصبی مرکزی است مشخص می شود [۱]. سکنه مغزی سومین علت شایع مرگ و میر و

آزمایشگاهی اخیر هم نشان داده اند که ادم و التهاب مغزی و همچنین تخریب نورونی که بطور ثانوی ایسکمی مغزی را بوجود می آورند عامل اصلی مرگ و میر و اختلالات حرکتی متعاقب ایسکمی می باشند [۹].

MK-801 بعنوان آنتاگونیست غیررقابتی گیرنده NMDA گلوتامات می باشد که با مسدود کردن گیرنده NMDA، مانع از دپولایزاسیون طولانی مدت این گیرنده شده و از ورود بیش از حد یونهای سدیم و کلسیم به داخل سلول جلوگیری می کند [۱۰]. اگرچه پژوهش هائی با استفاده از این دارو در بررسی اختلالات نورولوژیکی متعاقب ایسکمی انجام شده، اما گاه نتایج آن متناقض می باشد و لذا انجام مطالعات بیشتر را توجیه پذیر می نماید. هدف ما در این مطالعه بررسی اثرات نوروپروتکتیو MK-801 بر روی اختلالات نورولوژیک متعاقب ایسکمی مغزی در مدل بستن شریان مغزی میانی (Middle Cerebral Artery Occlusion=MCAO) می باشد که امروزه کاربرد وسیعی در مطالعات ایسکمی مغزی دارد.

روش کار

در این مطالعه تجربی، ۳۰ سر رت نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۳۵۰-۳۰۰ گرم و با سن ۷-۸ ماه، که در بخش حیوانات دانشکده پزشکی مشهد پرورش یافته بودند مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات در قفسهای سه تایی با سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته و دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. آب و غذا به صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار داده شد. در کلیه مراحل، کار با حیوانات بر اساس پروتکل اخلاقی مورد تایید دانشگاه علوم پزشکی مشهد صورت گرفت.

تمامی حیوانات قبل از قرار گرفتن در گروه ها جهت ایستادن روی دستگاه روتارود بمدت ۳۰۰ ثانیه و ایستادن بر روی تخته شیبدار با زاویه ۷۵ درجه، طی ۳ روز و روزی ۲ جلسه آموزش داده شدند و از تمامی آنها قبل از قرار گرفتن در مطالعه آزمونی گرفته شد و حیواناتی که در این آزمونها به رکوردهای مورد نظر دست نمی یافتند حذف شدند. ۳۰ سر رت که شرایط لازم را کسب نمودند، بطور تصادفی به گروه های زیر تقسیم بندی شدند. حیوانات گروه های ایسکمی با تزریق داخل صفاقی کلرال هیدرات

مصرف بالای الکل و استفاده از قرصهای ضد بارداری است [۴-۲]. شیوع سکتة مغزی در دهه اخیر کاهش یافته، که علت اصلی آن بهبود و درمان فشار خون بالا می باشد، اما با این حال هنوز هم سکتة مغزی کماکان در میان بیماریهای مغز و اعصاب، رتبه اول را از لحاظ اهمیت و میزان شیوع دارد [۵،۲].

با توجه به مطالعات انجام شده، ۹۰-۸۰ درصد از موارد سکتة ها ناشی از انسداد عروقی می باشد و آمبولی با منشأ قلبی مسئول ۷۵ درصد از انسداد های عروق مغزی است، در حالیکه خونریزی داخل مغزی اولیه بطور نسبی کمتر از ۱۵ درصد از موارد سکتة را به خود اختصاص می دهد [۶]. طی دهه اخیر پیشرفتهای مهمی در توسعه درمانهای ترومبو آمبولی برای درمان سکتة ایسکمیک حاد انجام شده است که موثرترین روش شناخته شده آن استفاده از فعال کننده پلازمینوژن بافتی (tPA) plasminogen activator می باشد که در طول ۳ ماه مصرف، عوارض کلینیکی ناشی از سکتة را کاهش می دهد [۷]. با توجه به اینکه بازه زمانی درمان با tPA ۳ ساعت است، تنها در صد کمی از بیماران با سکتة ایسکمیک حاد قادر به دریافت tPA هستند (۲-۱ درصد). علاوه بر این درمان ترومبولیتیک خطر خونریزی مغزی را افزایش می دهد که این مسئله می تواند استفاده از این دارو را برای بیماران محدود کند [۷]. با توجه به محدودیت روشهای درمانی فعلی، یک نیاز حیاتی و لازم برای توسعه درمانهای نوروپروتکتیو وجود دارد که می تواند به تنهایی و یا در ترکیب با درمانهای نوروپروتکتیو دیگر برای بهبود نتایج ناشی از سکتة ایسکمیک استفاده شود.

مطالعات حاکی از این است که مکانیسمهای متعددی در بروز سکتة مغزی دخالت دارند که از جمله ترشح بیش از حد اسیدهای آمینه تحریکی نظیر گلوتامات و بدنبال آن فعال شدن گیرنده های NMDA است که نقش اصلی را در بروز سکتة مغزی ایفا می کنند. گلوتامیک اسید باعث فعال شدن طولانی مدت گیرنده NMDA شده و در نتیجه مقدار زیادی از یونهای سدیم و کلسیم از خارج سلول به داخل سلول منتقل می شود که این امر باعث تغییر گرا دیان الکتروشیمیایی و متورم شدن سلول و در نتیجه آسیب غیر قابل برگشت می شود [۸]. تحقیقات

(۴۰۰ میلی گرم/کیلو گرم) بیهوش شده و القاء ایسکمی در آنها به روش انسداد شریان مغزی میانی (MCAO) صورت گرفت. سپس تمامی حیوانات، در طی ۳ روز پس از القاء ایسکمی تحت بررسی اختلالات نورولوژیکی قرار گرفتند. تزریق داخل صفاقی MK-801 یا سالین هر روز ساعت ۸ صبح انجام گرفت.

گروه های آزمایش

۱- گروه کنترل: در این گروه عمل جراحی بر روی حیوانات انجام نشد.

۲- گروه شم: در این گروه، جراحی از نوع ایسکمی مغزی (MCAO) بدون انسداد شریان مغزی میانی انجام شد.

۳- گروه ایسکمی: در این گروه ایسکمی مغزی به روش انسداد شریان مغزی میانی (MCAO) به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد و حیوانات بمدت سه روز، روزانه یکبار سالین به میزان ۱۰ میلی لیتر/کیلوگرم بصورت داخل صفاقی دریافت نمودند.

۴- گروه ایسکمی ۰/۵: در این گروه، ایسکمی مغزی به روش انسداد شریان مغزی میانی (MCAO) بمدت ۱۵ دقیقه انجام شد و حیوانات بمدت سه روز، روزانه یکبار MK-801 به میزان ۰/۵ میلی گرم/کیلو گرم بصورت داخل صفاقی دریافت نمودند.

۵- گروه ایسکمی ۱: در این گروه، ایسکمی مغزی به روش انسداد شریان مغزی میانی (MCAO) بمدت ۱۵ دقیقه انجام شد و حیوانات بمدت سه روز، روزانه یکبار MK-801 به میزان ۱ میلی گرم/کیلو گرم بصورت داخل صفاقی دریافت نمودند.

برای ایجاد مدل سکته مغزی به روش انسداد شریان مغزی میانی (MCAO)، شکافی در جلو گردن حیوان ایجاد شد تا شریان کاروتید مشترک نمایان شود و بدنبال آن شاخه های شریان کاروتید مشترک یعنی شریانهای کاروتید داخلی و کاروتید خارجی از بافت همبند و عصب جدا گردید. سپس شریانهای کاروتید خارجی و مشترک مسدود شدند. پس از انسداد شریان کاروتید داخلی بوسیله کلامپ، از طریق شکافی که در شریان کاروتید خارجی ایجاد گردید، یک نخ بخیه نایلونی ۰-۳ تک فیلامنتی به طول ۵ سانتیمتر که نوک آن با گرم کردن توسط شعله گرد شده بود به داخل مجرای کاروتید خارجی فرستاده

شد. نخ نایلون از محل دو شاخه شدن شریان کاروتید مشترک، به آرامی در طول شریان کاروتید داخلی هدایت شد تا زمانیکه به قاعده مجسمه برسد و مسیر شریان مغزی میانی (MCA) را مسدود نماید و بدین ترتیب، کلیه مناطق جریان خون کاروتید داخلی، شریان مغزی قدامی و شریان مغزی خلفی بسته شد. سپس نخ بخیه نایلون به مدت ۱۵ دقیقه داخل شریان نگهداشته شد و پس از این مدت نخ بخیه نایلونی بیرون کشیده شد تا مجدداً جریان خون برقرار شود [۱۱].

در این مطالعه قبل از انجام ایسکمی، حیوانات بمدت ۳ روز، روزی ۲ جلسه بر روی دستگاه روتارود قرار گرفتند و سرعت روتارود در مدت ۵ دقیقه از ۴ به ۴۰rpm افزایش داده شد. حیواناتی که در روز سوم توانایی ایستادن بر روی روتارود را نداشتند از گروه های آزمایشی حذف شدند. این تست به این منظور انجام شد تا کلیه حیوانات قبل از آزمون در شرایط مشابهی قرار گیرند و چنانچه برخی از حیوانات در سیستم حسی- حرکتی دارای نقایصی باشند از ورود آنها به آزمون جلوگیری شود. بعد از عمل جراحی انسداد شریان مغزی میانی تست روتارود مجدداً طی سه روز متوالی انجام شد و زمان ایستادن حیوانات بر روی دستگاه روتارود ثبت گردید و این عمل برای هر موش ۳ مرتبه تکرار و میانگین آن محاسبه شد که در محاسبات آماری مورد استفاده قرار گرفت [۱۲].

تخته شیبدار شامل تخته ای است که میتوان آن را در زوایای مختلف از صفر تا ۹۰ درجه تنظیم کرد. در این آزمون حیوان بر روی تخته شیبدار قرار گرفته و تخته شیبدار بتدریج ۵ درجه ارتفاع می گیرد. زمانی که حیوان بتواند در یک زاویه مشخص حداقل ۵ ثانیه بایستد آن زاویه برای آن حیوان ثبت می شود. در این مطالعه از تست تخته شیبدار برای بررسی عملکرد حرکتی حیوانات استفاده شد، بدین منظور قبل از القاء ایسکمی حیوانات در طی ۳ روز، روزی ۲ جلسه بر روی تخته شیبدار قرار داده شدند و حیواناتی که نمی توانستند در زاویه ۷۵ درجه به مدت ۵ ثانیه بایستند از گروه های آزمایشی حذف شدند. بعد از عمل جراحی انسداد شریان مغزی میانی، بمدت سه روز متوالی، بصورت روزانه تست دوباره انجام شد و زاویه ایستادن حیوانات بر روی تخته شیبدار ثبت گردید [۱۳].

داده ها بصورت میانگین \pm خطای معیار (SEM) محاسبه شد. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی انجام شد و مقادیر $P < 0.05$ بعنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می شود مدت باقی ماندن موشهای صحرایی بر روی استوانه در حال حرکت روتارود (بر حسب ثانیه) در روز اول پس از ایسکمی تفاوت معنی داری را در گروه های مورد مطالعه نشان داد، بطوریکه مدت باقی ماندن بر روی روتارود در گروه شم $(203 \pm 5/96)$ ثانیه) نسبت به گروه کنترل بطور معنی داری کاهش یافت ($P < 0.001$). این مدت در گروه ایسکمی $48/33 \pm 1/8$ ثانیه بود که نسبت به گروه شم کاهش معنی داری را نشان داد ($P < 0.001$). مدت باقی ماندن حیوانات بر روی روتارود در گروه ایسکمی دریافت کننده دارو با دوز 0.5 میلی گرم/کیلو گرم ($60/5 \pm 3/3$ ثانیه) نسبت به گروه ایسکمی $48/33 \pm 1/8$ (ثانیه) اختلاف معنی داری را نشان نداد، در حالیکه این مدت در گروه ایسکمی دریافت کننده دارو با دوز 1 میلی گرم/کیلو گرم ($87/17 \pm 3/55$ ثانیه) نسبت به گروه ایسکمی $48/33 \pm 1/8$ (ثانیه) بطور معنی داری افزایش یافت ($P < 0.001$).

مدت باقی ماندن موشهای صحرایی بر روی استوانه در حال حرکت روتارود در روز دوم پس از ایسکمی همانند روز اول تفاوتی بارزی را در گروه های تحت مطالعه نشان داد. این مدت در گروه شم $242 \pm 8/5$ (ثانیه) نسبت به گروه کنترل همچنان کاهش معناداری نشان داد ($P < 0.001$) و در گروه ایسکمی $51 \pm 1/73$ (ثانیه) نیز نسبت به گروه شم این کاهش در مدت زمان باقی ماندن روی روتارود همچنان مشهود بود. در گروه ایسکمی دریافت کننده دارو با دوز 0.5 میلی گرم/کیلو گرم همانند روز اول مدت باقی ماندن حیوانات بر روی استوانه روتارود $68/33 \pm 3/57$ (ثانیه) نسبت به گروه ایسکمی $1/73$ $51 \pm$ (ثانیه) تفاوت بارزی را نشان نداد، در حالیکه این زمان در حیوانات گروه ایسکمی دریافت کننده دارو با دوز 1 میلی گرم/کیلو گرم $97/17 \pm 5/56$ (ثانیه) نسبت به

گروه ایسکمی $51 \pm 1/73$ (ثانیه) بطور معنی داری افزایش نشان داد ($P < 0.001$).

در روز سوم نیز، مدت باقی ماندن حیوانات بر روی روتارود در گروه شم $272/8 \pm 9/24$ (ثانیه) نسبت به گروه کنترل کاهش نشان داد ($P < 0.05$). این مدت در گروه ایسکمی $48/83 \pm 2/55$ ثانیه بود که همچنان نسبت به گروه شم $272/8 \pm 9/24$ (ثانیه) کاهش معنی داری داشت. در این روز اختلاف معنی داری در مدت زمان باقی ماندن بر روی روتارود بین هر دو گروه ایسکمی دریافت کننده دارو با دوزهای 0.5 ($74/83 \pm 3/74$ ثانیه) و 1 میلی گرم/کیلو گرم $112/83 \pm 7/76$ (ثانیه) با گروه ایسکمی مشاهده گردید.

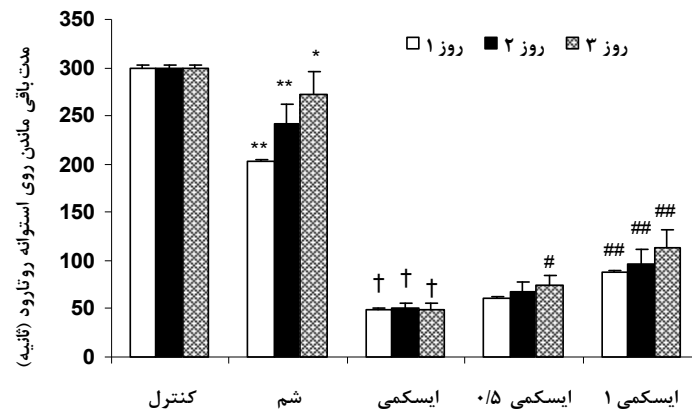
نمودار ۲ زاویه تخته شیبدار را در گروه های تحت مطالعه در آزمون تخته شیبدار (بر حسب درجه) نشان داده است. زاویه ایستادن موشهای صحرایی بر روی تخته شیبدار در روز اول پس از ایسکمی تفاوت زیادی را در گروههای تحت مطالعه نشان داد، بطوریکه زاویه تخته شیبدار در گروه شم $61/67 \pm 1/05$ (درجه) بطور معنی داری کمتر از گروه کنترل بود ($P < 0.001$). زاویه تخته شیبدار در گروه ایسکمی معادل $38/33 \pm 1/05$ (درجه) بود که نسبت به گروه شم $61/67 \pm 1/05$ (درجه) بطور معنی داری کمتر بود. این مقدار در گروه ایسکمی دریافت کننده دارو با دوز 0.5 میلی گرم/کیلو گرم $41/67 \pm 1/05$ (درجه) تفاوت معنی داری نسبت به گروه ایسکمی نداشت، در حالیکه در گروه ایسکمی دریافت کننده دارو با دوز 1 میلی گرم/کیلو گرم $45/83 \pm 0/83$ (درجه) بطور معنی داری بیشتر از گروه ایسکمی $38/33 \pm 1/05$ بود ($P < 0.001$).

زاویه تخته شیبدار در روز دوم پس از ایسکمی همانند روز اول تفاوت زیادی را در گروه های مورد مطالعه نشان داد، بطوریکه این زاویه در گروه شم $65/83 \pm 1/54$ (درجه) بطور معنی داری کمتر از گروه کنترل بود ($P < 0.001$). در گروه ایسکمی نیز این زاویه $37/5 \pm 1/12$ (درجه) نسبت به گروه شم بطور معنی داری کمتر بود ($P < 0.001$). در این روز، زاویه تخته شیبدار در گروههای ایسکمی دریافت کننده دارو با دوز 0.5 میلی گرم/کیلو گرم $42/5 \pm 1/12$ (درجه) و ایسکمی دریافت کننده دارو با دوز 1 میلی گرم/کیلو گرم $46/67 \pm 1/05$ (درجه) بطور

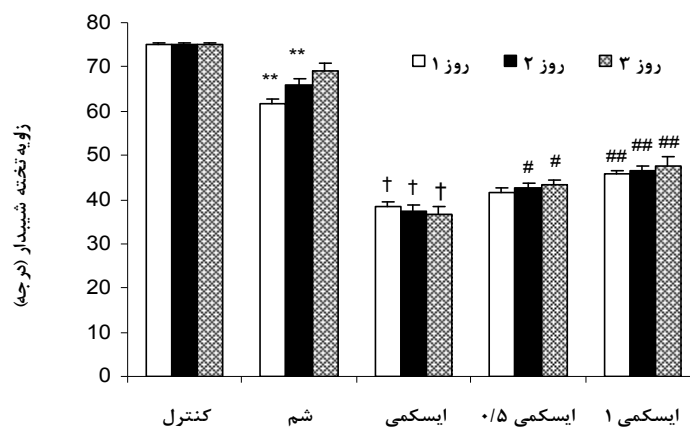
بطور معنی داری کمتر از گروه شم ($69/17 \pm 1/54$ درجه) بود. زاویه تخته شیبدار در گروه های ایسکمی دریافت کننده دارو با دوزهای ۰/۵ ($43/33 \pm 1/05$ درجه) و ۱ میلی گرم/کیلو گرم ($47/5 \pm 2/14$ درجه) بطور معنی داری بیشتر از گروه ایسکمی بود (به ترتیب $P < 0/05$ و $P < 0/001$).

معنی داری نسبت به گروه ایسکمی ($37/5 \pm 1/12$ درجه) بیشتر بود (به ترتیب $P < 0/05$ و $P < 0/001$).

در روز سوم، زاویه ایستادن در گروه شم ($69/17 \pm 1/54$ درجه) تفاوت معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان نداد. این زاویه در گروه ایسکمی ($36/67 \pm 1/67$ درجه)



نمودار ۱: مقایسه مدت زمان باقی ماندن روی استوانه در حال حرکت روتارود در گروه های مختلف در روزهای مورد مطالعه. داده ها بصورت میانگین \pm خطای معیار برای ۶ رت نمایش داده شده است. ($P < 0/05$ * و $P < 0/001$ ** در مقایسه با گروه کنترل، $P < 0/001$ † در مقایسه با گروه شم، $P < 0/05$ # و $P < 0/001$ ## در مقایسه با گروه ایسکمی).



نمودار ۲: مقایسه زاویه تخته شیبدار در گروه های مختلف در روزهای مورد مطالعه. داده ها بصورت میانگین \pm خطای معیار برای ۶ رت نمایش داده شده است ($P < 0/001$ ** در مقایسه با گروه کنترل، $P < 0/001$ † در مقایسه با گروه شم، $P < 0/05$ # و $P < 0/001$ ## در مقایسه با گروه ایسکمی).

بحث

بر اساس نتایج، استفاده از MK-801 در گروه های ایسکمی باعث افزایش مشخص در مدت زمان باقی ماندن حیوانات بر روی استوانه در حال چرخش روتارود و نیز بهبود تحمل افزایش زاویه سطح شیبدار در مقایسه با گروه ایسکمی شد و استفاده از دوز ۱ میلی گرم/کیلو گرم در مقایسه با ۰/۵ میلی گرم/کیلو گرم اثرات بهتری را نشان داد، چرا که اثرات دوز بالاتر در تست روتارود و تخته شیبدار از روز اول یا دوم در مقایسه با گروه ایسکمی بهبود بیشتری را در پی داشت و دوز پائینتر از روز دوم یا سوم با بهبود همراه بود. ضمناً توانایی حیوانات گروه ایسکمی ۱ در دستگاه روتارود از روز اول پس از ایسکمی بهتر از حیوانات گروه ایسکمی ۰/۵ بود. بنابراین بنظر می رسد استفاده از این دارو به صورت وابسته به دوز باعث بهبود وضعیت سیستم حسی- حرکتی در حیوانات دچار ایسکمی شده است.

ایجاد ایسکمی در حیوانات گروه ایسکمی نیز با کاهش شدید مدت باقی ماندن روی استوانه در حال چرخش روتارود و نیز کاهش توانایی برای قرار گرفتن در سطح شیبدار و عبارتی کاهش فعالیتهای حرکتی در مقایسه با گروه کنترل و گروه شم همراه بود. آسیب نورونی ناشی از ایسکمی شدیداً موجب اختلال حسی- حرکتی در حیوانات این گروه گردید که در طول سه روز مطالعه ادامه داشت. همچنین بر اساس نتایج این مطالعه انجام جراحی در گروه شم پس از ۲۴ ساعت باعث کاهش محسوس تواناییهای حسی- حرکتی حیوانات در دستگاه روتارود و تخته شیبدار در مقایسه با گروه کنترل شد. کاهش مدت باقی ماندن حیوانات روی استوانه در حال حرکت روتارود و کاهش زاویه سطح شیبدار ناشی از ضعف سیستم حسی- حرکتی می باشد [۱۴]. در مطالعه حاضر احتمالاً آسیب و استرس ناشی از جراحی باعث نقص سیستم حسی- حرکتی گذرا در حیوانات گروه شم شده است. این عوارض بتدریج در طی سه روز رو به کاهش گذاشت بطوریکه در گروه شم در روز سوم وضعیت مشابه حیوانات گروه کنترل شد. بنابراین احتمالاً این عوارض با جراحی انجام شده بر روی حیوانات این گروه مرتبط است.

برخی مطالعات توسط پژوهشگران در زمینه تاثیر MK-801 در مدل های ایسکمی مغزی انجام شده است. صراف یزدی و همکاران در سال ۱۹۹۸ تاثیر MK-801 و ایزوفلوران را بر موشهای صحرایی ایسکمی شده بررسی کردند و مشاهده نمودند که استفاده از MK-801 بعد از ۷ روز باعث کاهش حجم ناحیه ایسکمی در گروه ایسکمی در مقایسه با گروه شم گردید در حالیکه این تاثیر در مورد ایزوفلوران مشاهده نشد [۱۵]. مطالعه حاضر در مدت زمان کوتاهتری اثر دارو را بر وضعیت حرکتی و تعادل حیوان دچار ایسکمی مورد بررسی قرار داده و بطور دقیق با مطالعه صراف یزدی که طی مدت ۷ روز اثر دارو را بررسی کرده قابل انطباق نیست. در مطالعه دیگری نگوین^۱ و همکاران (۲۰۰۸) اثرات حفاظتی MK-801 و Sanguisorbae Radix (گیاهی که در کاهش خونریزیها کاربرد دارد) را بر استرس اکسیداتیو ناشی از ایسکمی مغزی مطالعه کردند و دریافتند که استفاده از هر دو ماده قبل از ایجاد ایسکمی به روش MCAO به مدت ۲ ساعت، باعث کاهش حجم ناحیه انفارکتوس و ادم مغزی می شود [۱۶]. در مطالعه فاستر^۲ و همکاران (۲۰۰۹)، MK-801 و یک مولکول کوچک که مهار کننده کیناز بود به ترتیب باعث کاهش ۴۶ و ۳۴ درصدی حجم ناحیه انفارکتوس و کاهش معنی دار در ادم متعاقب ایسکمی مغزی به روش MCAO در مقایسه با گروه شم شدند. در این مطالعه وقتی مهار کننده کیناز با فاصله زمانی زیاد بعد از ایجاد ایسکمی تجویز شد، نه تنها نتایج اولیه تکرار نشد بلکه حجم ناحیه آسیب دیده و ادم مغزی نسبت به گروه کنترل افزایش یافت [۱۷]. در مطالعه دیگری که توسط چونگ^۳ و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی عصاره برگ Ginkgo biloba (EGb761) در ترکیب با عوامل محافظت کننده ای که باعث کاهش حجم انفارکتوس مغزی می شوند انجام شد، نشان داده شد که ترکیب این عصاره به تنهایی یا همراه با سولفات منیزیم یا FK506 و MK-801 باعث کاهش حجم آسیب مغزی در مقایسه با گروه شم می شود و در این میان استفاده از MK-801

1- Nguyen

2- Foster

3- Chung

بهترین نتیجه را بدنبال داشت [۱۸]. دروید^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۷ در مطالعه ای که در خصوص اثرات MK-801 و tongxinluo (ترکیبی از گیاهان و حشرات که در طب چینی در درمان بیماریهای قلبی عروقی کاربرد دارد) بر روی آپوپتوز سلولهای عصبی بعد از ایجاد ایسکمی در رت انجام دادند مشاهده کردند که این دو می توانند میزان آپوپتوز بعد از ایجاد ایسکمی را در سلولهای عصبی کاهش دهند [۱۹]. مطالعه حاضر به بررسی وضعیت بافتی نپرداخته است و لذا در مورد حجم و سطح بافت آسیب دیده نمی توان قضاوت کرد.

همانطور که بیان شد، اکثر مطالعات مبین آن است که تزریق MK-801، باعث کاهش حجم ناحیه آسیب دیده و ادم مغزی در حیوانات مبتلا به ایسکمی مغزی می شود. اما گزارشهای متناقضی نشان داده اند که MK-801 می تواند اثرات مفید یا مخرب بر اعمال حسی - حرکتی در مدلهای حیوانی سخته مغزی داشته باشد (۲۰-۲۲). در مطالعه لی^۲ و همکاران (۲۰۰۵) مشاهده شد که تزریق MK-801 فعالیت حرکتی حیوانات را در مدل ایسکمی موقت مغزی (۳۰ دقیقه) کاهش داد و نیز بهبودی در عملکرد حیوانات بر روی تست روتارود در این مدل مشاهده نشد (۲۱). در حالیکه در مطالعه ای دیگر همین محققین گزارش کردند که MK-801 اثر مفید بر اختلالات نورولوژیک و نیز عملکرد حیوانات در تست روتارود در حیوانات دچار ایسکمی دائم مغزی نشان داد، اما اثر مفیدی بر فعالیت حرکتی حیوانات نداشت و حتی فعالیت آنها را کاهش داد (۲۲). نتایج مطالعه حاضر مبنی بر اثر MK-801 بر اختلالات حرکتی با استفاده از تست روتارود با نتایج این محققین در مدل ایسکمی موقت مغزی در تضاد است و با نتایج مدل ایسکمی دائم مغزی همخوانی دارد.

شواهد نشان می دهد که سمیت تحریکی نقش قابل ملاحظه ای در ضایعاتی که بر اثر سخته مغزی در مغز ایجاد می شود، ایفا می کند. در نورونها و سلولهای گلیال، معمولاً گلوتامات بوسیله سیستمهای جذب مجدد وابسته به یون سدیم از مایع خارج سلولی مغز برداشته می شود.

هنگامی که یک سرخرگ مغزی مسدود شود، سلولهای واقع در ناحیه ای که به شدت دچار ایسکمی شده است می میرند. سلولهای اطراف که به طور نسبی دچار ایسکمی شده اند ممکن است زنده بمانند، اما توانایی حفظ گرادیان بین غشائی یون سدیم که نیروی محرکه باز جذب گلوتامات است را از دست می دهند. بنابراین تجمع گلوتامات در مایع خارج سلولی به حدی می رسد که موجب بروز ضایعه ناشی از سمیت تحریکی و مرگ سلولی در اطراف ناحیه ای که به طور کامل تخریب شده، می گردد [۸]. در واقع در شرایط ایسکمی، افزایش تجمع گلوتامات در سیناپسها، باعث تحریک بیش از حد رسپتورهای NMDA شده و ورود بیش از حد یونهای کلسیم از طریق این رسپتورها موجب تولید رادیکالهای آزاد آسیب رسان و تحریک فرایندهای آنزیمی می شود که باعث مرگ سلولی می شوند [۲۳]. از آنجا که محور عمده این وقایع گیرنده های NMDA می باشد بنابراین MK-801 با مسدود کردن گیرنده NMDA مانع از ایجاد سمیت تحریکی در شرایط ایسکمی می شود. در مطالعه حاضر نیز احتمالاً استفاده از MK-801 با همین مکانیسم باعث بهبود رفتارهای مرتبط با سیستم حسی - حرکتی در حیوان ایسکمی گردیده است.

انجام مطالعه بمدت سه روز در این پژوهش نسبتاً کوتاه و از محدودیتهای مطالعه بحساب می آید و چنانچه مطالعات بمدت طولانیتر در حد یک هفته تا ده روز انجام شود و اختلالات تعادلی - حرکتی با نتایج بافت شناسی مقایسه گردد منجر به غنای مطالعه و نتیجه گیری کاملتر می گردد.

نتیجه گیری

در مجموع بر اساس تحقیق انجام شده بنظر می رسد MK-801 بعنوان مهار کننده غیر رقابتی گیرنده های NMDA به صورت وابسته به دوز باعث کاهش اختلالات حسی - حرکتی به دنبال ایسکمی ناحیه ای مغزی می شود. مطالعات بیشتری در این زمینه لازم است تا مشخص شود آیا استفاده از این دارو درمان موثری برای بیماران مبتلا به سخته مغزی خواهد بود.

1 -Dravid

2 -Li

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد و دانشگاه شهید چمران اهواز به جهت حمایت مالی پژوهش حاضر اعلام می دارند.

این مقاله برگرفته از پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد می باشد. نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را

References

- Greenberg DA, Aminoff MJ, Simon RP, editors, Clinical Neurology, New York: McGraw Hill 2002.
- Mazdeh M, Seif Rabie MA, Relative frequency of death in stroke patients with normal and high blood pressure, J Ardabil Univ Med Sci 2007; 8(3): 309-14.
- Victor M, Ropper AH, Adams and Victor's Principles of Neurology, New York: Mc Graw Hill 2001.
- Shaygan-Nezhad V, Zare M, The Role of Smoking and Passive Smoking in CVA in Patients with Hypertension, Quart J Fund Men Health 2003; 6 (19&20): 114-20[Persian]
- Gupta YK, Briyal S, Animal models of cerebral ischemia for evaluation of drugs, Indian J Physiol Pharmacol 2004; 48(4):379-94.
- Sacco RL, Adams R, Albers G, "et al", Guidelines for prevention of stroke in patients with ischemic stroke or transient ischemic attack, Stroke 2006; 37(2): 577-617.
- Noor R, Wang XC, Shuaib A, Hyperthermia masks the neuroprotective effects of tissue plasminogen activator, Stroke 2005; 36(3): 665-9.
- Ganong WF, Ganong's Review of Medical Physiology, California: Appleton & Lange 2010.
- Hou SZ, Li Y, Zhu XL, "et al", Ameliorative effects of Diammonium Glycyrrhizinate on inflammation in focal cerebral ischemic-reperfusion injury, Brain Res 2012; 1447: 20-7.
- Kalia LV, Kalia SK, Salter MW, NMDA receptors in clinical neurology, Excitatory times ahead, Lancet Neurol 2008; 7(8): 742-55.
- Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, "et al", Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats, Stroke 1989; 20(1): 84-91.
- Minnerup J, Seeger FH, Kuhnert K, "et al", Intracarotid administration of human bone marrow mononuclear cells in rat photothrombotic ischemia, Exp Transl Stroke Med 2010; 2(1):3.
- Heuland E, Germaux MA, Galineau L, "et al", Prenatal MDMA exposure delays postnatal development in the rat: a preliminary study, Neurotoxicol teratol 2010; 32(4): 425-31.
- Ishrat T, Sayeed I, Atif F, "et al", Effects of progesterone administration on infarct volume and functional deficits following permanent focal cerebral ischemia in rats, Brain Res 2009; 1257: 94-101.
- Sarraf-Yazdi S, Sheng H, Miura Y, "et al", Relative neuroprotective effects of Dizocilpine and Isoflurane during focal cerebral ischemia in the rat, Anesth Analg 1998; 87(1):72-8[Persian]
- Nguyen TT, Cho SO, Ban JY, "et al", Neuroprotective effect of Sanguisorbae radix against oxidative stress-induced brain damage: in vitro and in vivo, Biol Pharm Bull 2008; 31(11): 2028-35.
- Foster KA, Regan HK, Danziger AP, "et al", Attenuation of edema and infarct volume following focal cerebral ischemia by early but not delayed administration of a novel small molecule KDR kinase inhibitor, Neurosci Res 2009; 63(1):10-16.
- Chung SY, Cheng FC, Lee MS, "et al", Ginkgo biloba Leaf Extract (EGb761) combined with neuroprotective agents reduces the infarct volumes of gerbil ischemic brain, Am J Chin Med 2006; 34 (5): 803-17.
- Dravid SM, Erreger K, Yuan H, "et al", Subunit-specific mechanisms and proton sensitivity of NMDA receptor channel block, J Physiol 2007; 581(Pt 1):107-28.
- Barth TM, Grant ML, Schallert T, Effects of MK-801 on recovery from sensorimotor cortex lesions, Stroke 1990; 21(11 Suppl):III153-7.
- Li J, Henman MC, Tatlisumak T, "et al", The pre-ischaemic neuroprotective effects of N1-dansyl-spermine in a transient focal cerebral ischaemia model in mice, Brain Research 2005; 1055 (1-2): 180 - 5.
- Li J, Henman MC, Doyle KM, "et al", The pre-ischaemic neuroprotective effect of a novel polyamine antagonist, N1-dansyl-spermine in a permanent focal cerebral ischaemia model in mice, Brain Res 2004; 1029 (1): 84- 92.
- Dirnagl U, Simon RP, Hallenbeck JM, Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection, Trends Neurosci 2003; 26(5): 248-54.

Original Article

Effect of MK-801, a non-competitive NMDA receptor antagonist, on motor deficits induced by focal cerebral ischemia in the rat

Khodae E¹, Fatemi SR², Rajaei Z^{3*}, Samarghandian S⁴, Hadjzadeh MA⁵

¹ M.Sc student of Physiology, Shahid Chamran University of Ahwaz, Ahwaz, Iran.

² Assistant Professor of Basic Sciences department, Shahid Chamran University of Ahwaz, Ahwaz, Iran.

³ Assistant Professor of Physiology and Neuroscience Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

⁴ Assistant Professor of Physiology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

⁵ Professor of physiology and Neuroscience Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

***Corresponding Author:**

Neuroscience Research Center
and Department of Physiology,
School of Medicine, Mashhad
University of Medical
Sciences, Mashhad, Iran.
E-mail: rajaeiz@mums.ac.ir

Abstract

Background & Objectives: Since NMDA receptors have been introduced as a therapeutic target, the effect of MK-801, a non-competitive NMDA receptor antagonist, was evaluated on motor deficits following ischemia induced by middle cerebral artery occlusion (MCAO).

Materials and Methods: In this experimental study, thirty male Wistar rats (300-350g) were randomly divided into 5 groups (n=6 in each): intact control, sham-operated, ischemia and two ischemic groups treated daily with MK-801 at doses of 0.5 and 1 mg/kg for 3 consecutive days. Ischemia was induced by transient middle cerebral artery occlusion (MCAO) for 15 minutes. Motor deficits in experimental groups were evaluated using rotarod and incline board tests for 3 consecutive days.

Results: According to results, MCAO induced sensory motor deficits in ischemic group, as rotarod time and incline board angles were decreased in ischemic group compared to sham operated group ($P<0.001$). The administration of MK-801 for 3 days at doses of 0.5 and 1 mg/kg increased rotarod time and incline board angle in treated groups compared to ischemic group ($P<0.001$).

Conclusion: Our study revealed that MK-801 could improve motor deficits induced in ischemic rats. Thus, it may be suggested that MK-801 might have a therapeutic value for the treatment of stroke

Key words: MK-801, NMDA receptor, Focal cerebral ischemia, Middle cerebral artery occlusion

Submitted: 27 Jun 2012

Revised: 6 Sep 2012

Accepted: 27 Nov 2012