Physiology and Pharmacology, 13 (1), 10 - 17
Spring 2009 [Article in Persian]

Physiology
and
Pharmacology

Role of matrix metalloproteinase II in the analgesia induced by neuronal nitric oxide inhibition in rat

Fatemeh Khojasteh [1], Majid Hasanpour-Ezati [2], Javad Mirnajafi-Zadeh [1], Saeed Semnanian [1*]

1. Dept. Physiology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Dept. Biology, Shahed University, Tehran, Iran

Received: 2 Dec 2008 Revised: 9 Fab 2009 Accepted: 19 Fab 2009

Abstract

Introduction: Matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) is one of the inflammatory mediators that is involved in the nociceptive processing and its production is regulated by many inflammatory factors such as nitric oxide. We studied the role of MMP-2 in the analgesia induced by an nNOS inhibitor.

Methods: Considering that nitric oxide has many roles in pain processing, we studied the CSF levels of MMP-2 after hind paw formalin injection (50 µl, 2.5%) and neuronal nitric oxide synthase inhibition intrathecally. We also studied the effect of MMP-2 inhibitor on pain behavior and its role in the analgesic effect of neuronal nitric oxide synthase (nNOS) inhibitor.

Results: Rats that received an MMP-2 inhibitor (30 mM) showed severe responses to formalin injection. Pain was reduced after nNOS inhibition. Prior to nNOS inhibitor injection, MMP-2 inhibition reduced the analgesic effects of nNOS inhibitor. Immunological studies showed that MMP-2 was increased in rats that received nNOS inhibitor.

Conclusion: These data suggest a possible role for MMP-2 in the analgesia induced by nNOS inhibitors.

Keywords: matrix metalloproteinase; nitric oxide; formalin test

* Corresponding author e- mail: ssemnan@modares.ac.ir
Available online @: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۳ (۱)، ۱۰ – ۱۷
بهار ۱۳۸۸

فیزیولوژی و فارماکولوژی

نقش ماتریکس متالوپروتئیناز ۲ در اثر بی‌دردی زایی ناشی از مهار نیتریک اکساید سنتاز نورونی در موش صحرایی

فاطمه خجسته[۱]، مجید حسن‌پور عزتی[۲]، سید جواد میرنجفی‌زاده[۱]، سعید سمنانیان[۱*]
۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۲. گروه زیست شناسی، دانشگاه شاهد، تهران

دریافت: ۱۱ آذر ۸۷ بازبینی: ۲۰ بهمن ۸۷ پذیرش: ۳۰ بهمن ۸۷

چکیده

مقدمه: آنزیم ماتریکس متالوپروتئیناز نوع دو (MMP-2) یکی از واسطه‌های التهابی است که به نظر می‌رسد در فرایند پردازش درد دخیل باشد و تولید آن توسط عوامل التهابی مانند نیتریک اکساید تنظیم می‌شود. با توجه به نقش شناخته شده نیتریک اکساید در فرایند پردازش درد به ویژه دردهای التهابی، در مطالعه حاضر نقش ماتریکس متالوپروتئیناز ۲ در ایجاد اثر بی‌دردی زایی ناشی از مهار نیتریک اکساید سنتاز نورونی در آزمون فرمالین مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: سطح MMP-2 در مایع مغزی نخاعی موش‌های صحرایی، پس از تزریق فرمالین (۲/۵٪، ۵۰μL) و بعد از تزریق داخل نخاعی مهارکننده نیتریک اکساید سنتاز نورونی، به روش الایزا مورد بررسی قرار گرفت. همچنین نقش تزریق داخل نخاعی مهارکننده MMP-2 را بر (۱) رفتار درد و (۲) در اثر بی دردی زایی ناشی مهار نیتریک اکساید سنتاز نورونی (nNOS) بررسی شد.

یافته‌ها: موش هایی که مهارکننده MMP-2 را با دوز ۳۰ میلی مولار دریافت کرده بودند، پاسخ شدیدی به درد ناشی از تزریق فرمالین نشان دادند. شدت درد پس از مهار nNOS کاهش یافته بود. مطالعات ایمونولوژیک (ELISA) نشان دادند میزان MMP-2 در موش هایی که قبل از تزریق فرمالین مهارکننده nNOS را دریافت کرده بودند کاهش یافته است.

نتیجه‌گیری: این بررسی‌ها نقش احتمالی MMP-2 را در ایجاد اثرات بی دردی مهارکننده nNOS پیشنهاد می‌کنند.

واژه‌های کلیدی: ماتریکس متالوپروتئیناز۲، نیتریک اکساید، آزمون فرمالین.

مقدمه

آنزیم‌های ماتریکس متالوپروتئیناز (MMP) یا ماتریکسین در بازآرایی ماتریکس خارج سلولی (ECM) و فرایندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک متعددی در نورون‌ها و سلول‌های گلیال نقش دارند [۱۹]. همچنین سطح این آنزیم در بافت‌های ملتهب و نیز در درد نوروپاتیک افزایش می‌یابد. تزریق مهارکننده‌های MMP-2 و MMP-9 در مدل‌های درد نوروپاتیک موجب کاهش آلودینای ناشی از قطع عصب می‌شود [۸]. در مطالعه دیگری تزریق مهارکننده غیراختصاصی آنزیم MMP-2 به موش صحرائی موجب کاهش میزان درد ناشی از تزریق فرمالین شد [۱۷]. این آنزیم توسط میانجی‌های متعددی چون اینترلوکین ۱بتا، عامل توموری نکروزی آلفا (TNF-α) و

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: ssemnan@modares.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

نیتریک اکساید [۱] تنظیم می‌شود.

نیتریک اکساید از ال–آرژنین توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتاز تولید می‌شود و ال–سیترولین را به عنوان محصول جانبی تولید می‌کند. تاکنون سه ایزوفرم از این آنزیم شناخته شده است: نیتریک اکساید سنتاز نورونی (nNOS)، نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیال (eNOS) و نیتریک اکساید سنتاز القا شده (iNOS) [۱۱].

نیتریک اکساید سنتاز نورونی آنزیم تنظیم کننده تولید NO در بافت‌های عصبی در حالت طبیعی است. در سالهای اخیر نیتریک اکساید به عنوان یک واسطه التهابی مورد توجه قرار گرفته است. تزریق زیر جلدی فرمالین به کف پای موش صحرایی، افزایش دو مرحله‌ای در سطح ترشح نیتریت/نیترات نخاعی ایجاد می‌کند که این افزایش دو مرحله‌ای همزمانی خاصی با فاز یک و دو آزمون فرمالین دارد [۱۲]. مطالعات Dubuisson و Dennis (۱۹۷۷) نشان داد که درد حاصل از تزریق فرمالین با توجه به رفتارهای ثبت شده دارای دو مرحله مشخص می‌باشد. مرحله اول بلافاصله بعد از تزریق فرمالین شروع شده و تا حدود ۳ تا ۵ دقیقه طول می‌کشد. مرحله دوم، ۱۵ تا ۲۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین شروع شده و در حیوانات مختلف در زمان‌های مختلفی به اتمام می‌رسد که معمولاً در موش صحرایی به ۶۰ تا ۹۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین می‌رسد. مرحله اول درد یا فاز یک احتمالاً به علت تحریک شیمیایی مستقیم گیرنده‌های درد می‌باشد. شواهد و نتایج برخی آزمایش‌ها نشان دهنده این مساله می‌باشد که مرحله اول عمدتاً در اثر تحریک فیبرهای آوران اولیه C و نه فیبرهای آوران اولیه $A\delta$ باشد [۲].

پس از مرحله اول ۱۰ تا ۱۵ دقیقه رفتار حیوان بیانگر تخفیف درد می‌باشد. مرحله دوم یا مرحله درد تونیک پس از این تخفیف درد که به تخفیف فیزیولوژیکی مشهور است شروع می‌شود. داروهای مختلف تسکین دهنده درد یا افزایش دهنده درد روی این دو مرحله اثرات متفاوتی دارند و ممکن است تنها روی یک مرحله اثر بگذارند.

مهار کننده‌های غیر اختصاصی نیتریک اکساید سنتاز هم به صورت تجویز عمومی و هم به طور داخل نخاعی، میزان درد ناشی از آزمون فرمالین را به ویژه در مرحله دوم این آزمون کاهش می‌دهند [۱۸, ۵]. همچنین شواهدی دال بر نقش نیتریک اکساید در ایجاد پر دردی التهابی ارائه شده است [۱۰].

با توجه به نقش و اهمیت نیتریک اکساید در درد التهابی و نیز اهمیت MMP-2 در فرایند التهاب، در این پژوهش به بررسی نقش آنزیم ماتریکس متالوپروتئیناز نوع ۲ در سطح نخاع بر درد التهابی پرداخته و نقش آن را در بی‌دردی زائی ناشی از مهار نیتریک اکساید مورد بررسی قرار دادیم.

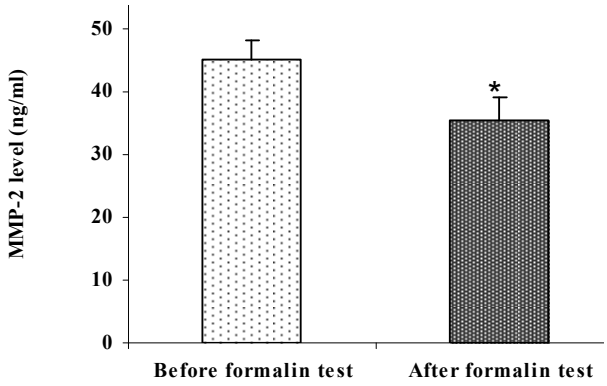
مواد و روش‌ها

موش‌های صحرایی سفید آزمایشگاهی نر نژاد Sprague Dawley در محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۵۰ گرم استفاده شدند. حیوانات در شرایط نوری بصورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت اتاق در محدوده ۲۲ درجه سانتی گراد نگهداری می‌شدند. حیوانات از نظر دسترسی به آب و غذا هیچ گونه محدودیتی نداشتند.

این بررسی شامل شش گروه (۱) کنترل، (۲) گروه دریافت کننده مهار کننده نیتریک سنتاز نورونی و (۳) حلال آن (۴) گروه دریافت کننده مهار کننده MMP-2 و (۵) حلال آن (۶) گروه دریافت کننده مهارکننده اختصاصی آنزیم MMP-2 همراه با مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز نورونی بود. تمامی گروه‌ها شامل پنج سر موش صحرایی بودند.

به منظور گرفتن نمونه مایع مغزی نخاعی (CSF) برای تعیین سطح MMP-2 موش‌ها توسط دی اکسید کربن بی‌هوش می‌شدند و نمونه‌گیری از ناحیه سیسترنا ماگنا انجام می‌شد. نمونه‌گیری از مایع مغزی نخاعی از موش صحرایی به روش‌های مختلفی انجام می‌شود، از جمله این روش‌ها کانول‌گذاری در سیسترنا ماگنا و کانول‌گذاری داخل بطنی است. اگر چه با این تکنیک‌ها می‌توان تغییرات مداوم CSF را ارزیابی کرد، اما جراحی و تحریکات دردناک ناشی از آن ممکن است بر نتایج اثر بگذارند. به همین دلیل ما از روش زیر برای نمونه‌گیری از ناحیه سیسترنا ماگنا استفاده کردیم.

حیوان پس از بی‌هوش شدن در دستگاه استریوتاکس قرار می‌گرفت و سر حیوان ۳۰ تا۴۰ درجه نسبت به افق خم می‌شد و پس از پیدا کردن محل برجستگی استخوان پس‌سری توسط لمس، از قسمت زیر آن سوزن نمونه برداری (سوزن دندانپزشکی شماره۳۰) تا عمق حدود ۴ میلیمتر از سطح پوست وارد می‌شد، به این ترتیب نوک سوزن در ناحیه سیسترنا ماگنا قرار می‌گرفت



شکل ۱- مقایسه سطح آنزیم MMP-2 در نمونه مایع مغزی نخاعی موش‌های گروه کنترل قبل و بعد از آزمون فرمالین (n=۵) (P<۰/۰۵*, paired sample test)

و توسط سرنگ متصل به این سوزن مقدار۵۰ تا۱۰۰ میکرولیتر ازCSF نمونه برداری می‌شد.

سیسترنا ماگنا فضای پر از CSF بین مخچه و بصل‌النخاع است که همراه با نواحی اطرافش حجمی حدود ۲۴۶ میکرولیتر از کلCSF را در بر می‌گیرد. معمولا" به روش ذکر شده حجمی حدود ۷۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر از CSF از ناحیه سیسترنال قابل جمع آوری است. حجم کلی CSF در موش صحرایی حدود ۴۰۰ میکرولیتر و سرعت تشکیل آن تقریباً ۲/۲ میکرولیتر در دقیقه است. بنابراین، حجم نمونه‌برداری شده در عرض یک ساعت جایگزین می‌شود [۲۰]. نمونه‌های CSF در فریزر با دمای ۷۰- درجه سانتی گراد تا زمان سنجش نگهداری می‌شدند. میزان MMP-2 در مایع مغزی نخاعی با روش الایزا توسط کیت اندازه‌گیری MMP-2 تهیه شده از شرکت AMERSHAM آمریکا با سطح حساسیت ۰/۱۹ (نانوگرم/ میلی لیتر) اندازه‌گیری شد. برای تزریق دارو نیز حیوان پس از بی‌هوشی توسط دی‌اکسیدکربن در دستگاه استریوتاکس قرار می‌گرفت و ابتدا مقداری از CSF، برای اطمینان از قرار گرفتن نوک سوزن در فضای داخل نخاعی کشیده می‌شد و سپس بر اساس روش کار هر کدام از داروهای مورد استفاده در این پژوهش در حجم ۵ میکرولیتر تزریق می‌شدند.

برای انجام آزمون فرمالین پس از سازگار شدن حیوان با محفظه آزمون به مدت ۳۰ دقیقه، فرمالین با غلظت ۲/۵٪ و با حجم ۵۰ میکرولیتر به کف پای چپ تزریق می‌شد. برای تعیین میزان درد، تعداد خم کردن/ تکان دادن پای چپ (Flinching/Shaking) در هر دقیقه ثبت می‌شد. این ارزیابی به مدت ۶۰ دقیقه انجام می‌شد. برای تحلیل نتایج مشابه با روشی که در تحقیق Yaksh انجام شده است، میانگین پاسخ‌ها از دقیقه ۱ تا ۹ برابر با فاز اول و میانگین پاسخ‌ها از دقیقه ۲۰ تا ۶۰ معادل با فاز دوم آزمون فرمالین در نظر گرفته شد [۱۶].

در گروه کنترل که به منظور بررسی اثر درد ناشی تزریق فرمالین بر میزان آنزیم MMP-2 انجام شد، نمونه اول CSF قبل از آزمون فرمالین و نمونه دوم ۹۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین گرفته می‌شد.

در گروه دوم که به منظور بررسی اثر مهارکننده نیتریک سنتاز نورونی (NOS Inhibitor I تهیه شده از شرکت CALBIOCHEM آلمان) با حجم ۵ میکرولیتر و غلظت۱۰۰ μM به ناحیه سیسترنا ماگنا تزریق می‌شد. پس از گذشت ۲۰ دقیقه از تزریق دارو، حیوان مورد آزمون فرمالین قرار می‌گرفت و پس از گذشت ۹۰ دقیقه از تزریق فرمالین مجدداً نمونه CSF از حیوان گرفته می‌شد.

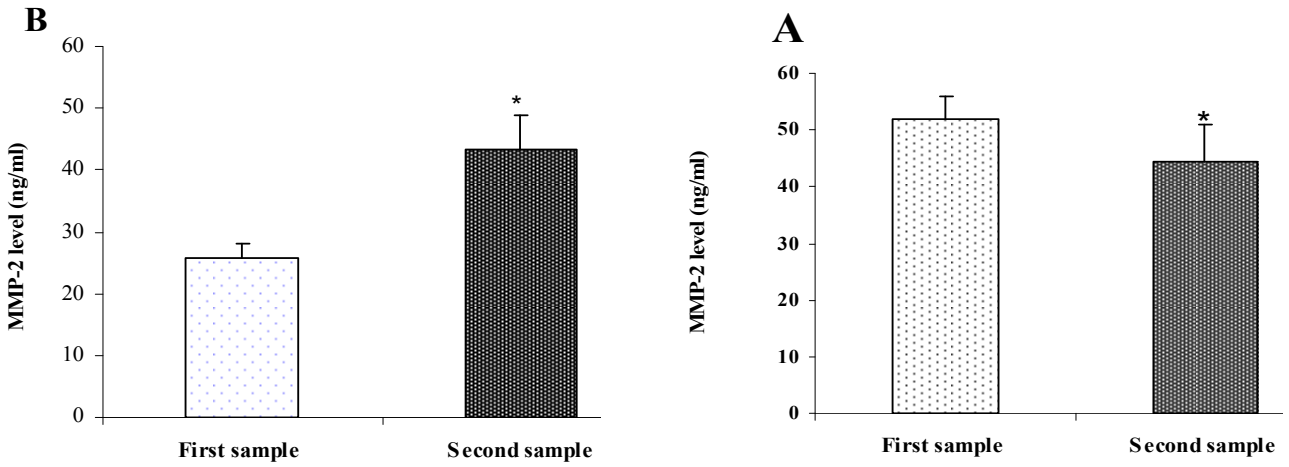
گروه سوم مشابه با گروه دوم انجام شد با این تفاوت که حلال مهار کننده نیتریک اکساید یعنی سرم فیزیولوژی با حجم ۵ میکرولیتر به جای دارو تزریق شد.

در گروه چهارم که برای بررسی اثر مهار کننده MMP-2 بر درد فرمالین مورد مطالعه قرارگرفت، ابتدا مهار کننده MMP-2 با غلظت ۳۰ میلی مولار به صورت داخل نخاعی به ناحیه سیسترنا ماگنا تزریق می‌شد، سپس حیوان پس از سازگار شدن با محفظه آزمون فرمالین مورد آزمون فرمالین قرار می‌گرفت.

در گروه پنجم حلال داروی مهارکننده MMP-2 که محلول دی متیل سولفوکسید با غلظت ۱٪ بود تزریق و آزمون فرمالین انجام شد. در گروه ششم که به منظور بررسی نقش آنزیم MMP-2 بر بی دردی زایی ناشی از مهار نیتریک اکساید انجام شد، ابتدا MMP-2 با غلظت ۳۰ میلی مولار و با حجم ۵ میکرولیتر تزریق می‌شد و بعد از ۱۰ دقیقه مهارکننده nNOS با غلظت ۱۰۰ میکرو مولار به صورت داخل نخاعی تزریق می‌شد. پس از ۲۰ دقیقه آزمون فرمالین انجام می‌شد.

یافته‌ها

در گروه کنترل سطح آنزیم ماتریکس متالوپروتئیناز نوع ۲ در نمونه گرفته شده بعد از آزمون فرمالین نسبت به نمونه اول



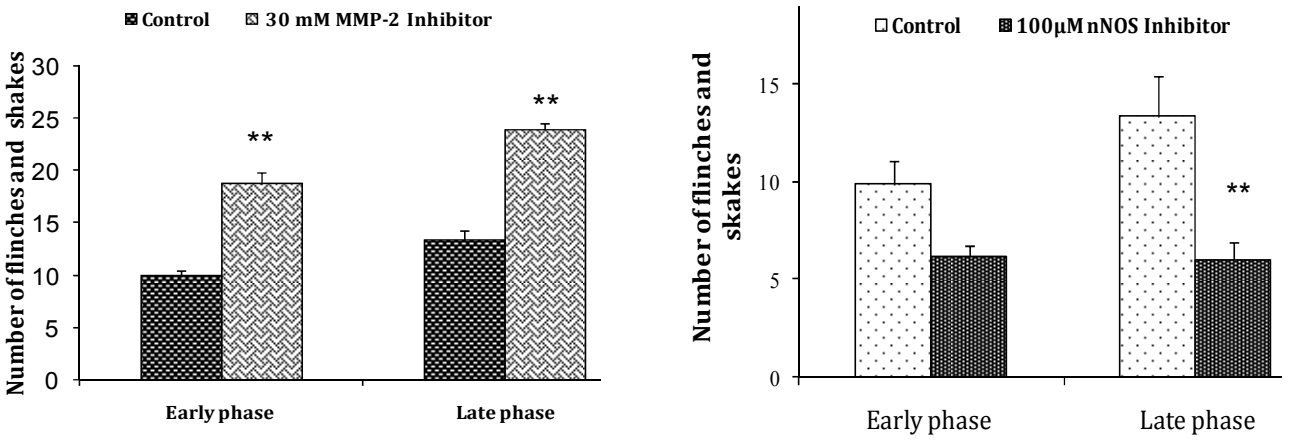
شکل۲- (A) تأثیر تزریق حلال قبل از آزمون فرمالین بر میزان آنزیم(B) MMP-2. تأثیر تزریق داخل نخاعی مهارکننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز نورونی نیم ساعت قبل از تزریق فرمالین بر میزان آنزیم MMP-2 در نمونه CSF جمع آوری شده از موش‌های صحرایی. (first sample: نمونه قبل از تزریق، second sample: نمونه پس از آزمون فرمالین (n=۵) (paired sample test, * P<۰/۰۵)

کاهش معنی‌داری (pair sample test P<۰/۰۵) به میزان ۲۶٪ را نشان داد. در گروه دریافت کننده حلال داروی مهارکنندهnNOS میزان آنزیم MMP-2 در نمونه گرفته شده بعد از آزمون فرمالین نسبت به نمونه اول نیز به میزان ۲۶٪ کاهش داشت. شکل ۱ و قسمتA از شکل۲ به ترتیب تغییرات سطح آنزیمMMP-2 را در گروه کنترل و حلال نشان می‌دهند.

طبق شکل۳، در گروه دوم موش‌های صحرایی دریافت کننده مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز نورونی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را درمیزان درد (P<۰/۰۰۱) نشان دادند. بررسی‌های الایزای انجام شده در نمونه‌های گرفته شده از موش‌های این گروه نشان داد که سطح آنزیم MMP-2 به میزان ۷۴٪ و به طور معنی دار (pair sample test, P<۰/۰۵) افزایش یافته است. شکل ۲ قسمت B تغییرات سطح آنزیم MMP-2 را در این گروه نشان می‌دهد.

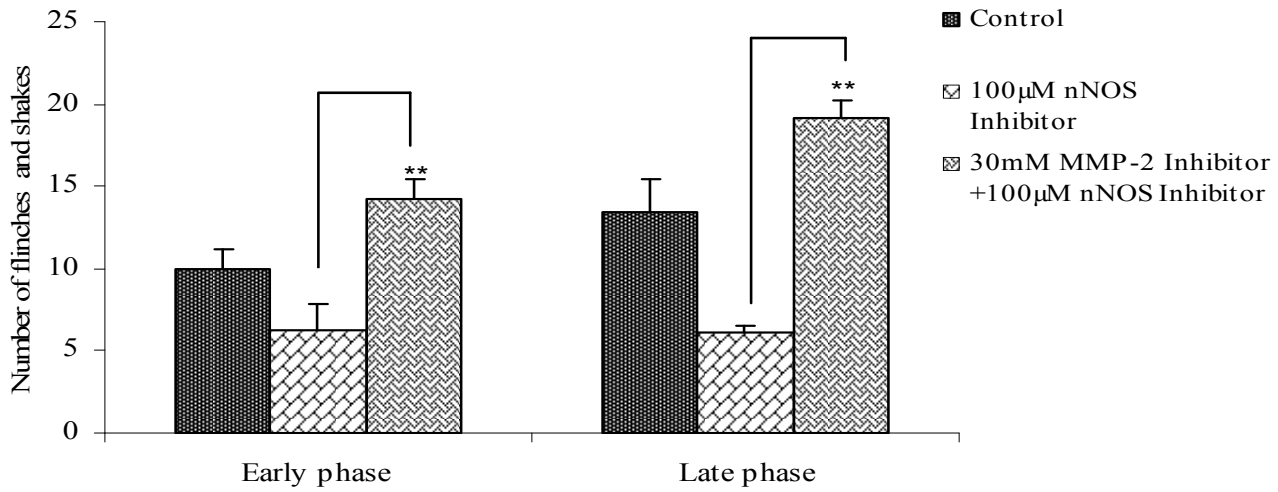
همانطور که در شکل۴ مشاهده می‌شود، موش‌های گروه چهارم که فقط مهارکننده اختصاصی آنزیم MMP-2 را دریافت کرده بودند، افزایش معنی داری را در میزان درد نسبت به گروه کنترل نشان دادند (P<۰/۰۰۱).

موش‌های گروه دریافت کننده هر دو داروی مهارکننده MMP-2 و nNOS نسبت به گروهی که فقط داروی مهار کننده nNOS را دریافت کرده بودند، افزایش معنی داری (P<۰/۰۰۱) را در میزان درد در هر دو مرحله آزمون فرمالین نشان داد. شکل ۵ نتایج آزمون فرمالین را در این دو گروه مورد مقایسه قرار می‌دهد.



شکل۳- مقایسه نتایج آزمون فرمالین بین گروه کنترل و گروهی که مهارکننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز نورونی را دریافت کرده بودند (n=۵) (**P<t-۰/۰۰۱ , test)

شکل ۴- مقایسه نتایج آزمون فرمالین بین گروه کنترل و گروه دریافت کننده داروی مهارکننده آنزیم ماتریکس متالوپروتئیناز۲ (n=۵) (t-test, **P<۰/۰۰۱)



شکل ۵- مقایسه نتایج آزمون فرمالین بین گروه‌های دریافت کننده داروی مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز نورونی و گروهی که مهار کننده ماتریکس متالوپروتئیناز ۲ را قبل از مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز نورونی دریافت کرده بودند (n=۵) (t-test ,* P<۰/۰۱ **P<۰/۰۰۱).

بحث

مطالعات ما نشان داد پس از آزمون فرمالین سطح آنزیم ماتریکس متالوپروتئیناز۲ در نمونه مایع مغزی به میزان معنی داری کاهش یافت. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که پس از تزریق فرمالین به کف پای موش‌های صحرایی میزان بسیاری از واسطه‌های التهابی در شاخ خلفی نخاع افزایش می‌یابد [۹]. از میان این واسطه‌های التهابی نیتریک اکساید به عنوان میانجی اصلی در پدیده درد به خصوص درد مزمن شناخته شده است و افزایش آن در مایع مغزی نخاعی گرفته شده توسط روش میکرودیالیز هماهنگی زمانی خاصی را با مراحل آزمون فرمالین نشان می‌دهد [۱۲]. رابطه بین افزایش شکل فعال آنزیم گوانیلات سیکلاز و نیتریک اکساید در طناب نخاعی موش‌های صحرایی به دنبال آزمون فرمالین نشان داده شده است و به نظر می‌رسد عامل اصلی فعال کننده آنزیم گوانیلات سیکلاز، نیتریک اکساید باشد [۱۵]. بنابراین، آزمون فرمالین سبب افزایش قابل توجه نیتریک اکساید در نخاع می‌شود. لازم به ذکر است که سلول‌های گلیای فعال شده به دنبال القا درد ناشی از آزمون فرمالین نیز موجب افزایش فعالیت آنزیم نیتریک اکساید سنتاز نورونی می‌شوند [۶]. تسهیل رفتارهای درد القا شده با فرمالین به ویژه در فاز دوم از طریق تجویز داخل نخاعی دهنده‌های نیتریک اکساید[۱۵] و نیز افزایش ترشح متابولیت‌های نیتریت/نیترات در فاز یک و دو آزمون فرمالین بر درگیری نیتریک اکساید در مکانیسم‌های مرکزی ایجاد کننده پردردی در سطح طناب نخاعی دلالت دارد. میزان ترشح نیتریک اکساید به غلظت فرمالین تزریق شده به کف پا بستگی دارد. به طوری که افزایش نیتریت/نیترات در مایع مغزی نخاعی هنگام تزریق کف پایی غلظت ۵٪ فرمالین در هر دو فاز اول و دوم آزمون فرمالین مشاهده شده است. در حالی‌که هنگام تزریق فرمالین با غلظت ۲٪ افزایش متابولیت‌های نیتریت/نیترات فقط در فاز تأخیری این آزمون گزارش شده است [۱۳]. اگر چه مهارکننده‌های نیتریک اکساید سنتاز در شرایط طبیعی فاقد اثر بوده و یا اثر کمی بر انتقال درد در این شرایط دارند، شواهدی وجود دارد که التهاب محیطی یا آسیب CNS فعالیت نیتریک اکساید سنتاز را افزایش می‌دهد که به نوبه خود ممکن است افزایش حساسیت نسبت به درد ایجاد کند [۱۳].

به این ترتیب میزان نیتریک اکساید پس از آزمون فرمالین به میزان قابل توجهی در سطح نخاع افزایش می‌یابد. از سوی دیگر مشخص شده است که نیتریک اکساید فعالیت و بیان MMP-2 را در بافت‌های مختلف کاهش می‌دهد [۱, ۴]. بنابراین، شواهد ممکن است آزمون فرمالین به عنوان عاملی که باعث افزایش نیتریک اکساید در سطح شاخ خلفی می‌شود، احتمالاً باعث کاهش سطح آنزیم MMP-2 شده است. هرچند گزارش شده است که اینترلوکین یک و TNF-α نیز در طی التهاب آزاد می‌شوند و

این عوامل به ویژه اینترلوکین β۱ باعث بیان MMP-2 می‌شوند [۳]، اما اثرات آنها در مقایسه با نیتریک اکساید بر افزایش میزان این آنزیم ناچیز است. چون اولاً این عوامل بیشتر در بافت‌های دچار التهاب و آسیب آزاد می‌شوند [۱۴] و ثانیاً غلظت‌های بسیار بالایی از اینترلوکین β۱ لازم است تا بیان MMP-2 افزایش یابد، در حالی‌که نیتریک اکساید به عنوان یک میانجی درد در سطح طناب نخاعی آزاد می‌شود [۷]. علاوه بر این، اثر تنظیمی آن بر میزان MMP-2 در تحقیقات بسیاری مشاهده شده است [۱, ۴]. یافته‌های ما نشان دادند، آزمون فرمالین به تنهایی می‌تواند سطح MMP-2 را کاهش دهد ولی پیش درمانی توسط مهارکننده nNOS با غلظت ۱۰۰ میکرومولار قبل از آزمون فرمالین باعث افزایش سطح آنزیم MMP-2 در مایع مغزی نخاعی شد به همین دلیل می‌توان با قاطعیت بیشتری نیتریک اکساید تولید شده طی آزمون فرمالین را علت اصلی کاهش سطح آنزیم MMP-2 پس از تزریق فرمالین دانست.

چون مهار آنزیم MMP-2 قبل از مهار آنزیم nNOS باعث افزایش درد در مقایسه با موش‌هایی که به تنهایی مهار کننده آنزیم nNOS را دریافت کرده بودند شد و افزایش میزان آنزیم MMP-2 پس از تزریق مهارکننده آنزیم nNOS در این مطالعه مشاهده شده است می‌توان نقش احتمالی برای این آنزیم در ایجاد اثرات بی‌دردی حاصل از مهار آنزیم nNOS در نظر گرفت.

در مطالعه Yamamoto گزارش شده که تزریق داخل نخاعی آنزیم MMP-2 سبب بی‌دردی در آزمون فرمالین می‌شود [۱۷]. بنابراین، شاید بتوان افزایش میزان آنزیم MMP-2 را نیز به عنوان یکی از مکانیسم‌های ایجاد اثر ضددردی مهار کننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز نورونی دانست.

سپاسگزاری

این تحقیق با پشتیبانی مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در قالب طرح تحقیقاتی انجام شده است که بدین وسیله مراتب تشکر و امتنان ابراز می‌گردد.

References

[1] Chen HH, Wang DL, Nitric oxide inhibits matrix metalloproteinase-2 expression via the induction of activating transcription factor 3 in endothelial cells. ***Mol Pharmacol*** 65 (2004) 1130-40.

[2] Dubuisson D, Dennis SG, The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. ***Pain*** 4 (1977) 161-74.

[3] Estive PO, Tremblay P, Houde M, St-pierre Y, Mandeville R, In vitro expression of MMP-2 and MMP-9 in glioma cells following exposure to inflammatory mediators. ***Biochim Biophys Acta*** 1403 (1998) 85-96.

[4] Garanich JS, Pahakis M, Tarbell JM, Shear stress inhibits smooth muscle cell migration via nitric oxide-mediated down regulation of matrix metalloproteinase-2 activity. ***Am J Physiol Heart Circ Physiol*** 288 (2005) 2244-52.

[5] Hayashida K, Takeuchi T, Shimizu H, Ando K, Harada H, Lactoferrin enhances opioid-mediated analgesia via nitric oxide in the rat spinal cord. ***Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*** 285 (2003) 306-12.

[6] Holguin A, O'Connor KA, Biedenkapp J, Campisi J, Wieseler-Frank J, Milligan ED, Hansen MK, Spataro L, Maksimova E, Bravmann C, Martin D, Fleshner M, Maier SF, Watkins LR, HIV-1 gp120 stimulates proinflammatory cytokine-mediated pain facilitation via activation of nitric oxide synthase-I (nNOS). ***Pain*** 110 (2004) 517-30.

[7] Kamei J, Tamura N, Saitoh A, Possible involvement of the spinal nitric oxide/cGMP pathway in vincristine-induced painful neuropathy in mice. ***Pain*** 117 (2005) 112-20

[8] Kawasaki Y, Xu ZZ, Wang X, Park JY, Zhuang ZY, Tan PH, Gao YJ, Roy K, Corfas G, Lo EH, Ji RR Distinct roles of matrix metalloproteases in the early- and late-phase development of neuropathic pain. ***Nat Med*** 14 (2008) 331-6.

[9] McMahon SB, Cafferty, WB, Marchand F, Immune and glial cell factors as pain mediators and modulators. ***Exp Neurol*** 192 (2005) 444- 62.

[10] Meller ST, Gebhart GF, Nitric oxide and nociceptive processing in the spinal cord. ***Pain*** 52 (1993) 127-36

[11] Ogden JE, Moore PK, Inhibition of nitric oxide synthase potential for a novel class of therapeutic agents. ***Trends Biotech*** 13 (1995) 70-8.

[12] Okuda K, Sakurada C, Takahashi M, Yamada T, Sakurada T, Characterization of nociceptive responses and spinal releases of nitric oxide metabolites and glutamate evoked by different concentrations of formalin in rats. ***Pain*** 92 (2001)107-15.

[13] Semos ML, Headley PM, The role of nitric oxide in spinal nociceptive reflexes in rats with neurogenic and non-neurogenic peripheral inflammation. ***Neuropharmacology*** 33 (1994) 1487-97.

[14] Suzuki T, Segami N, Nishimura M, Nojima T, Co-expression of interleukin-1beta and tumor necrosis factor alpha in synovial tissues and synovial fluids of temporomandibular joint with internal derangement: comparison with histological grading of synovial inflammation. ***J Oral Pathol Med*** 31 (2002) 549-57.

[15] Tao YX, Johns RA, Activation and up-regulation of spinal cord nitric oxide receptor, soluble guanilate cyclase, after formalin injection into the rat hind paw. ***Neuroscience*** 112 (2002) 439-46

[16] Yaksh TL, Ozaki G, McCumber D, Rathbun M, Svensson C, Malkmus S, Yaksh MC, An automated flinch detecting system for use in the formalin nociceptive bioassay. ***J Appl Physiol*** 90 (2001) 2386-402.

[17] Yamamoto T, Saito O, Shono K, Ohtori S, Ino H, Analgesic effect of intrathecally administered matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) in the rat formalin test. ***Neurosci Lett*** 347 (2003) 77-80

[18] Yamamoto T, Shimoyama N, Mizuguchi T, Nitric oxide synthase inhibitor blocks spinal sensitization induced by formalin injection into the rat paw. ***Anesth Analg.*** 77(5) (1993) 886-90

[19] Yong VW, Krekoski, CA, Forsyth, PA, Bell, R, Edwards, DR, Matrix metalloproteinases and diseases of the CNS. ***Trends Neurosci*** 21 (1998) 75-80.

[20] Yoshihiro T, Keiji K, Takahiko O, Yoshihisa K, Nobuyuki MI, Shigeaki Y, Shinsuke W, Transcutaneous cisternal puncture for sampling of cerebrospinal fluid in awake rat. ***Exp Anim*** 54 (2005) 193-6.