بررسی پاسخ‌دهی نورون‌های هسته پاراژیگانتوسلولاریس نسبت به محرک آسیب رسان در موش‌های صحرایی تیمار شده با کپسایسین وابسته به مورفین

کامبیز رهام پور .M.Sc[1]، سعید سمنانیان .Ph.D[1*]، یعقوب فتح الهی .Ph.D[1]، حسین عزیزی .M.Sc[1]

۱. دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

* آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی: ۱۱۱-۱۴۱۱۵، گروه فیزیولوژی

پست الکترونیک: Email: ssemnan@modares.ac.ir

چکیده

دریافت مقاله: ۸۴/۹/۲۷، پذیرش مقاله: ۸۵/۳/۱

* **هدف:** اثر حذف فیبرهای آوران C بر پاسخ‌دهی نورونهای هسته پاراژیگانتوسلولاریس (Nucleus reticularis Paragigantocellularis: PGi) نسبت به محرک آسیب رسان فرمالین، در رت‌های سالم و وابسته به مورفین

* **مواد و روش‌ها:** فیبر C، با تزریق کپسایسین (CAP) روز دوم پس از تولد تخریب شد (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم s.c). ثبت تک واحدی خارج سلولی از نورون‌های هسته پاراژیگانتوسلولاریس موش‌های صحرایی بالغ (۳۵۰-۲۵۰ گرم) در گروه‌های کنترل، تیمار شده با کپسایسین، وابسته به مورفین و تیمار شده با کپسایسین وابسته به مورفین بی‌هوش شده با یورتان انجام گرفت. پس از ثبت پایه به مدت ۴۰ دقیقه، ۱۰۰ میکرولیتر فرمالین ۵ درصد به کف پای مقابل حیوان تزریق می‌شد و ثبت به مدت یک ساعت ادامه می‌یافت.

* **یافته‌ها:** در گروه کنترل ۳۸/۴۵ درصد نورون‌های ثبت شده پاسخ افزایشی و ۲۳/۱ درصد نورون‌ها پاسخ کاهشی نشان دادند و ۳۸/۴۵ درصد نورون‌های باقی‌مانده خنثی بودند. در گروه تیمار شده با کپسایسین نیز سه دسته پاسخ افزایشی، کاهشی و خنثی مشاهده شد. مدت زمان پاسخ در گروه تیمار شده با کپسایسین، به طور معنی‌داری کوتاه‌تر از گروه کنترل بود. تمام نورون‌های ثبت شده از موش‌های صحرایی وابسته به مورفین نسبت به محرک آسیب رسان بی‌پاسخ بودند. اما در گروه تیمار شده با کپسایسین وابسته به مورفین ۴ نورون از ۱۳ نورون (۳۰ درصد) پاسخ افزایشی کوتاهی نشان دادند.

* **نتیجه‌گیری:** تخریب فیبرهای C مدت زمان پاسخ‌دهی را در هر دو گروه تیمار شده با کپسایسین به شدت کاهش می‌دهد. اما وابستگی به مورفین وقوع پاسخ نورونی را به کلی سرکوب می‌کند.

کلیدواژگان: هسته پاراژیگانتوسلولاریس، ثبت تک واحدی خارج سلولی، کپسایسین، مسیرهای کنترل درد، محرک آسیب رسان

فصلنامه پزشکی یاخته، سال هشتم، شماره ۱، بهار ۸۵، صفحات ۳۸-۳۱

مقدمه

هسته پاراژیگانتوسلولاریس جزو تشکیلات مشبک پل مغزی-بصل‌النخاعی است که در ناحیه سری شکمی جانبی بصل النخاع (Rostral Ventrolateral Medulla: RVM) واقع شده است. نورون‌های هسته پاراژیگانتوسلولاریس در اعمال متفاوتی همچون تنظیم دستگاه قلب و عروق، کنترل تنفس، درد و بی‌دردی و نیز در بیداری نقش دارند (۱، ۲). تحریک الکتریکی و تزریق موضعی مورفین به نواحی سری شکمی طرفی بصل‌النخاع (RVM) از جمله هسته پاراژیگانتوسلولاریس (PGi) بی‌دردی ایجاد می‌کند (۳) و حساسیت این هسته به مورفین بسیار بیشتر از نواحی دیگر ساقه مغز است. ED_{50} مورفین برای PAG تقریبا ۵۰ برابر ED_{50} هسته پاراژیگانتو سلولاریس است (۴). نورون‌های هسته PGi به محرک‌های دردناک پاسخ می‌دهند و یکی از مراکز مهم ارایه کننده پیام‌های درد و اطلاعات حسی پیکری به هسته لوکوس سرولئوس محسوب می‌شوند (۵). از طرفی آوران‌های شاخ خلفی نخاع نیز اطلاعات مربوط به درد را به تشکیلات مشبک RVM منتقل می‌کنند (۳). هر چند که پروجکشن‌های نخاعی مستقیم به RVM نادر است ولی RVM ورودی‌های نخاعی را به طور غیر مستقیم از PAG و کنی فورمیس دریافت می‌کند. در ضمن هسته ژیگانتوسلولاریس که ورودی‌های زیادی از نورون‌های دردی از مسیر نخاعی - مشبکی دریافت می‌کند نیز این اطلاعات را به RVM رله می‌کند (۶، ۷). بنابراین هسته پاراژیگانتوسلولاریس به عنوان قسمتی از یک حلقه باز خوردی است که توسط محرک آسیب‌رسان تحریک می‌شود و مسیرهای نزولی کنترل درد ختم شونده بر روی شاخ خلفی نخاع را فعال می‌کند و باعث بی‌دردی می‌شود (۳).

دیکنسون و سالیوان با ثبت تک واحدی خارج سلولی نشان دادند که نورون‌های شاخ خلفی نخاع در پاسخ به تزریق فرمالین به کف پای مقابل حیوان، افزایش فعالیت چشم‌گیری با الگوی زمانی مشابه آنچه در رفتارهای ناشی از درد دیده می‌شود، دارند (۸). محققین دیگری نیز اثر تزریق زیرجلدی فرمالین را روی نواحی Preoptic، هسته‌های رافه و

تشکیلات پیازی مشبکی بررسی کرده‌اند. اما پاسخ نورون‌ها در نواحی فوق نخاعی در مقایسه با پاسخ نورون‌های شاخ خلفی، مطابقت کمتری با فازهای رفتاری نشان می‌دهد (۹). شواهدی از آزمایشات مختلف وجود دارد که نشان می‌دهد ایجاد درد و پردردی عمدتا حاصل فعال شدن و افزایش حساسیت نورونهای غیر میلینه فیبر C است (۱۰). ثبت الکتروفیزیولوژیک از فیبرهای آوران منفرد، نشان داده است عامل پردردی مستقیم الاثر، یعنی PGE_2، باعث حساس شدن گیرنده‌های دردی می‌شود که سرعت هدایتی در محدوده فیبرهای C دارند (۱۱). با توجه به اینکه عمده اطلاعات مربوط به درد ناشی از تزریق فرمالین توسط فیبرهای C منتقل می‌شود (۱۰). بنابراین حذف این فیبرها می‌تواند روی میزان فعالیت نورون‌های هسته پارا ژیگانتوسلولاریس PGi تاثیر بگذارد و پردازش‌های بعدی اطلاعات دردی را نیز دستخوش تغییر کند. بدین ترتیب می‌توان با حذف ورودی‌های فیبرهای بدون میلین C با به کارگیری اثر نوروتوکسیک کپسایسین، فعالیت‌های نورونی این هسته را در پاسخ به درد تونیک مطالعه کرد.

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی

در این پژوهش از موش‌های صحرایی سفید آزمایشگاهی نر نژاد Sprague Dawley استفاده شده است. از این موش‌های صحرایی در محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۵۰ گرم استفاده شده است. حیوانات در قفس‌های استاندارد (۴ سر در قفس‌های متوسط و ۸ سر در قفس‌های بزرگ) نگهداری شدند. اتاق نگهداری دارای تجهیزات کنترل نور و حرارت بود. شرایط نوری حیوانات به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. درجه حرارت اتاق در محدوده ۲۲ درجه سانتی‌گراد (۱±۲۲ درجه سانتی‌گراد) حفظ می‌شد. آب و غذای کافی برای حیوانات غیر وابسته به صورت آزاد وجود داشت.

روش تیمار نوزادان موش‌های صحرایی با کپسایسین

نوزادان موش‌های صحرایی در روز دوم پس از تولد (۴۸-۲۴ ساعت پس از تولد)، مقدار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم داروی کپسایسین را به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن، به صورت زیر جلدی و در پشت گردن دریافت می‌کردند. این دارو با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در حلال کپساسین شامل ۱۰ درصد اتانول، ۱۰درصد توین ۸۰ و ۸۰ در صد سالین حل می‌شد. نوزادان گروه شاهد نیز بر حسب وزنشان همان حجم از حلال (اتانول، توین و سالین) را دریافت می‌کردند (۱۲، ۱۳).

روش ایجاد وابستگی به مورفین

به آب آشامیدنی حیوانات در ۴۸ ساعت اول ۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مورفین افزوده می‌شد. این محلول حاوی سوکروز آزمایشگاهی با غلظت ۴ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر یا ۴ درصد است. در ۴۸ ساعت دوم غلظت مورفین را دو برابر کرده سپس برای ۴۸ ساعت سوم غلظت ۰/۳ گرم بر میلی‌لیتر استفاده شد. باقی‌مانده روزها تا حدود روزهای ۲۱ تا ۲۵ را از محلول حاوی ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مورفین به همراه سوکروز استفاده شد.

جراحی و ثبت الکتروفیزیولوژیک

موش‌های صحرایی توسط یورتان داخل صفاقی (۱/۵-۱/۲ گرم بر کیلوگرم i.p) بی‌هوش می‌شدند. سپس کانول مناسبی داخل نای تشریح شده کار گذاشته می‌شد تا تنفس حیوان در طول جراحی برقرار و ثبت الکتروفیزیولوژیک تسهیل شود. در طول جراحی نیز در صورت نیاز دوزهای تکمیلی تزریق می‌شد. موش‌های صحرایی در دستگاه استروتاکسی قرار می‌گرفتند و محل ورود الکترود ثبات بر اساس اطلس پاکسینوس (۱۴) تعیین می‌شد (فاصله نسبت به برگما DV:۹/۱، L:۱/۶، P:-۱۱/۹۶ عمق از سطح سخت شامه ۱، ۹ میلی‌متر) سپس با مته دندان‌پزشکی سوراخ مناسبی بدون آسیب به سخت شامه ایجاد و الکترود از نوع میکرو الکترود شیشه‌ایی وارد می‌شد. در درون الکترود شیشه‌ایی ثبات، سیم Ag/AgCl را قرار داده و به آمپلی‌فایر وصل می‌شد. الکترودهای ثبت حاوی استات‌سدیم ۰/۵ مولار با ۲درصد ترکیب رنگی Pontamine Sky Blue و دارای مقاومت ظاهری $M\Omega$ ۱۰-۲ بودند. این محلول ضمن داشتن قدرت هدایت مناسب برای دریافت پیام‌های خارج سلولی، امکان تزریق رنگ به صورت یونتوفورتیک در پایان ثبت الکتروفیزیولوژیک را، فراهم می‌کند.

برای ثبت‌های الکتروفیزیولوژیک، پس از ثبت پایه از فعالیت خود به‌خودی نورون به مدت ۴۰ تا ۶۰ دقیقه، که فعالیت آن حالت ثبات و پایداری نسبی نشان می‌داد، یک محرک آسیب‌رسان (مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۵ درصد فرمالین) به کف پای مقابل موش صحرایی تزریق می‌شد و ثبت به مدت ۶۰ دقیقه ادامه می‌یافت تا تغییر فعالیت نورون‌ها در پاسخ به محرک آسیب‌رسان ارزیابی شود. لازم به ذکر است که از هر موش صحرایی تنها فعالیت یک نورون ثبت می‌شد.

فعالیت الکتریکی پس از فیلتر شدن و ۱۰۰۰ برابر تقویت برای نمایش به اسیلوسکوپ و Audio analyser منتقل و سپس جهت آنالیز در رایانه ذخیره می‌شد (۱۵). نرم افزار تعداد فعالیت‌های نورون تعیین شده را در ۰/۵ ثانیه شمارش و فاصله زمانی بین اسپایک‌ها را نیز به صورت (PeriStimulus Time Histogram: PSTH) و (Inter Spike Interval: ISI) ذخیره می‌کرد. سپس میانگین فعالیت نورونی در دقایق مختلف محاسبه می‌شد.

تایید محل ثبت الکترو فیزیو لوژیک

در انتهای هر ثبت رنگ Pontamine Sky blue به صورت

اینتوفورتیک در محل الکترود ثبات تزریق می‌شد. سپس حیوان به ترتیب توسط نرمال سالین و فرمالین فسفات ۱۰درصد پرفیوز مغز حیوان از جمجمه خارج در محلول فرمالین فسفات نگهداری می‌شد. سپس به منظور تایید محل ثبت، از مغز برش گیری انجام می‌شد.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به دست آمده از آنالیز داده‌ها پس از تعیین میانگین و پردازش‌های دیگر، توسط نرم‌افزار آماری Statistica تجزیه و تحلیل آماری شد. با توجه به کاهش تعداد نمونه‌ها در هریک از زیرگروه‌های مشاهده شده، بر اساس آزمون (Klomogorov-Smirnov: K/S)، از آزمون‌های پارامتریک یا غیرپارامتریک بهره گرفته شد.

یافته‌ها

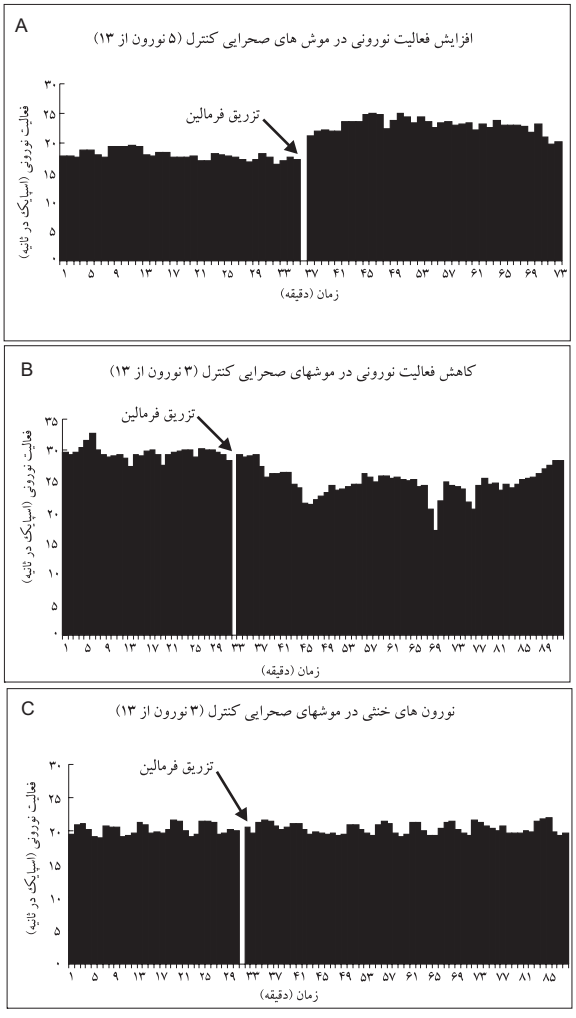
اثر محرک آسیب‌رسان بر فعالیت پایه نورون‌های هسته پاراژیگانتوسلولاریس در موش‌های صحرایی سالم

به دنبال ثبت پایه از نورون‌های هسته پاراژیگانتوسلولاریس که حدود ۴۰ دقیقه پس از پایدار شدن نورون نیز ادامه می‌یافت، میزان ۱۰۰ میکرولیتر فرمالین ۵ درصد به کف پای مقابل حیوان تزریق می‌شد. نورون‌های هسته پاراژیگانتوسلولاریس در موش‌های صحرایی سالم و گروه کنترل که فقط حلال داروی کپسایسین (شامل اتانول، توین ۸۰ و سالین) را دریافت کرده بودند، مجموعا سه دسته نورونی با پاسخ‌های مختلف ایجاد کردند.

در ۵ مورد از ۱۳ نورون ثبت شده در این گروه پاسخ نورون نسبت به محرک، افزایشی بود. متوسط فعالیت نورونی از ۱۷/۸±۲/۳ به ۲۳/۲۷±۳/۴ افزایش یافت. سه نورون دیگر نسبت به محرک آسیب‌رسان پاسخ کاهشی داده و متوسط فعالیت آن‌ها از ۲۹/۵۱±۱/۸ به ۲۴/۳۵±۲/۵ کاهش یافت و ۵ نورون دیگر پاسخی به محرک ندادند. نورون‌هایی به عنوان افزایشی یا کاهشی در نظر گرفته شدند که میزان تغییرات فعالیت آن‌ها بیشتر از ۲ برابر انحراف از معیار (mean±2SD) بود. افزایش فعالیت در گروه افزایشی بر اساس آزمون Wilcoxon، معنی دار بود (p<۰/۰۵). بر این اساس نورون‌های این گروه به سه دسته افزایشی، کاهشی و خنثی تقسیم شدند. که میانگین فعالیت آنها در شکل ۱ ترسیم شده است.

اثر محرک آسیب‌رسان بر فعالیت پایه نورون‌های هسته پاراژیگانتوسلولاریس در موش‌های صحرایی تیمار شده با کپسایسین

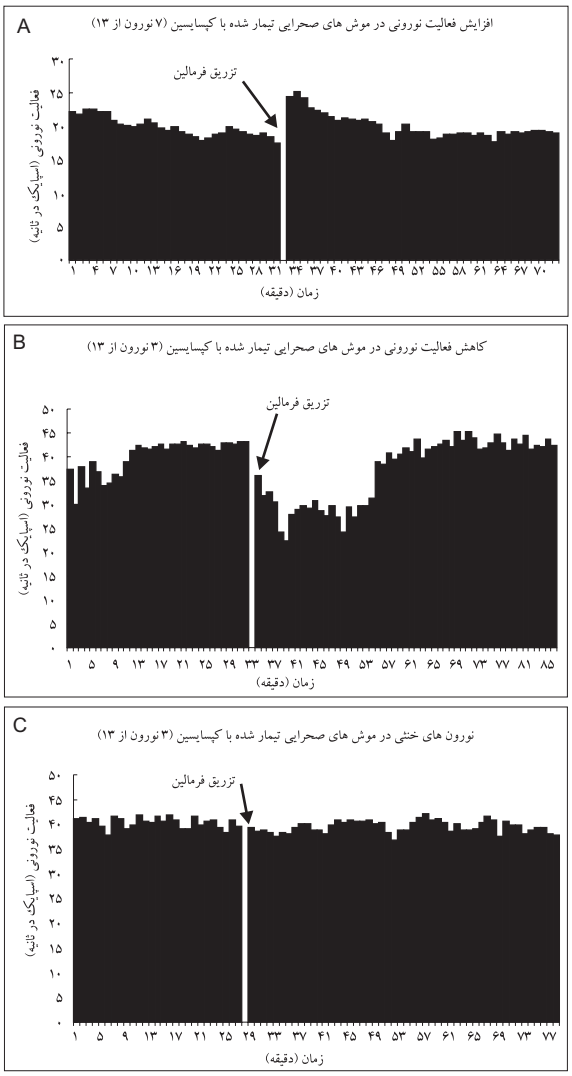
تیمار موش‌های صحرایی با کپسایسین که در دوره نوزادی با شیوه مذکور صورت گرفت، روی دسته‌بندی نورون‌های هسته پاراژیگانتوسلولاریس تاثیری نداشت. یعنی در این گروه نیز سه دسته نورونی با پاسخ‌های افزایشی، کاهشی و بی‌پاسخ نسبت به محرک آسیب رسان، مشاهده شد. از ۱۳ نورون ثبت شده در گروه تیمار شده با کپسایسین ۷ نورون پاسخ افزایشی دادند که متوسط فعالیت نورونی از ۱۹/۳۴±۳/۱ به ۲۳/۳۴±۲/۹ افزایش یافت. ۳ نورون دیگر پاسخ کاهشی دادند (متوسط فعالیت نورونی از ۴۲/۲۴±۷/۶ به ۲۴/۱۲±۷/۳ کاهش یافت) و ۳ نورون دیگر بی‌پاسخ بودند که میانگین فعالیت نورون‌های این گروه در شکل ۲ نمایش داده شده است. در گروه تیمار شده با کپسایسین نیز، افزایش فعالیت نورون‌ها نسبت به ثبت پایه معنی‌دار بود (Wilcoxon, p<۰/۰۵). اما در هر دو گروه مذکور با توجه به اینکه تعداد نورون‌های کاهشی تنها ۳ مورد بودند آزمون Wilcoxon در این دسته از نورون‌ها معنی دار نبود.



شکل ۱: میانگین فعالیت نورون‌های هسته پاراژیگانتوسلولاریس در موش‌های صحرایی گروه کنترل. A) از ۱۳ نورون ثبت شده در این گروه ۵ نورون نسبت به محرک آسیب رسان پاسخ افزایشی (mean±2SD) نشان داده اند (Wilcoxon, p<۰/۰۵). B) میانگین فعالیت ۳ نورونی که در گروه کنترل نسبت به محرک پاسخ کاهشی دادند. C) میانگین فعالیت ۵ نورون خنثی در گروه کنترل.

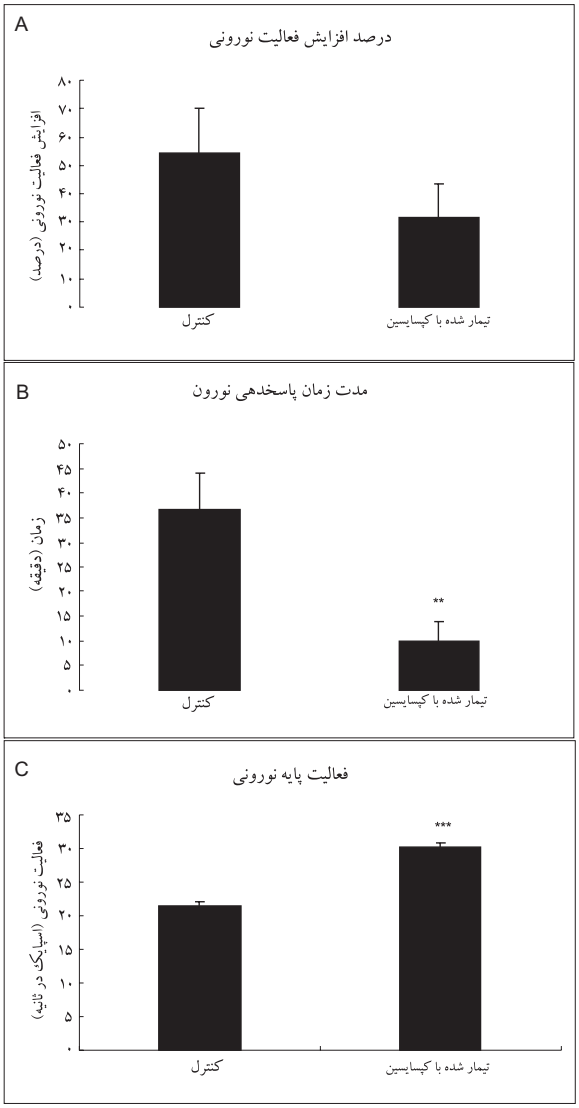
تاثیر تیمار موش‌های صحرایی با کپسایسین بر فعالیت پایه نورونی و مدت زمان پاسخ دهی نورونهای هسته PGi به محرک آسیب رسان

هرچند که تخریب فیبرهای C توسط تیمار موش‌های صحرایی با کپسایسین، تاثیر معنی‌داری روی نوع و شدت پاسخ‌دهی نورون‌های هسته PGi نمی‌گذارد ولی مدت زمان پاسخ‌دهی این نورون‌ها را به طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار می‌دهد. بدین معنی که میانگین مدت افزایش فعالیت در گروه کنترل۷/۳۷±۳۶/۶ دقیقه بود، درحالی که این مدت برای گروه تیمار شده با کپسایسین ۳/۷۸±۱۰ دقیقه است.

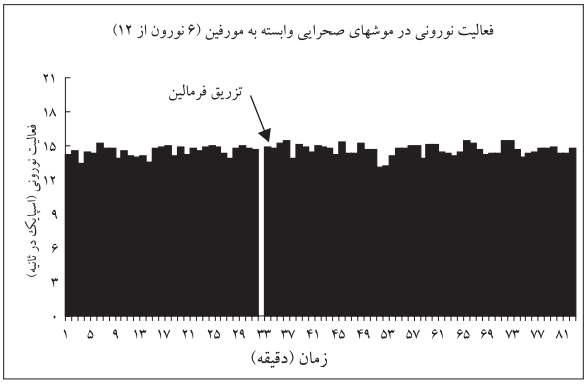


شکل۲: میانگین فعالیت نورون‌های هسته پاراژیگانتوسلولاریس در موش‌های صحرایی تیمار شده با کپسایسین. A) از ۱۳ نورون ثبت شده در این گروه ۷ نورون نسبت به محرک آسیب رسان پاسخ افزایشی (mean±2SD) نشان داده‌اند (Wilcoxon, p<۰/۰۵) میانگین فعالیت ۳ نورونی که در گروه تیمار شده با کپسایسین نسبت به محرک پاسخ کاهشی دادند. C) میانگین فعالیت ۳ نورون خنثی در گروه کنترل.

شکل ۳A و۳B به ترتیب درصد تغییر فعالیت و مدت زمان تغییر فعالیت در نورون‌های هسته PGi نسبت به فعالیت پایه را بین دو گروه کنترل و تیمار شده با کپسایسین مقایسه می‌کند و نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در مدت زمان پاسخ‌دهی بین این دو گروه است (t-test, p<۰/۰۰۱). درضمن تیمار موش‌های صحرایی با کپسایسین روی فعالیت پایه نورون‌های هسته پاراژیگانتوسلولاریس نیز اثر معنی‌داری دارد (شکل ۳C) و میانگین فعالیت نورونی قبل از اعمال محرک آسیب‌رسان از ۰/۵۶±۲۱/۵۳ در موش‌های سالم به ۰/۶±۳۰/۲۲ در نمونه‌های تیمار شده با کپسایسین افزایش یافته است (t-test, p<۰/۰۰۰۱).



شکل ۳: مقایسه درصد تغییرات فعالیت نورون‌های هسته PGi در پاسخ به محرک آسیب‌رسان بین گروه کنترل و تیمارشده با کپسایسین (A). مقایسه مدت زمان تغییر فعالیت نورون‌های هسته PGi بین گروه کنترل و تیمارشده با کپسایسین (B). مقایسه فعالیت پایه نورون‌های هسته PGi بین گروه کنترل و گروه تیمارشده با کپسایسین (C).
****: p<۰/۰۰۱**
*****: p<۰/۰۰۰۱**

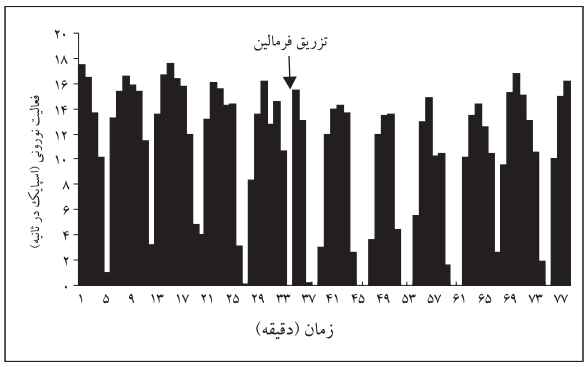


شکل ۴: میانگین فعالیت نورون‌های هسته PGi در پاسخ به محرک آسیب رسان در گروه وابسته به مورفین، که هیچ‌گونه تغییر فعالیتی را نشان نداده‌اند.

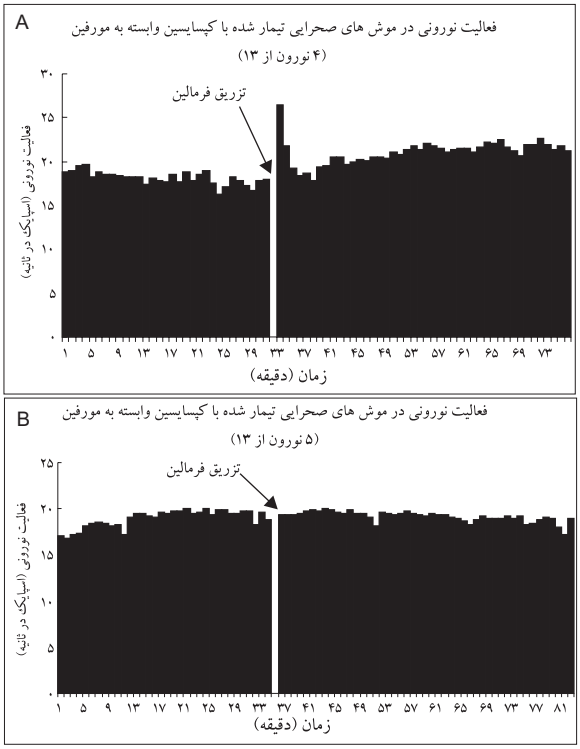
اثر محرک آسیب رسان بر فعالیت پایه نورون‌های هسته پاراژیگانتوسلولاریس در موش‌های صحرایی تیمار شده با کپسایسین وابسته به مورفین

در این گروه هیچ یک از نورون‌های ثبت شده، نسبت به محرک آسیب‌رسان پاسخ کاهشی نشان ندادند و از ۱۳ نورون ثبت شده۴ نورون پاسخ افزایشی و ۵ نورون بدون تغییر در میزان فعالیت مشاهده شدند که این دو دسته نورونی به ترتیب در شکل‌های ۶A و۶B نمایش داده شده‌اند. فعالیت ۴ نورون باقی‌مانده، از نوع الگویی یا تعریف نشده بودند.

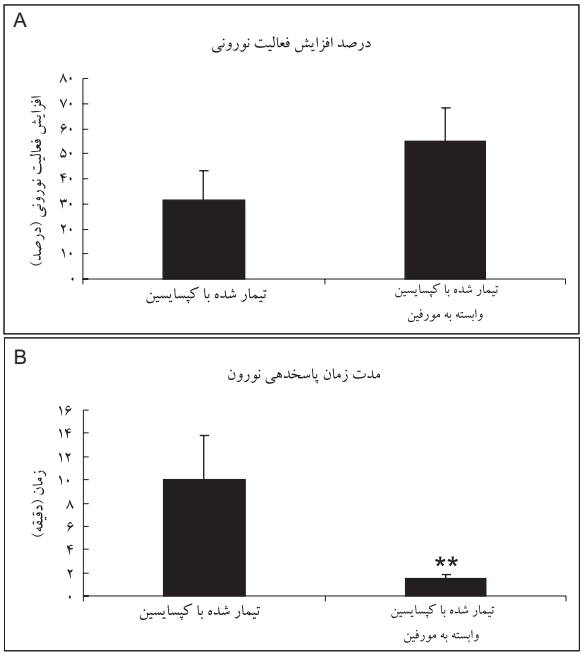
در موش‌های صحرایی تیمار شده با کپسایسین که به مورفین وابسته شده بودند، درصد پاسخ‌دهی بیشتر از موش‌های تیمار شده با کپسایسین غیروابسته بود که شدت این پاسخ‌دهی در شکل ۷A مقایسه شده است. اما علی‌رغم افزایش شدت پاسخ‌دهی در گروه کپسایسینی وابسته، مدت زمان پاسخ‌دهی در این گروه در مقایسه با گروه کپسایسینی غیروابسته، باز هم کمتر شده است (t-test, p<۰/۰۱) که این نمودار در شکل ۷B نمایش داده شده است.



شکل ۵: نمونه‌ای از نورون‌های ثبت شده از موش‌های صحرایی وابسته به مورفین که دارای فعالیت الگویی بودند.



شکل ۶: میانگین فعالیت ۴ نورون با پاسخ افزایشی در گروه تیمار شده با کپسایسین وابسته به مورفین (A). میانگین فعالیت نورون‌هایی از گروه تیمار شده با کپسایسین وابسته به مورفین که نسبت به محرک آسیب‌رسان بی‌پاسخ بودند (B).



شکل ۷: مقایسه درصد تغییرات فعالیت نورونهای هسته PGi در پاسخ به محرک آسیب رسان بین گروه تیمارشده با کپسایسین و گروه کپسایسینی وابسته به مورفین (A). مقایسه مدت زمان تغییر فعالیت نورونهای هسته PGi بین گروه تیمارشده با کپسایسین و گروه کپسایسینی وابسته به مورفین (B).
****: p<۰/۰۱**

اثر محرک آسیب‌رسان بر فعالیت پایه نورون‌های هسته پاراژیگانتوسلولاریس در موش‌های صحرایی وابسته به مورفین

موش‌های صحرایی گروه وابسته به مورفین، که طبق روش ذکر شده به طور مزمن نسبت به مورفین وابسته شدند، هیچ‌گونه پاسخ افزایشی و یا کاهشی مشخصی نسبت به محرک آسیب‌رسان فرمالین نشان ندادند. در این گروه ۶ مورد از ۱۲ نورون ثبت شده، در اثر تزریق فرمالین هیچ‌گونه تغییر فعالیتی نشان ندادند که میانگین فعالیت آن‌ها در شکل ۴ نشان داده شده است و ۶ نورون دیگر قبل و بعد از ثبت پایه یک الگوی خاص فعالیتی داشتند که عمدتاً شامل دوره‌هایی از کاهش و افزایش فعالیت نورونی بوده است که این فعالیت‌های الگودار تحت عنوان تعریف نشده دسته‌بندی شده‌اند. در شکل ۵ نمونه‌ای از این دسته نورون‌ها نمایش داده شده است. شناسایی این الگوی فعالیت در موش‌های صحرایی وابسته به مورفین نیاز به بررسی و مطالعات بیشتری دارد.

بحث

مشاهده سه دسته پاسخ نورونی متفاوت در اثر اعمال محرک آسیب‌رسان موید تقسیم‌بندی نورون‌های ناحیه RVM توسط فیلدس و هنریچر در پاسخ به گرمای آسیب‌رسان است. بر این اساس شبکه‌های تنظیم کننده درد علاوه بر مهار، قادرند انتقال اطلاعات درد را نیز تسهیل بکنند. احتمالا این تسهیل و مهار توسط نورون‌های تنظیم‌کننده متفاوتی ایجاد می‌شوند. در RVM سه دسته نورونی وجود دارد: ۱) نورون‌هایی که بلافاصله پس از وقوع رفلکس پس کشیدن ناشی از گرمای آسیب‌رسان شروع به فعالیت می‌کنند (ON-cells). ۲) نورون‌هایی که هم‌زمان با شروع رفلکس خاموش می‌شوند (Off-cells). نورون‌هایی که هیچ تغییر فعالیتی حین وقوع رفلکس نشان نمی دهند (Neutral-cells) (۱۶).

ثبت‌های به عمل آمده از نورون‌های شاخ خلفی نخاع در سطوح کمری L_1 تا L_3 در پاسخ به فرمالین تزریق شده به کف پای مقابل، بیانگر وجود دو دوره مشخص تحریکی است. بنابراین تزریق فرمالین در میدان دریافت یک نورون شاخ خلفی یک پاسخ تحریکی فوری و یک پاسخ دیررس طولانی‌تر ایجاد می‌کند (۸). اما در سطح تشکیلات مشبکی ناحیه سری شکمی میانی بصل‌النخاع (RVM) که مسئول کنترل نزولی درد است، این کنترل می‌تواند از طریق افزایش مهار نزولی درد (افزایش فعالیت Off cellها) و یا از طریق تسهیل انتقال درد در نخاع (افزایش فعالیت On cellها) اعمال شود (۱۷). در واقع قبل از تزریق فرمالین یک مهار نزولی تونیک بر روی شاخ خلفی نخاع وجود دارد به طوری که قطع فونیکولوس خلفی طرفی(DLF) چند روز قبل از تزریق فرمالین، باعث تشدید پاسخ به فرمالین می‌شود (۱۸).

مشخص شده است که آوران‌های حساس به کپسایسین واجد گیرنده‌های کوپل شونده با کانال‌های کاتیونی هستند. باند شدن کپسایسین باعث ایجاد دپلاریزاسیون و افزایش هدایت‌پذیری یون‌های کلسیم و سدیم است و خصوصیت نوروتوکسیک کپسایسین به واسطه تجمع بیش از حد یون کلسیم در سلول است که این یون در میتوکندری به دام می‌افتد و تغییرات ساختاری از جمله تورم میتوکندری عامل اصلی ایجاد روند مرگ سلولی است. اما در موش‌های صحرایی بالغ، هرچند کپسایسین باعث تورم میتوکندری شود ولی فرآیندهای آپوپتوتیک فعال نمی‌شوند (۹). تیمار با کپسایسین علاوه بر تغییرات مورفولوژیک در فیبرهای آوران بدون میلین، باعث ایجاد تغییرات عملکردی در انتقال نورونی نیز می‌شوند (۱۹). در موش‌های صحرایی تیمار شده با کپسایسین با توجه به اینکه تنها آوران‌های اولیه بدون میلین تخریب شده‌اند (۹، ۱۲)، اثری روی دسته‌بندی نورون‌های تشکیلات مشبکی RVM نداشته و درصد مشاهده On cellها و Off cellها تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. ولی با توجه به اینکه نورون‌های آزادکننده ماده P در شاخ خلفی حذف شده‌اند، پاسخ دیرپای نورون‌های RVM از بین رفته و مدت زمان تغییر در تخلیه نورونی به نحو معنی‌داری کاهش می‌یابد. این پاسخ کوتاه مدت را می‌توان به آزاد شدن گلوتامات از انتهای آوران‌های غیرمیلینه Aδ نسبت داد که یا مستقیما و یا با واسطه نورون‌های بینابینی باعث تحریک پروجکشن نورون‌ها می‌شوند.

در ثبت‌هایی که از موش‌های صحرایی وابسته به مورفین به عمل آمد، هیچ نورونی پاسخ افزایشی و یا کاهشی نسبت به محرک آسیب‌رسان نشان نداد که با اثرات ضددردی ترکیبات اوپیوییدی همخوانی دارد. حضور گیرنده اوپیوییدی میکرو بر روی برخی نورون‌های ناحیه RVM ، یعنی همان on cellها و نیز وجود گیرنده اوپیوییدی میکرو بر روی نورون‌های بینابینی گابائرژیک که بر روی off cellها ختم می‌شوند اثبات شده است (۱۰). لیگاندهای اپیوییدی روی گیرنده میکرو از دو طریق اثر می‌گذارند:

۱. ایجاد هیپرپولاریزاسیون از طریق افزایش هدایت‌پذیری پتاسیم

۲. کاهش ترشح نوروترانسمیتر در اثر مهار کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ (۲۰).

بنابراین اوپیوییدها می‌توانند مستقیما باعث مهار On-cellها شوند، در حالی که اثرشان روی Off-cellها با واسطه نورون‌های بینابینی گابائرژیک است. به علاوه این احتمال نیز وجود دارد که اثرات ضددردی مورفین در محلی قبل از تشکیلات مشبک بصل‌النخاع اعمال شده باشد. چرا که آوران‌های حسی پیکری و احشایی در هنگام وابستگی به مورفین دچار تغییراتی می‌شوند که در جهت کاهش فعالیت سیستم حسی پیکری و احشایی است. برخی از اثرات مصرف مزمن مورفین روی نورون‌های آوران در نخاع است. اوپیوییدها در سیستم عصبی موجب تغییراتی در کانال‌های پتاسیمی از نظر نوع و تعداد کانال و نیز فعالیت آنها می‌شوند. در بیشتر حالات اوپیوییدها باعث فعال شدن کانال‌های پتاسیمی می‌شود. این حالت باعث هیپرپلاریزه شدن و مهار

نورون‌های آن‌ها می‌شود (۲۱). بدین ترتیب عدم مشاهده پاسخ‌های کاهشی و افزایشی در گروه وابسته به مورفین، قابل توجیه به نظر می‌رسد.

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که در سطح تشکیلات مشبک (RVM) هم می‌توان پردازش درد را دارای سازمان‌دهی اولیه و ثانویه دانست چراکه حذف فیبرهای C با کاهش مدت پاسخ‌دهی نورون‌های این ناحیه همراه بوده که حاکی از حذف جز ثانویه درد در RVM است. عدم پاسخ‌دهی نورونی در گروه وابسته به مورفین قابل درک است، اما وقوع پاسخ افزایشی در گروه کپسایسینی وابسته به مورفین شاید بیانگر وجود نوعی برهم کنش بین تخریب فیبر C ناشی از تیمار با کپسایسین و اثرات ضددردی مورفین باشد که تایید آن مستلزم مطالعات بیشتری است.

Refrences

1. Van Bockstaele EJ, Akaoka H, Aston-Jones: Brainstem afferents to the rostral (juxtafacial) nucleus paragigantocellularis: integration of exteroceptive and interoceptive inputs in the ventral tegmentum. Brain Res, 1993; 603: 1-18

2. Van Bocksteale E, Pieribone VA, Aston-Jones G, Shipley MT: Diverse afferents converge on the nucleus paragigantocellularis in the rat ventro-lateral medulla: retrograde and anterograde tracing studies, J Comp Neurol, 1989; 290: 561-584

3. Azami J, Wright DM, Roberts MH: Effects of morphine and naloxone on the responses to noxious stimulation of neurones in the nucleus reticularis paragigantocellularis. Neuropharmacol, 1981; 20(9): 869-876

4. Takagi H: The nucleus reticularis paragigantocellularis as a site of analgesic action of morphine and enkephalin. Trends Pharmacol. 1980; 1: 182-184

5. Aston-Jones G, Shipley MT, Chouvert G, Ennis M, Van Bocksteale E, Pieribone V, Shiekhattar R, Akaoka H, Drolet G, Astier B, Charlety P, Valentino RY, Williams JT: Afferent regulation of locus coeruleus neurons: Anatomy, Physiology and pharmacology. Prog Brain Res, 1991; 88: 47-75

6. Beitz AJ: The sites of origin brain stem neurotensin and serotonin projections to the rodent nucleus raphe magnus. J Neurosci, 1982; 2(7): 829-842

7. Fields HL, Basbaum AI, Clanton CH, Anderson SD: Nucleus raphe magnus inhibition of spinal cord dorsal horn neurons. Brain Res, 1977; 126(3): 441-53.

8. Dickenson AH, Sullivan AF: Peripheral origins and central modulation of subcutaneous formalin-induced activity of rat dorsal horn neurones. Neurosci. Lett, 1987; 83: 207-211

9. Sugimoto T, Xiao Ch, Ichikava H: Neonatal primary neuronal death induced by capsaicin and axotomy involves an apoptotic mechanism, Brain Res., 1998; 807: 147-154

10. Fields HL, Basbaum AI: Central nervous system mechanisms of pain modulation, In: Wall, P.D., Melzack, R. (Eds.), Textbook of Pain, 4th Ed. Churchill Livingstone, London, 1999

11. Basbaum, AI, Jessel TM: The perception of pain. In: Kandel, ER, et al, Principles of neural sciences. Mc Graw-Hill Publication, 2000; 472-491

12. Jancso G, Kiraly E, Jancso-Gabor A: Pharmacologically induced selective degeneration of chemosensitive primary sensory neurones. Nature, 1977; 270(5639): 741-743.

13. Kiani R, Farazifard R, Noorbakhsh SM, Esteky H: Effects of neonatal C-fiber depletion on discrimination of principal and adjacent whisker stimulation within rat individual cortical barrels. Brain Res., 2004; 1015(1-2): 129-135

14. Paxinos G, Watson C: The rat brain in stereotaxic coordinates, 2nd ed., Academic Press 1986, 62-68

15. Ghaderi Pakdel F, Semnanian S, Fathollahi Y, Firoozabadi M: A new method for acquistion and analysis of single recording data. Physiol and Pharmacol, 2002; 6(1), 39-53

16. Fields HL, Heinricher MM: Anatomy and physiology of a nociceptive modulatory system. Philos Trans R Soc Lond Biol Sci, 1985; 308(1136): 361-374

17. Vanegas H, Schaible HG: Descending control of persistent pain: inhibitory or facilitatory? Brain Res. Rev 2004; 46(3): 295-309

18. Abbott FV, Hong Y, Franklin KB: The effect of lesions of the dorsolateral funiculus on formalin pain and morphine analgesia: a dose-response analysis. Pain, 1996; 65(1): 17-23

19. Takuma S: Effect of neonatal capsaicin treatment on

neural activity in the medullary dorsal horn of neonatal rats evoked by electrical stimulation to the trigeminal afferents: an optical, electrophysiological, and quantitative study. Brain Res., 2001; 906(1-2): 1-12

20. Herbert H, Saper CB: Organization of medullary adrenergic and noradrenergic projections to the periaqueductal gray matter in the rat. J. Comp. Neurol, 1992; 315(1): 34-52

21. Robinson TE, Berridge KC: The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. Addiction 2000; 95 Suppl. 2, S91-117