Archive of SID

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان - جلد ٤، شماره ١ و ٢، پاییز و زمستان ١٣٨١

پاسخ ضددردی وابسته به دوز مرفین تزریق شده در هسته میخی شکل (Cuneiformis) و تأثیر غیرفعال‌کردن این ناحیه بر تعدیل درد در موش صحرایی

عباس حق‌پرست*[۱،۲] (Ph.D)، غلامرضا سپهری[۱] (Ph.D)، محمدناصر شافعی[۳] (M.Sc)

۱- دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دانشکده پزشکی افضلی‌پور، گروه فیزیولوژی - فارماکولوژی

۲- دانشگاه علوم پزشکی کرمان، مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان

۳- دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

چکیده

سابقه و هدف: هسته میخی‌شکل (Cuneiformis, CnF) یک هسته مشبک مغز میانی است که در ناحیه شکمی - طرفی ماده خاکستری دور قناتی (Periaqueductal gray, PAG) قرار گرفته و به طور غیرمستقیم از طریق ناحیهٔ نوکی بصل‌النخاع شکمی - میانی (Rostral ventromedial medulla, RVM) در تعدیل درد نقش دارد. این هسته با PAG شباهت ساختمانی داشته و با آن ارتباطات زیادی برقرار می‌کند. لذا در مطالعه حاضر با توجه به تشابه ساختمانی و ارتباطات این هسته با نواحی فوق، پاسخ ضددردی مرفین تزریق شده در CnF و اثرات ناشی از حذف برگشت‌پذیر این هستهٔ بر تعدیل درد مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: ابتدا در موش‌های صحرایی نر، مختصات هسته CnF توسط دستگاه استرئوتاکس و با استفاده از اطلس پاکسینوز و واتسون روی جمجمه مشخص و پس از سوراخ کردن جمجمه، کانول‌گذاری انجام شد. سپس تزریق درون‌هسته‌ای دوزهای مختلف مرفین (۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکروگرم در ۰/۵ میکرولیتر سالین) و لیدوکائین ۵٪ (۰/۵ میکرولیتر) به تنهایی و همراه با یکدیگر به داخل هستهٔ CnF صورت گرفت. اثرات این داروها توسط آزمون پس‌کشیدن دم و به شکل حداکثر درصد اثردهی ممکن (Maximal possible effect, %MPE) به عنوان یک ایندکس درد، به مدت ۳۰ دقیقه و به فواصل ۵ دقیقه‌ای بررسی گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که مرفین به صورت وابسته به دوز باعث افزایش معنی‌داری بر زمان تأخیر در پس‌کشیدن دم (Tail flick latency, TFL) شد. همچنین تزریق لیدوکائین در ناحیه فوق سبب افزایش زمان TFL نسبت به گروه Saline گردید. تزریق هم‌زمان لیدوکائین و مرفین به روش درون‌هسته‌ای در ناحیهٔ CnF موجب کاهش %MPE مرفین گردید در حالی که تزریق وریدی مرفین هم‌زمان با تزریق لیدوکائین به داخل این هسته، پاسخ ضددردی شدیدتری در مقایسه با حالت قبل ایجاد می‌کرد. با تزریق نالوکسان وریدی، اثرات بی‌دردی مرفین در تمام گروه‌ها به جز گروهی که مرفین وریدی و لیدوکائین درون‌هسته‌ای دریافت کرده بودند به سطح کنترل قبل از تزریق رسید.

نتیجه‌گیری: از این یافته‌ها چنین استنباط می‌شود که هسته CnF دارای گیرنده‌های اپیوئیدی بوده و مرفین اثرات خود را از طریق این گیرنده‌ها به ویژه μ به شکل وابسته به دوز اعمال می‌کند. از طرفی می‌توان پیشنهاد کرد که حذف برگشت‌پذیر هسته CnF با لیدوکائین، باعث مهار یک مسیر خروجی از ناحیه فوق به سوی RVM به ویژه بر روی Off-cellهای این ناحیه می‌گردد. مهار این مسیر توسط لیدوکائین سبب رفع مهار در این ناحیه و ایجاد بی‌دردی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: هستهٔ میخی‌شکل، مرفین، لیدوکائین، آزمون پس‌کشیدن دم، تعدیل درد، موش صحرایی

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۳۴۱-۲۱۱۱۰۱۰، فاکس: ۰۳۴۱-۲۱۱۱۰۱۰، E_mail: Haghparast@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

ماده خاکستری دورقناتی (Periaqueductal gray, PAG) و بخش نوکی بصل‌النخاع شکمی ـ میانی (Rostral ventromedial medulla, RVM) در سیستم عصبی مرکزی از مکان‌هایی هستند که دارای نورون‌های حاوی گیرنده‌ها و ماده میانجی اپیوئیدی بوده و به اثرات ضددردی اپیوئیدها حساس می‌باشند [۲۶،۱۹،۱۳]. مطالعات قبلی وجود مسیرهای نزولی تعدیل درد از ناحیه RVM به ویژه از هسته‌های سجافی را نشان داده‌است. از طرفی مشاهدات آناتومیکی نشان داده که هسته‌های مختلف با ناحیه فوق در ارتباط می‌باشند و مسیرهای متفاوتی با مواد میانجی مختلف به این ناحیه وارد می‌شوند [۱۵،۱۳،۱۱]. یکی از این نواحی ارتباطی، هسته میخی‌شکل (Cuneiformis, CnF) واقع در ناحیه شکمی ـ طرفی PAG می‌باشد که به طور غیرمستقیم از طریق ناحیهٔ RVM در تعدیل درد نقش دارد.

مطالعات پیشین وجود یک مسیر گلوتامینرژیک از هسته CnF به سوی هسته سجافی را به اثبات رسانده‌اند [۲۴،۳]. مطالعات دیگری وجود نورون‌های حاوی گیرنده‌ها و مواد میانجی اپیوئیدی را نیز در این هسته مورد اشاره قرار داده‌اند [۲۹،۷]. پیشنهاد شده است که احتمالاً هسته فوق بر اثرات ضددردی مرفین از طریق اثر بر مسیرهای نزولی تعدیل درد مؤثر می‌باشد. از طرفی شواهد متعددی وجود ارتباط آناتومیکی بین PAG و CnF را که دارای نورون‌های حاوی گیرنده‌های اسیدآمینه تحریکی گلوتامات و آسپارتات می‌باشد، ثابت کرده‌است [۲۴]. مطالعات قبلی نشان‌دهندهٔ نقش مهم PAG درتعدیل حس درد در سطح نخاع از طریق اثر بر ناحیه RVM و مسیرهای نزولی تعدیل درد می‌باشد [۲۴،۱۷]. لذا براساس شواهد فوق به نظر می‌رسد که هسته CnF احتمالاً در تعدیل حس درد و پاسخ ضددردی مرفین بر مسیرهای نزولی، اثر داشته‌باشد.

در این تحقیق، اثرات تزریق درون‌هسته‌ای (Microinjection) مرفین در هسته CnF جهت نشان‌دادن نقش گیرنده‌های اپیوئیدی در این هسته و پاسخ ضددردی آن توسط آزمون پس‌کشیدن دم (Tail flick test)، غیرفعال کردن هسته CnF توسط لیدوکائین ۵٪ [۹] و تأثیر آن بر مسیرهای نزولی تعدیل درد و همچنین پاسخ ضددردی مرفین پس از غیرفعال کردن هسته CnF، مورد مطالعه قرارگرفت [۱۶،۹].

مواد و روش‌ها

حیوان. در این مطالعه از ۹۰ عدد موش صحرایی نر با وزن تقریبی ۳۰۰-۲۵۰ گرم استفاده گردید. موش‌ها از نژاد NMRI بوده و از مؤسسه رازی تهران خریداری شدند و پس از یک هفته نگهداری در اتاق مخصوص حیوانات و عادت کردن به محیط جدید، مورد آزمایش قرار گرفتند. حیوانات، از نظر خوردن آب و غذای مخصوص جوندگان محدود نبودند و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند.

روش جراحی. برای شروع آزمایش، ابتدا موش وزن‌گردید و تیوپنتال سدیم به میزان mg/kg ۶۰-۴۵، به روش داخل صفاقی تزریق و پس از بیهوش شدن حیوان، به دستگاه استرئوتاکس (Steolting, USA) انتقال داده شد و سر موش در آن ثابت گردید. سپس با قیچی، موهای روی سر حیوان برداشته شده و شکافی طولی از ناحیه بین دو چشم به سمت عقب سر تا ناحیه بین دو گوش ایجاد شد. در این مرحله پس از برداشتن نسوج ناحیه فوقانی و پس سری حیوان، مختصات هسته میخی‌شکل نسبت به نقطه برگما (محل تقاطع استخوان‌های آهیانه‌ای و استخوان پیشانی) با استفاده از اطلس پاکسینوز و واتسون [۲۱] تعیین گردید (۸/۳ میلی‌متر خلف برگما و ۱/۷ میلی‌متر سمت چپ خط میانی). در نقطهٔ مورد نظر روی سطح جمجمه سوراخی به قطر ۲ میلی‌متر ایجاد و سخت‌شامه، کنار زده شد؛ سپس با کمک دستگاه استرئوتاکس یک عدد کانول راهنما به طول ۵/۳ میلی‌متر (یک میلی‌متر کمتر از عمق هسته فوق نسبت به سطح جمجمه) با استفاده از سیمان دندان‌پزشکی و پیچ‌های عینک ثابت شد. برای جلوگیری

www.SID.ir

Archive of SID

از انسداد کانول راهنما از یک رشته سیم فولادی زنگ نزن که قبلاً به اندازه کانول راهنما آماده شده بود، استفاده گردید. پس از عمل جراحی، حیوان به محیط قبلی انتقال یافته و به مدت یک هفته تحت‌نظر بود تا بهبودی کامل صورت گیرد. در طی این مدت حیوان در محفظه نگهداری موش گذاشته می‌شد تا به آن عادت کند و استرس حاصل از Handling هم در طول مراحل آزمایش کاهش یابد. در پایان هفته، آزمایش بر روی حیوان انجام می‌گرفت [۱۲]. جهت تزریق مرفین و لیدوکائین به داخل هسته CnF از یک کانول، به عنوان کانول تزریق (قطر خارجی این کانول به اندازه قطر داخلی کانول راهنما بود) که ۶/۳ میلی‌متر طول داشت و به یک لوله پلی‌اتیلن ۲۰ و سرنگ یک میکرولیتری هامیلتون (Hamilton syringe) متصل شده بود؛ استفاده گردید.

آزمون سنجش درد. در این آزمون از دستگاه دردسنجی پس‌کشیدن دم (Sparco, Iran) استفاده شد. این دستگاه دارای منبع تولید حرارت نوری بوده که به سطح شکمی دم حیوان تابانده می‌شد. دستگاه فوق حاوی یک حس‌گر (Sensor) الکترونیکی بود که به محض برداشته شدن دم از روی آن قطع شده و زمان در معرض نور بودن دم، توسط دستگاه نشان داده می‌شد. دستگاه، روی پولاریته ۵۰ تنظیم و اشعه در فواصل ۲، ۳ و ۴ سانتی‌متری از انتهای دم حیوان [۱۲،۱۱] تابانده می‌شد و مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان، دم خود را از محل تابش، دور کند به عنوان زمان تأخیر پس‌کشیدن دم (Tail flick latency, TFL) اندازه‌گیری و بر حسب ثانیه ثبت می‌گردید. جهت کاهش خطای آزمایشات، در هر مرحله (قبل و بعد از تزریق یا عمل کانول‌گذاری) از متوسط زمان TFL، حاصل از ۶-۵ تست متوالی پس‌کشیدن دم (Tail flick, TF) به فواصل ۵ دقیقه‌ای استفاده گردید [۱۲،۱۱]. حداکثر زمان قطع اشعه (Cut-off point) برای تمام گروه‌های آزمایشی، ۱۰ ثانیه در نظر گرفته‌شد. این زمان به عنوان مدت زمانی است که چنان چه تأخیر پس‌کشیدن دم از آن بیشتر می‌شد، تابش اشعه قطع می‌گشت و این امر برای جلوگیری از آسیب بافتی و سوختن دم حیوان در نظر گرفته شده‌بود. جهت بررسی درصد پاسخ‌دهی مرفین و لیدوکائین به محرک دردآور حرارتی فوق و مقایسه آن با گروه‌های کنترل، از حداکثر درصد اثردهی ممکن (Maximal possible effect, %MPE) که فرمول آن به شرح زیر می‌باشد، استفاده گردید [۲۷]:

$$\%MPE=\frac{(\text{زمان پاسخ پایه - زمان تأخیر در پاسخ پس از تزریق مادهٔ موردنظر})}{(\text{زمان پاسخ پایه - } \textit{Cut-off point})}\times 100$$

گروه‌های آزمایشی. در این مطالعه، ۹ گروه ده‌تایی موش نر به گروه‌های کنترل و آزمون تقسیم‌بندی شدند:

گروه۱. این گروه به عنوان گروه دست‌نخورده (Intact) و برای دستیابی به زمان پایه (Baseline) تأخیر پس‌کشیدن دم در نظر گرفته شد. در این گروه، حیوان بدون هیچ‌گونه عمل جراحی، کانول‌گذاری و تزریق دارو یا نرمال سالین، تحت آزمون پس‌کشیدن دم (TF) قرار گرفت، بدین صورت که حیوان در محفظه نگهداری موش قرار گرفت و پس از عادت کردن به محفظه، در دقایق ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰، تست TF [۱۱] انجام شد. لازم به ذکر است که بقیه گروه‌ها، تحت عمل جراحی، کانول‌گذاری و تزریق دارو یا نرمال سالین قرار گرفتند.

گروه۲. این گروه به عنوان Sham-operated انتخاب شد. در این گروه، پس از عمل کانول‌گذاری و دوره بهبودی، بدون هیچ‌گونه تزریقی، آزمون TF در دقایق ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ به عمل آمد.

گروه۳. این گروه به عنوان گروه سالین (Saline) در نظر گرفته شد. در این حیوانات، پس از عمل جراحی و کانول‌گذاری، ابتدا ۵ نوبت TF به فواصل ۵ دقیقه انجام، سپس نرمال سالین به میزان ۰/۵ میکرولیتر در هسته CnF تزریق و در دقایق ۲، ۷، ۱۲، ۱۷، ۲۲ و ۲۷ پس از تزریق [۱۱]، مجدداً TF انجام و زمان آن ثبت گردید.

گروه ۴. پس از جراحی و کانول‌گذاری، ۵ مرتبه آزمون TF به فواصل ۵ دقیقه انجام و سپس مرفین به

www.SID.ir

Archive of SID

مقدار ۱۰ میکروگرم در ۰/۵ میکرولیتر سالین [۴،۶،۲۶] به داخل هسته CnF تزریق و در زمان‌های ۲، ۷، ۱۲، ۱۷، ۲۲ و ۲۷ پس از میکرواینجکشن، آزمون TF به عمل آمد؛ سپس نالوکسان به میزان mg/kg ۱ به صورت وریدی [۱۲] تزریق و مجدداً در دقایق ۲، ۷، ۱۲، ۱۷، ۲۲ و ۲۷ پس از تزریق، آزمون فوق انجام شد.

گروه ۵. در این گروه تمامی مراحل، مشابه گروه ۴ بود و تنها اختلاف آن، در مقدار مرفین تزریق‌شده به روش درون‌هسته‌ای (۲۰ میکروگرم در ۰/۵ میکرولیتر سالین) در ناحیه CnF بود.

گروه ۶. در این گروه، تمامی مراحل مشابه گروه ۴ و ۵ بود و تنها اختلاف آن، در مقدار مرفین تزریق‌شده به روش درون‌هسته‌ای (۴۰ میکروگرم در ۰/۵ میکرولیتر سالین) در هسته میخی‌شکل بود.

گروه ۷. در این گروه، ابتدا ۵ مرتبه TF به فواصل ۵ دقیقه انجام شد و سپس لیدوکائین ۵٪ به مقدار ۰/۵ میکرولیتر [۲۲،۱۶] درون هسته میخی‌شکل تزریق و سپس ۶ مرتبه TF به فواصل ۵ دقیقه‌ای (دقایق ۲، ۷، ۱۲، ۱۷، ۲۲ و ۲۷ پس از میکرواینجکشن) انجام شد.

گروه ۸. در این گروه ابتدا ۵ بار و به فواصل ۵ دقیقه، TF انجام شد و سپس لیدوکائین ۵٪ به مقدار ۰/۵ میکرولیتر، درون هسته تزریق و پس از یک دقیقه، ۲۰ میکروگرم مرفین در ۰/۵ میکرولیتر سالین نیز تزریق و TF در دقایق مشابه گروه ۷ انجام و سپس نالوکسان وریدی mg/kg ۱ مانند گروه‌های قبل تزریق و ۶ مرتبه به فواصل ۵ دقیقه‌ای TF انجام گردید.

گروه ۹. در این گروه، ۵ بار TF به فواصل ۵ دقیقه انجام و سپس لیدوکائین ۵٪ به مقدار ۰/۵ میکرولیتر به داخل هسته، تزریق و پس از یک دقیقه، مرفین وریدی به مقدار mg/kg ۲ [۱۲] تزریق شد و ۶ مرتبه TF در دقایقی مشابه گروه ۷ و ۸ انجام گردید. سپس نالوکسان وریدی به میزان mg/kg ۱ تزریق و ۶ بار و به فواصل ۵ دقیقه‌ای، TF انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها. داده‌ها بر اساس میانگین ± میانگین خطای معیار (Mean ± SEM) بیان گردید و برای مقایسه اختلاف زمان تأخیر و یا MPE% در گروه‌های مختلف و در دقایق متفاوت، از تست آنالیز واریانس (ANOVA) و پس‌آزمون Tukey (Post hoc) استفاده گردید. جهت بررسی اختلاف درون‌گروهی از تست آنالیز واریانس مدل Repeated measures استفاده شد که در صورت معنی‌داری با پس آزمون Tukey همراه بود؛ ضمناً برای مقایسه میانگین زمان تأخیر پس‌کشیدن دم و یا MPE% در گروه‌های مختلف، از آزمون دانشجویی t-test یا Paired t-test استفاده شد. سطح معنی‌داری، در تمام آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ درنظر گرفته شد.

تأییدیه بافت‌شناسی. پس از انجام آزمایشات لازم در تمام گروه‌های آزمایشی که کانول‌گذاری شده بودند، تزریق ماده رنگی Pontamine sky blue به مقدار ۱-۰/۵ میکرولیتر انجام می‌شد. سپس با استفاده از یک دوزکشنده تیوپنتال سدیم، حیوان کشته می‌شد و مغز حیوان را پس از بیرون آوردن به مدت سه روز در فرمالین ۱۰٪ قرار داده و سپس از آنها برش‌های ۱۰۰-۵۰ میکرومتری تهیه و صحت یا عدم صحت ناحیه تزریق براساس اطلس پاکسینوز و واتسون [۲۱] بررسی می‌گردید. چنان‌چه محل کانول‌گذاری و تزریق مواد درست بود اطلاعات مربوط به آن موش استفاده می‌شد و در غیر این صورت اطلاعات به دست آمده، کنار گذاشته می‌شدند.

نتایج

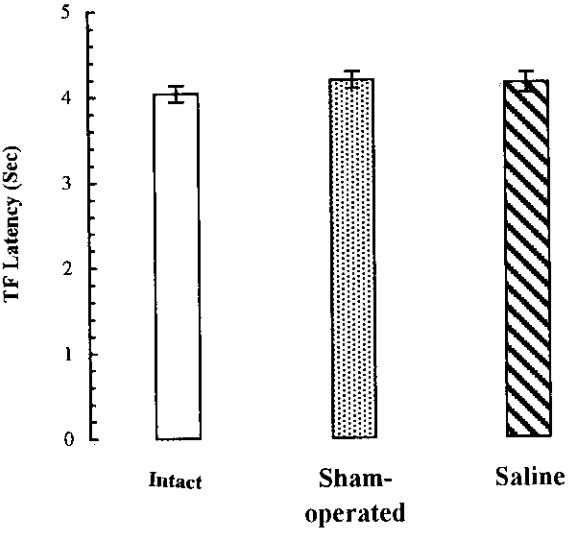
۱ - بررسی زمان تأخیر پس‌کشیدن دم در گروه‌های کنترل

نمودار ۱ نشان دهندهٔ میانگین زمان تأخیر پس‌کشیدن دم (TFL) در گروه‌های کنترل است. این گروه‌ها شامل گروه دست‌نخورده، Sham-operated (کانول‌گذاری

www.SID.ir

Archive of SID

شده) و گروه Saline بودند. در گروه Saline، حیوان به میزان ۰/۵ میکرولیتر نرمال سالین در هسته CnF به روش میکروواینجکشن دریافت می‌کرد. در این گروه میانگین زمان TFL قبل از تزریق نرمال سالین ۰/۰۹±۴/۲۴ ثانیه بود در حالی که پس از تزریق سالین به داخل هسته CnF به ۰/۱۶±۴/۱۱ ثانیه رسید؛ این اختلاف، معنی‌دار نبود. از طرفی آنالیز واریانس زمان تأخیر پس‌کشیدن دم در گروه‌های فوق و در زمان‌های مختلف ثبت TFL، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (نمودار ۱). لذا گروه سالین، به عنوان گروه شاهد انتخاب و بقیه گروه‌های آزمونی با آن مقایسه گردیدند.



شکل ۱. مقایسه میانگین کلی زمان تأخیر پس کشیدن دم در گروههای کنترلی. نمودار فوق نقش عمل جراحی (گروه *Sham-operated*) و تزریق سالین (۰/۵ میکرولیتر) در هسته *CnF* (گروه *Saline*) بر میانگین زمان تأخیر پس‌کشیدن دم (*TF Latency*) نسبت به گروه دست‌نخورده (*Intact*) را نشان می‌دهد (*n*=۱۰). همانطور که ملاحظه می‌شود آزمون آنالیز واریانس (*ANOVA*) هیچگونه اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. داده‌ها به شکل میانگین ± میانگین خطای معیار (*Mean±SEM*) تمام دقایق مورد آزمایش بیان شده‌است.

۲ - مقایسه اثر وابسته به دوز مرفین تزریق‌شده در هسته CnF موش صحرایی بر محرک دردآور حرارتی

در این مقایسه، سه گروه موش صحرایی که به ترتیب ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکروگرم مرفین در ۰/۵ میکرولیتر سالین در ناحیه CnF و به روش درون‌هسته‌ای دریافت می‌کردند، مورد بررسی قرار گرفتند. در گروهی که ۱۰ میکروگرم مرفین دریافت کرده بود؛ پس از گذشت ۲ دقیقه از زمان تزریق درون‌هسته‌ای مرفین، آثار بی‌دردی شروع شد و میانگین زمان TFL در دقایق ۲، ۷، ۱۲، ۱۷، ۲۲ و ۲۷ به ۰/۳۷±۶/۷ ثانیه و حداکثر درصد اثردهی ممکن (%MPE) پس از گذشت ۲۷ دقیقه به ۵/۵۹±۳۳/۸ درصد رسید (نمودار ۲-A و ۲-B)؛ که این میزان نسبت به گروه شاهد (سالین) در تمام دقایق فوق اختلاف معنی‌دار داشت [P<۰/۰۰۰۱، F۵،۱۰۷=۲۷/۸۵۸]. پس از تزریق وریدی ۱ mg/kg نالوکسان، اثر بی‌دردی از بین رفت و میانگین زمان TFL به ۰/۳۴±۴/۱۶ ثانیه رسید که نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت.

در گروه آزمایشی دوم که مرفین به میزان ۲۰ میکروگرم در ۰/۵ میکرولیتر سالین به درون هسته CnF تزریق می‌شد، میانگین زمان TFL، قبل از تزریق ۰/۱۷±۴/۶۹ ثانیه بود و پس از تزریق مرفین به ۰/۵±۷/۶۹ ثانیه رسید. در این بی‌دردی القاء شده به‌وسیله مرفین، میانگین حداکثر درصد اثردهی ممکن برای مرفین ۱۲/۰۸±۵۷/۲۹ درصد بود. پس آزمون Tukey متعاقب آنالیز واریانس از مدل Repeated measures، پاسخ ضددردی مرفین به محرک دردآور حرارتی (زمان TFL) به تفکیک دقایق TF در تمام زمان‌ها، تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد [P<۰/۰۰۰۱، F۵،۹۸=۱۹/۵۳۹] ولی این اختلاف نسبت به گروه قبل (۱۰ μg مرفین) تنها در دقیقه ۲۷ پس از تزریق مشاهده نشد. تزریق ۱ mg/kg نالوکسان وریدی اثر بی‌دردی مرفین را پس از گذشت چند دقیقه از بین برد و زمان TFL را به ۰/۲۸±۴/۷۳ ثانیه رساند (نمودار ۲-B).

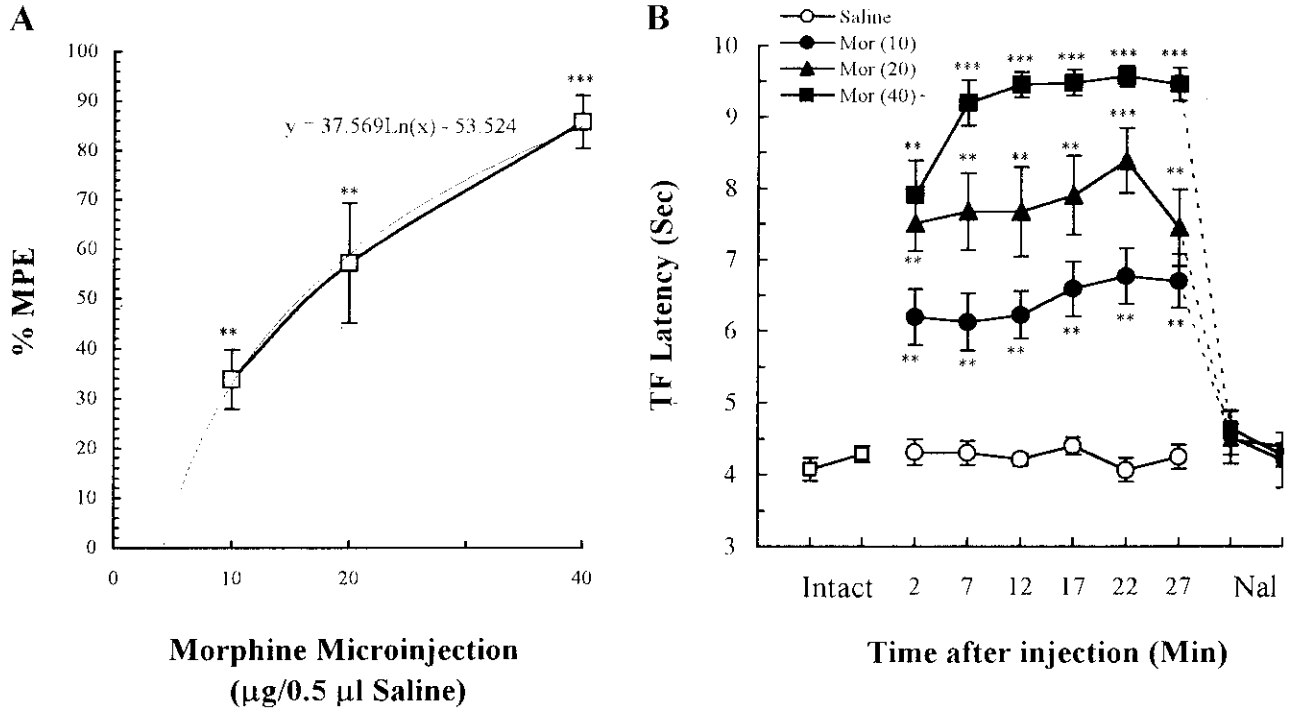
در گروه سوم، ۴۰ میکروگرم مرفین در ۰/۵ میکرولیتر سالین به روش درون‌هسته‌ای در ناحیه CnF تزریق شد. میانگین زمان TFL در دقایق صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ قبل

www.SID.ir

Archive of SID

از تزریق مرفین، ۰/۱±۴/۶۹ ثانیه بود. با تزریق درون‌هسته‌ای مرفین اثر بی‌دردی، در دقیقه دوم شروع شد به طوری که در این گروه MPE% برای مرفین در ده موش صحرایی به ۱۰/۸۱±۶۴/۰۸ درصد رسید و سپس در دقایق دیگر ۷، ۱۲، ۱۷، ۲۲ و ۲۷ اثر بی‌دردی افزایش چشم‌گیری پیدا کرد و میانگین زمان TFL به ۰/۲۲±۹/۱۸ ثانیه و حداکثر اثردهی ممکن برای مرفین به ۵/۳۳±۸۵/۹۳ درصد افزایش یافت. این افزایش نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌دار قابل‌ملاحظه‌ای داشت [نمودار ۲-A؛ $P<0/0001$، $F_{3,20}=92/19$]. با تزریق وریدی نالوکسان به میزان ۱ mg/kg، میانگین زمان TFL در این گروه نیز به حالت قبل از تزریق مرفین رسید (۰/۲۲±۴/۶۲ ثانیه)؛ که نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (نمودار ۲-B).

همان طوری که نمودار ۲-A نشان می‌دهد، پاسخ ضددردی مرفین به محرک دردآور حرارتی، وابسته به دوز و از یک تابع غیرخطی (Logarithmic equation) برابر با $y=37/569\ Ln(x)-53/524$ تبعیت می‌کند (خط نقطه‌چین؛ نمودار ۲-A). لذا جهت بررسی‌های بعدی از دوز مؤثر ۵۰٪ (ED50%) مرفین که MPE% آن در محدوده ۵۰٪ است، استفاده شد. در این تحقیق، ED50% مرفین تزریق‌شده به داخل CnF در حدود ۲۰ میکروگرم در ۰/۵ میکرولیتر سالین محاسبه گردید. این دوز مرفین درگروه‌های آزمونی دیگر و برای تزریق درون هسته‌ای استفاده گردید.



شکل ۲. مقایسه اثرات ضددردی دوزهای مختلف مرفین پس از تزریق در هسته ***CnF*** موش صحرائی. ***(A)*** اثرات ضددردی مرفین تزریق‌شده در ناحیه فوق از یک تابع لگاریتمی پیروی می‌کند. آزمون ***Tukey*** متعاقب آنالیز واریانس تفاوت معنی‌داری را میان دوزهای مختلف نشان داد. هر نقطه نمایانگر میانگین حداکثر اثردهی ممکن ***(%MPE)*** برای ۱۰-۹ عدد حیوان می‌باشد. ***(B)*** اثرات میکروواینجکشن مرفین در دوزهای ۱۰ میکروگرم(●)، ۲۰میکروگرم (▲) و ۴۰ میکروگرم (■) در هسته ***CnF*** موش صحرائی بر زمان تأخیر پس کشیدن دم ***(TF Latency)*** در دقایق مختلف و اثر تزریق نالوکسان وریدی بر آن را نشان می‌دهد. داده‌ها به شکل میانگین ± میانگین خطای معیار ***(Mean±SEM)*** در هر نقطه از زمان توضیح داده شده‌است.
*** $P<0.0001$ ، ** $P<0.01$ اختلاف معنی‌دار با گروه سالین

www.SID.ir

Archive of SID

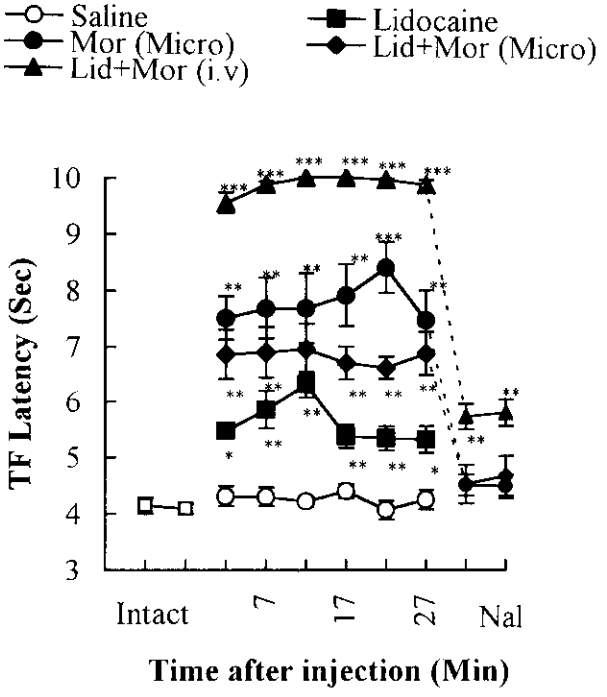
۳ - بررسی اثر تزریق لیدوکائین ۵٪ در هسته CnF بر زمان تأخیر پس‌کشیدن دم

در این گروه، میانگین زمان TFL در دقایق صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ قبل از میکرواینجکشن لیدوکائین (۰/۵ میکرولیتر) برابر با ۰/۰۸±۴/۵۷ ثانیه بود در حالی که پس از تزریق لیدوکائین ۵٪ در ناحیه فوق، بی‌دردی شروع و در دقیقه ۱۲ به حداکثر خود رسید (۵/۸۱±٪۳۱/۹۹=%MPE). پس از دقیقه ۱۲، میانگین زمان TFL کاهش و در دقیقه ۲۷ به ۰/۲۴±۵/۳۲ ثانیه رسید (نمودار ۳) ولی آزمون Tukey متعاقب آنالیز واریانس از مدل Repeated measures در نمودار ۳ نشان داد که اختلاف معنی‌داری در تمامی نقاط ثبت TFL بین گروه فوق و گروه شاهد (سالین) وجود دارد [P<۰/۰۰۰۱، F۵،۹۰=۲۹/۵۳۸].

بررسی اثر غیرفعال کردن هستهٔ CnF بر پاسخ ضددردی مرفین تزریق‌شده به روش درون‌هسته‌ای و وریدی

در این بررسی، دو گروه موش صحرایی مورد آزمایش قرار گرفتند. گروهی که ابتدا لیدوکائین ۵٪ (۰/۵ μl) و سپس مرفین (۲۰ μg در ۰/۵ میکرولیتر سالین) به فاصله یک دقیقه به داخل هستهٔ CnF تزریق گردید. گروه دوم، لیدوکائین درون‌هسته‌ای (۰/۵ μl) و مرفین به میزان ۲ mg/kg داخل وریدی دریافت کردند.

در حیوانات گروه اول، میانگین زمان TFL در دقایق قبل از تزریق لیدوکائین و مرفین ۰/۳±۴/۵۷ ثانیه بود در حالی که پس از تزریق ۰/۵ میکرولیتر لیدوکائین ۵٪ و متعاقب آن تزریق ۲۰ میکروگرم مرفین درون‌هسته‌ای، بی‌دردی، شروع و میانگین زمان TFL به ۰/۳۱±۶/۹۲ ثانیه و حداکثر اثردهی ممکن این دو به ۶/۷۶±۴۴/۷۳ درصد افزایش پیدا کرد. پس آزمون Tukey متعاقب آنالیز واریانس یک‌طرفه، پاسخ ضددردی مرفین و لیدوکائین به محرک دردآور حرارتی (زمان TFL) به تفکیک دقایق TF در تمام زمان‌ها اختلاف معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد [نمودار ۳؛ P<۰/۰۰۰۱، F۵،۱۰۲=۳۳/۶۵۲]. تزریق وریدی نالوکسان به مقدار ۱ mg/kg، اثر لیدوکائین و مرفین بر زمان TFL را از بین برد، بدین معنی که میانگین زمان TFL در موش صحرایی پس از گذشت ۵ دقیقه، به ۰/۳۶±۵/۱۴ ثانیه رسید که اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد نشان نداد (نمودار ۳).



شکل ۳. بررسی اثر غیرفعال کردن هسته میخی‌شکل موش صحرائی توسط لیدوکائین بر زمان پاسخدهی به محرک دردآور حرارتی و پاسخ ضددردی ناشی از تزریق مرفین. در این نمودار اثرات میکرواینجکشن ۰/۵ میکرولیتر لیدوکائین ۵٪ (■)، مرفین ۲۰ میکروگرم در ۰/۵ میکرولیتر سالین (●)، لیدوکائین ۵٪ + ۲۰ میکروگرم مرفین در ۰/۵ میکرولیتر سالین (◆) در هسته ***CnF*** و تزریق وریدی مرفین ***mg/kg*** ۲ + ۰/۵ میکرولیتر لیدوکائین ۵٪ (▲) در هسته فوق بر زمان تأخیر پس‌کشیدن دم ***(TF latency)*** قبل و بعد از تزریق وریدی نالوکسان ***mg/kg*** ۱ نشان داده شده‌است. داده‌ها بصورت میانگین ± میانگین خطای معیار ***(Mean±SEM)*** برای هر نقطه از زمان بیان شده‌است.
P<0.0001 ***، ***P<0.01*** **، ***P<0.05*** * اختلاف معنی‌دار با گروه سالین

در گروه دوم که لیدوکائین درون‌هسته‌ای و مرفین وریدی دریافت می‌کردند، پاسخ ضددردی مرفین و لیدوکائین به شکل بارزی ظاهر شد (نمودار ۳). به طوری که میانگین زمان TFL در تمام دقایق ۲، ۷، ۱۲، ۱۷، ۲۲

www.SID.ir

Archive of SID

و ۲۷ پس از تزریق به ۹/۸۶±۰/۰۵ ثانیه (%MPE=۹۶/۹۷±۲/۴۳) رسید. آزمون Tukey متعاقب آنالیز واریانس از مدل Repeated measures نشان داد که این اختلاف، در تمامی نقاط ثبت TFL بین گروه فوق و گروه شاهد (سالین) به طور قابل‌ملاحظه‌ای معنی‌دار می‌باشد [P<۰/۰۰۰۱، F۵،۹۰=۵۳/۶۲۳]. از طرفی تزریق وریدی ۱ mg/kg نالوکسان به طور کامل، اثر افزایشی زمان TFL ناشی از تزریق لیدوکائین و مرفین را از بین نبرده و میانگین زمان TFL بعد از تزریق نالوکسان به ۶/۳۳±۰/۱ رسید که نسبت به گروه سالین، معنی‌دار بوده‌است (نمودار ۳؛ Paired t-test; P<۰/۰۱). لازم به ذکر است که مقایسه آماری پاسخ ضددردی مرفین پس از تزریق درون‌هسته‌ای، با مرفین تزریق شده به روش داخل وریدی در دو گروه فوق [P<۰/۰۰۰۱، F۱۱،۱۰۸=۳۸/۴۳۳] نشان داد که زمان تأخیر پس‌کشیدن دم در تمام نقاط ثبت TFL به جز در دقیقه دوم، در گروه دوم (لیدوکائین + مرفین وریدی) نسبت به گروه اول (لیدوکائین + مرفین درون‌هسته‌ای) بیشتر بوده و لذا اثر ضددردی مرفین پس از تزریق سیستمیک به مراتب بیشتر ظاهر شده‌است (نمودار ۳).

بحث و نتیجه‌گیری

هستهٔ میخی‌شکل (CnF) از جمله نواحی است که علاوه بر نقش حرکتی، در تعدیل درد هم نقش دارد. این نقش با مطالعات آناتومیکی که ارتباط هستهٔ میخی‌شکل با نواحی دخیل در تنظیم درد همچون هسته‌های مرکزی تالاموس، هسته سجافی بزرگ و هسته ماگنوسلولار را نشان می‌دهد، تقویت شده‌است [۵،۲۸،۲۹]. مطالعات دیگری وجود انکفالین را نیز در این هسته مورد اشاره قرار داده‌اند که می‌تواند نشانه‌ای از نقش این هسته در ارتباط با درد باشد [۷،۱۸،۲۹]. گرچه مطالعات زیادی ورودی‌ها و خروجی‌های هسته میخی‌شکل را مشخص و ارتباطات یک‌طرفه و دوطرفه آن را با نواحی مرکزی تعدیل درد، مورد اشاره قرار داده‌اند [۳،۲۸] ولی در زمینه نوروفیزیولوژی و نوروفارماکولوژی این هسته، تحقیقات چندانی صورت نگرفته‌است. تحقیق ما شاید در نوع خود اولین کاری باشد که دربارهٔ حذف برگشت‌پذیر هستهٔ میخی‌شکل و اثرات مرفین در ناحیه فوق، قبل و پس از غیرفعال کردن این هسته صورت گرفته‌است.

اثر وابسته به دوز مرفین در هسته CnF موش صحرایی

در بسیاری از نواحی سیستم ضددرد مرکزی از جمله مادهٔ خاکستری دور قناتی و ناحیه RVM، گیرنده‌های اپیوئیدی وجود داشته [۶،۱۰،۱۳،۱۴] و مرفین با اتصال به این گیرنده‌ها خصوصاً μ باعث بی‌دردی و افزایش زمان تأخیر پس‌کشیدن دم می‌شود [۱۰،۱۳]. با افزایش دوز، مرفین به گیرنده‌های دیگر اپیوئیدی هم متصل شده [۸] و باعث تشدید بی‌دردی و افزایش زمان تأخیر در پس‌کشیدن دم می‌شود. در مطالعه فعلی هم با تزریق درون‌هسته‌ای دوزهای افزایش‌یابنده‌ای از مرفین به روش میکرواینجکشن، آثار بی‌دردی پیش‌رونده و طولانی شدن زمان تأخیر پس‌کشیدن دم مشاهده شد. با تزریق نالوکسان وریدی آثار بی‌دردی ناشی از تزریق مرفین، محو و زمان تأخیر پس‌کشیدن دم، به حالت کنترل برگشت. از این یافته‌ها چنین برداشت می‌شود که احتمالاً در هسته میخی‌شکل، گیرنده‌های اپیوئیدی، وجود داشته و مرفین اثرات ضددردی خود را از طریق این گیرنده‌ها و خصوصاً μ اعمال نموده‌است و چون با افزایش مقدار دارو، زمان تأخیر پس‌کشیدن دم افزایش یافته، امکان اینکه مرفین اثر خود را از طریق دیگر گیرنده‌های اپیوئیدی [۶] موجود در هسته میخی‌شکل اعمال کرده باشد، وجود دارد.

مطالعه دیگری نشان داده‌است که ۵ دقیقه بعد از تحریک الکتریکی هسته میخی‌شکل در موش صحرایی، افزایش قابل ملاحظه‌ای در زمان تأخیر پس‌کشیدن دم

www.SID.ir

Archive of SID

ایجاد می‌شود و در صورتی که قبل از تحریک هسته فوق نالوکسان به حیوان تزریق شود اثر بی‌دردی ظاهر نمی‌گردد. از آنجایی که عمل نالوکسان در برگرداندن حالات بی‌دردی ناشی از تحریک، در نقاط دیگر سیستم عصبی مرکزی از جمله PAG ثابت شده‌است [۲۹،۲۵]؛ به نظر می‌رسد در هستهٔ میخی‌شکل هم گیرنده‌های اپیوئیدی وجود دارد که نالوکسان با آنتاگونیزه کردن آنها مانع از اثر بی‌دردی ناشی از تحریک می‌شود، که این موضوع می‌تواند تأییدی بر یافته‌های ما مبنی بر وجود گیرنده‌های اپیوئیدی در این هسته باشد. از طرفی ساختمان سلولی هسته میخی‌شکل شباهت زیادی به PAG دارد [۷]. مطالعات نشان داده که این گیرنده‌ها در PAG تراکم زیادی داشته و تزریق مستقیم اپیوئیدها به داخل هسته، پاسخ‌های رفتاری و عصبی به محرک دردناک، مانند زمان پس‌کشیدن دم را از بین برده‌است [۱۰،۴]. علاوه بر این، وجود اپیوئیدهای آندوژن خصوصاً انکفالین در این ناحیه گزارش شده‌است [۱۹،۶].

تحقیقات دیگری نشان داده که هسته میخی‌شکل همراه PAG به طور غیرمستقیم در تعدیل درد، نقش داشته و اثرات قدرتمندی روی نورون‌های هستهٔ سجافی و ماگنوسلولار ناحیهٔ RVM اعمال می‌کند. با تحریک الکتریکی هستهٔ میخی‌شکل، حدود ۷۵٪ نورون‌های این دو هسته، به تحریک پاسخ داده‌اند و از آنجا توسط دسته پشتی ـ جانبی بر شاخ خلفی نخاع تأثیر گذاشته و باعث بی‌دردی شده‌اند [۲۹،۲] که این موضوع اهمیت هستهٔ CnF در رابطه با درد را نشان می‌دهد. همین‌طور مطالعات پیشین نشان داده‌اند که دو نوع سلول On-cell و Off-cell در PAG وجود دارد. تحریک الکتریکی و یا تزریق اپیوئیدها با اثر بر این دو نوع سلول، باعث پاسخ ضددردی می‌شوند [۲۶،۱۰]. Off-cellها نورون‌هایی هستند که در هنگام درد به حالت غیرفعال درآمده ولی در زمان بروز بی‌دردی به طور غیرمستقیم و توسط پدیدهٔ رفع مهار، فعال شده و اثر قوی بر تعدیل درد اعمال می‌کنند [۱۴،۱۳،۱۲]. در این تحقیق نیز تزریق مرفین به روش میکرواینجکشن داخل هسته میخی‌شکل انجام و باعث افزایش زمان تأخیر پس‌کشیدن دم گردید. از آنجایی‌که PAG و هسته میخی‌شکل با هم شباهت ساختاری داشته و هر دو به تحریک الکتریکی و همین‌طور به اپیوئیدها پاسخ می‌دهند، به نظر می‌رسد هسته میخی‌شکل هم دارای دو نوع سلول On-cell و Off-cell باشد که اپیوئیدها با تأثیر بر این دو سلول، اثرات ضددردی خود را اعمال می‌کنند. گرچه تحقیقات زیادی در راه اثبات این مدعا لازم است.

اثر غیرفعال کردن برگشت‌پذیر هسته CnF بر محرک دردآور حرارتی

لیدوکائین کاربرد زیادی در تحقیقات نوروفیزیولوژی داشته و زمانی‌که به داخل یک هسته اختصاصی، تزریق شود به وسیله بلوک موضعی نورون‌ها و غیرفعال شدن هسته موردنظر، نقش آن را در یک فعالیت خاص تعیین می‌کند [۲۷،۱۶]. این ماده وقتی به میزان ۰/۵ میکرولیتر به روش میکرواینجکشن، تزریق شود ناحیه‌ای به شعاع ۵۰۰ میکرومتر را با حداکثر اثربخشی بین دقایق ۳۰-۵، غیرفعال می‌کند [۲۷]. در این راستا گزارشات متعددی وجود دارد که تزریق درون‌هسته‌ای لیدوکائین در هسته‌های PAG، ژیگانتوسلولار و سجافی، با غیرفعال کردن آنها اثرات پردردی و کاهش زمان تأخیر در پس‌کشیدن دم را ایجاد می‌کند [۲۷،۲۲]. باتوجه به این شواهد، انتظار می‌رود تزریق لیدوکائین درون هسته میخی‌شکل هم با غیرفعال کردن این هسته، باعث پردردی و کاهش تأخیر در زمان پس‌کشیدن دم گردد؛ ولی برخلاف این پیش‌بینی، تزریق لیدوکائین نه تنها باعث کاهش زمان تأخیر در پس‌کشیدن دم نشده بلکه باعث افزایش آن هم گردیده‌است. به طوری که پاسخ تا دقیقه ۱۲ افزایش و بعد از آن کمی کاهش داشته ولی پاسخ به لیدوکائین همچنان با سطح پایه، اختلاف

www.SID.ir

Archive of SID

معنی‌داری نشان داد. به نظر می‌رسد این اثر لیدوکائین به علت تأثیر آن بر فعالیت نورون‌های یک مسیر خروجی مهاری از این هسته بر روی Off-cellهای نواحی مرتبط با تعدیل درد هم‌چون PAG و RVM باشد.

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که نورون‌های واسطهٔ مهاری فراوانی که حاوی میانجی عصبی GABA هستند بر روی Off-cellهای نواحی فوق اثر کرده و باعث غیرفعال شدن آنها می‌گردند [۱۴،۲۳]. در زمان بی‌دردی این اثر مهاری GABA بر روی Off-Cellها توسط پدیدهٔ رفع مهار به وسیلهٔ عواملی مثل اپیوئیدها و یا مسیرهای تحریکی یا مهاری ناشناخته درون مغز، به علت پدیده رفع مهار، برداشته شده و سلول فعال می‌شود [۱۲،۱۴]. یکی از این مسیرهای ناشناخته احتمالاً مسیر مهاری گابائرژیک می‌باشد [۱۲،۲۰]. با توجه به نتایج تحقیق ما که تزریق درون‌هسته‌ای لیدوکائین، باعث افزایش زمان تأخیر پس‌کشیدن دم شد؛ به نظر می‌رسد که هستهٔ میخی‌شکل دارای نورون خروجی گابائرژیک است که وقتی این مسیر عصبی با تزریق درون‌هسته‌ای لیدوکائین بلوک گردد، اثر مهاری نورون حاوی GABA بر روی Off-cellها در ناحیهٔ RVM حذف و به علت رفع مهار، فعالیت Off-cellها شروع و باعث افزایش تأخیر در زمان پس‌کشیدن دم ناشی از لیدوکائین می‌گردد. ولی چون این مسیر مهاری، مسیر مهمی نبوده و یا اثر لیدوکائین در مهار آن زیاد مؤثر نبوده [۲۷] لذا پاسخ بی‌دردی ایجاد شده چندان قوی نبود. از طرفی خروجی‌هایی از هسته میخی‌شکل به جسم سیاه و خصوصاً ناحیه متراکم (Zona compacta) آن که نقش مهمی در حرکت دارد، وارد می‌شوند [۳]. بعضی مطالعات اشاره کرده‌اند که افزایش زمان تأخیر در پس‌کشیدن دم، ممکن است ناشی از نقص حرکتی متعاقب تحریک الکتریکی هستهٔ میخی‌شکل باشد؛ گرچه این مطالعات دلایل روشنی برای این اثر ارائه نداده‌اند [۲۹]. در مطالعهٔ فعلی هم احتمال اینکه لیدوکائین چنین اثراتی بر روی خروجی‌های وارده به جسم سیاه داشته و باعث مهار حرکت دم و در نتیجه افزایش زمان تأخیر در پس‌کشیدن دم شود، وجود دارد. با این وجود، مهار حرکت دم منحصراً مربوط به نقص حرکتی نمی‌باشد؛ چون که نقص حرکتی ۷-۱ دقیقه بعد از تحریک به وجود می‌آید و علاوه بر آن در این شرایط، با تزریق نالوکسان می‌بایست زمان تأخیر پس‌کشیدن دم به حالت کنترل بازگشت نماید [۲۹].

اثر غیرفعال کردن هستهٔ CnF بر پاسخ ضددردی مرفین تزریق‌شده به روش درون‌هسته‌ای و وریدی

تزریق هم‌زمان لیدوکائین و مرفین درون هسته میخی‌شکل اثر مرفین را در مقایسه با تزریق به تنهایی مرفین در ناحیه فوق کاهش داده ولی حذف نمی‌کند. بعضی گزارشات به این نکته که تزریق ۰/۵ میکرولیتر لیدوکائین به طور کامل نتوانسته است هسته‌های سجافی و ژیگانتوسلولار را بلوک کند اما با دوزهای بالاتر بلوک ایجاد کرده‌است، اشاره داشته‌اند [۲۷]. لذا به نظر می‌رسد در تزریق هم‌زمان این دو دارو، اثر لیدوکائین نسبی باشد؛ بدین صورت که لیدوکائین بر نورون‌هایی که دارای گیرنده‌های اپیوئیدی بوده و در واقع محل اثر مرفین محسوب می‌شوند، اثر کرده‌است. اما میزان اثر آن بر درد به اندازه اثر مرفین نمی‌باشد، در نتیجه نورون‌ها تحت تأثیر لیدوکائین، دچار کاهش نسبی فعالیت شده و نه تنها اثر لیدوکائین و مرفین با هم جمع نشده‌اند بلکه از اثر مرفین به تنهایی نیز کاسته می‌شود که می‌تواند نتیجه اثر لیدوکائین بر فعالیت نورونی (Firing rate) باشد.

مطالعات پیشین نشان داده‌است که تزریق سیستمیک مرفین به علت اینکه تمام گیرنده‌های اپیوئیدی موجود در نواحی تعدیل درد را فعال می‌کند باعث بی‌دردی شدید می‌گردد، به طوری که زمان تأخیر پس‌کشیدن دم به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد [۸،۱۵،۲۷]. این اثر با تجویز سیستمیک نالوکسان به طور کامل از بین رفته

www.SID.ir

Archive of SID

و به حد کنترل می‌رسد [۱۵]. از طرفی گزارشات متعددی وجود دارد که در محرومیت حاد اپیوئیدی (Acute opioid abstinence) پاسخ‌دهی به محرک دردناک حرارتی افزایش و باعث پردردی می‌شود. همچنین نشان داده شده‌است که در طی محرومیت اپیوئیدی ناشی از تزریق سیستمیک نالوکسان، در ناحیه RVM، فعالیت On-cellها به طور چشمگیری افزایش و فعالیت Off-cellها به طور معکوس کاهش می‌یابد [۱،۱۵].

اگر در زمان محرومیت از اپیوئیدها لیدوکائین به داخل RVM تزریق شود، زمان تأخیر در پس‌کشیدن دم افزایش و درد کاهش می‌یابد. چون در این وضعیت On-cellها فعال هستند لذا این کاهش درد به علت غیرفعال شدن On-cellها توسط لیدوکائین می‌باشد. در راستای این مطالعات در تحقیق ما هم وقتی مرفین به طور سیستمیک و لیدوکائین به روش میکروواینجکشن به داخل هستهٔ میخی‌شکل تزریق شد اثر بی‌دردی، به شدت ظاهر و زمان تأخیر در پس‌کشیدن دم در مواردی از نقطه Cut-Off نیز بیشتر شد؛ اما با تزریق نالوکسان وریدی، اثر مرفین سیستمیک کاملاً از بین نرفت و زمان تأخیر در پس‌کشیدن دم بعد از تزریق نالوکسان نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌دار داشت؛ لذا به نظر می‌رسد در هسته میخی‌شکل On-cellها و Off-cellها وجود داشته و با تزریق نالوکسان به علت محرومیت اپیوئیدی، On-cellها فعال شده‌اند ولی لیدوکائین، فعالیت افزایش‌یافتهٔ ناشی از محرومیت اپیوئیدی این سلول‌ها را به وسیله بلوک کردن آنها کاهش داده در نتیجه پردردی ناشی از محرومیت اپیوئیدی کاهش یافته‌است. چون مهار فعالیت On-cellها نسبت به فعال شدن Off-cellها در بی‌دردی اثر کمتری دارد [۱۲،۱۴] لذا پاسخ بی‌دردی ناشی از غیرفعال کردن On-cellها کمتر بوده‌است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان که هزینه این طرح تحقیقاتی را متقبل شده‌است و واحد نگهداری حیوانات مرکز تحقیقات دانشگاه به خاطر همکاری صمیمانه‌شان، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

[1] Bederson, J.B., Fields, H.L. and Barbaro, N.M., Hyperalgesia during naloxone-precipitated withdrawal from morphine is associated with increased on-cell activity in the rostral ventromedial, Somatosens. Mot. Res., 7 (1990) 185-203.

[2] Behbehani, M.M. and Zemlan, F.P., Response of nucleus raphe magnus neurons to electrical stimulation of nucleus cuneiformis: role of acetylcholine, Brain Res., 369 (1986) 110-118.

[3] Bernard, J.F., Peschanski, M. and Besson, J.M., Afferents and efferents of the rat cuneiformis nucleus: an anatomical study with reference to pain transmission, Brain Res., 490 (1989) 181-185.

[4] Cheng, Z.F., Fields, H.L. and Heinricher, M.M., Morphine microinjected into the periaqueductal gray has differential effects on 3 classes of medullary neurons, Brain Res., 375 (1986) 57-65.

[5] Edwards, S.B. and de Olmos, J.S., Autoradiographic studies of the projections of the midbrain reticular formation: ascending projections of nucleus cuneiformis, J. Comp. Neurol., 165 (1976) 417-431.

[6] Fang, F.G., Haws, C.M., Drasner, K.,

www.SID.ir

Archive of SID

Williamson, A. and Fields, H.L., Opioid peptides (DAGO-enkephalin, dynorphin A(1-13), BAM 22P) microinjected into the rat brainstem: Comparison of their antinociceptive effect and their effect on neuronal firing in the rostral ventromedial medulla, Brain Res., 501 (1989) 116-128.

[7] Gioia, M. and Bianchi, R., The cytoarchitecture of the nucleus cuneiformis: A Nissl and Golgi study, J. Anat., 155 (1987) 165-176.

[8] Gioia, M. and Bianchi, R., Ultrastructural study of the nucleus cuneiformis in the cat, J. Hirnforsch., 28 (1987) 375-383.

[9] Hamalainen, M.M. and Pertovaara, A., The rostroventromedial medulla is not involved in alpha 2-adrenoceptor-mediated antinociception in the rat, Neuropharmacology 32 (1993) 1411-1418.

[10] Heinricher, M.M., Cheng, Z.F. and Fields, H.L., Evidence for two classes of nociceptive modulating neurons in the periaqueductal gray, J. Neurosci., 7 (1987) 271-278.

[11] Heinricher, M.M. and Kaplan, H.J., GABA-mediated inhibition in rostral ventromedial medulla: role in nociceptive modulation in the lightly anesthetized rat, Pain 47 (1991) 105-113.

[12] Heinricher, M.M., McGaraughty, S. and Farr, D.A., The role of excitatory amino acid transmission within the rostral ventromedial medulla in the antinociceptive actions of systemically administered morphine, Pain 81 (1999) 57-65.

[13] Heinricher, M.M., Morgan, M.M. and Fields, H.L., Direct and indirect actions of morphine on medullary neurons that modulate nociception, Neuroscience 48 (1992) 533-543.

[14] Heinricher, M.M. and Tortorici, V., Interference with GABA transmission in the rostral ventromedial medulla: disinhibition of off-cells as a central mechanism in nociceptive modulation, Neuroscience 63 (1994) 533-546.

[15] Kaplan, H. and Fields, H.L., Hyperalgesia during acute opioid abstinence: evidence for a nociceptive facilitating function of the rostral ventromedial medulla, J. Neurosci., 11 (1991) 1433-1439.

[16] Mitchell, J.M., Lowe, D. and Fields, H.L., The contribution of the rostral ventromedial medulla to the antinociceptive effects of systemic morphine in restrained and unrestrained rats, Neuroscience 87 (1998) 123-133.

[17] Morgan, M.M., Heinricher, M.M. and Fields, H.L., Circuitry linking opioid-sensitive nociceptive modulatory systems in periaqueductal gray and spinal cord with rostral ventromedial medulla, Neuroscience 47 (1992) 863-871.

[18] Moss, M.S., Glazer, E.J. and Basbaum, A.I., The peptidergic organization of the cat periaqueductal gray. I. The distribution of immunoreactive enkephalin-containing

www.SID.ir

Archive of SID

Evidence for glutamic acid as a possible neurotransmitter between the mesencephalic nucleus cuneiformis and the medullary nucleus raphe magnus in the lightly anesthetized rat, Brain Res., 544 (1991) 279-286.

[25] Siddall, P.J., Polson, J.W. and Dampney, R.A., Descending antinociceptive pathway from the rostral ventrolateral medulla: a correlative anatomical and physiological study, Brain Res., 645 (1994) 61-68.

[26] Spinella, M., Cooper, M.L. and Bodnar, R.J., Excitatory amino acid antagonists in the rostral ventromedial medulla inhibit mesencephalic morphine analgesia in rats, Pain 64 (1996) 545-552.

[27] Urban, M.O. and Smith, D.J., Nuclei within the rostral ventromedial medulla mediating morphine antinociception from the periaqueductal gray, Brain Res., 652 (1994) 9-16.

[28] Zemlan, F.P. and Behbehani, M.M., Afferent projections to the nucleus cuneiformis in the rat, Neurosci. Lett., 52 (1984) 103-109.

[29] Zemlan, F.P. and Behbehani, M.M., Nucleus Cuneiformis and pain modulation: anatomy and behavioral pharmacology, Brain Res., 453 (1988) 89-102.

neurons and terminals, J. Neurosci., 3 (1983) 603-616.

[19] Pan, Z.Z. and Fields, H.L., Endogenous opioid-mediated inhibition of putative pain-modulating neurons in rat rostral ventromedial medulla, Neuroscience 74 (1996) 855-862.

[20] Pan, Z.Z., Williams, J.T. and Osborne, P.B., Opioid actions on single nucleus raphe magnus neurons from rat and guinea-pig in vitro, J. Physiol., 427 (1990) 519-532.

[21] Paxinos, G. and Watson, C., The rat brain in stereotaxic coordinates, 2nd Ed., San Diego, California, Academic Press Inc., 1986.

[22] Pertovaara, A., Wei, H. and Hamalainen, M.M., Lidocaine in the rostroventromedial medulla and the periaqueductal gray attenuates allodynia in neuropathic rats, Neurosci. Lett. 218 (1996) 127-130.

[23] Reichling, D.B. and Basbaum, A.I., Contribution of brainstem GABAergic circuitry to descending antinociceptive controls: II. Electron microscopic immunocytochemical evidence of GABAergic control over the projection from the periaqueductal gray to the nucleus raphe magnus in the rat, J. Comp. Neurol., 302 (1990) 378-393.

[24] Richter, R.C. and Behbehani, M.M.,

www.SID.ir