

اثرات بیهوشی با ایزوفلوران بر روی حافظه

سید علی مرد^۱، یعقوب فریود^۱، سعید خامنه^۲

- ۱- دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، گروه فیزیولوژی
۲- دانشگاه علوم پزشکی تبریز، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

چکیده

حافظه و یادگیری از جمله پیچیده ترین و مهمترین فرآیندهای رفتاری بوده و با توجه به اینکه طیف مصرف داروهای بیهوشی در سطح دنیا در حال گسترش روزافزون است. آگاهی از اثرات این داروها بر فرآیند حافظه و همچنین فراخوانی حافظه از اهمیت خاصی برخوردار است. هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات پیش گرا (anterograde) و پس گرا (retrograde) بیهوشی ایزوفلوران بر فرآیند حافظه می باشد. در این مطالعه موشهای بزرگ آزمایشگاهی نر در یک گروه کنترل و دو گروه تجربی قرار داده شده اند. هر سه گروه به روش single trial passive avoidanee learning آموزش می دیدند و گروه های تجربی b و c بصورت قبل از آموزش و بعد از آموزش بترتیب تحت بیهوشی با ایزوفلوران با حداقل غلظت آلئولی (MAC) ۱/۴٪ به مدت ۶۰ دقیقه قرار می گرفتند و ۲۴ ساعت بعد تست به خاطر آوری بعمل می آمد. نتایج حاصل حاکی از آن است که میانگین تاخیر در زمان ورود (Retention Latency) که در گروه کنترل بصورت توتال در نظر گرفته می شد و ۶۰۰ ثانیه بود. در گروههای تجربی b و c بترتیب به ۱۳۹ و ۱۷۹ ثانیه کاهش یافته بود که این اختلاف بین گروه کنترل و گروه های تجربی کاملاً معنی دار بود ($P < 0.05$). این پژوهش نشان داد که استفاده از ایزوفلوران هم بصورت قبل از آموزش و هم به صورت بعد از آموزش منجر به اختلال در فرآیند فراخوانی حافظه شده و باعث فراموشی پیش گرا و پس گرا در موشهای بزرگ آزمایشگاهی گردید.

واژه های کلیدی: ایزوفلوران، حافظه، یادگیری اجتنابی غیر فعال، فراموشی پیش گرا و پس گرا.

مقدمه

مشخص نگردیده است. و در مورد برخی داروها مطالعات انجام شده جنبه بحث و اختلاف نظر بسیاری دارد، و با توجه به اینکه داروی ایزوفلوران از داروهایی است که امروزه با طیف گسترده در دنیا مورد استفاده قرار می گیرد و در مورد اثرات آن بر روی فرایند حافظه مطالعات بسیار محدود ولی مباحثه انگیزی انجام شده است و از طرفی در کشور ما هنوز

حافظه خارق العاده ترین پدیده در جهان است. شمائی که در حال خواندن این مقاله هستید اطلاعات بسیار زیادی در حافظه بلند مدت یا دائمی تان دارید. با توجه به اهمیت حافظه در برقراری روابط، بقاء، پیشرفت، رقابت، و... . بررسی تاثیر داروهای مختلف بر روند حافظه حائز اهمیت است. تاثیر داروها بیهوشی بر روی حافظه هنوز کاملاً

دستگاه بیهوشی ppv2 که دارای جایگاههای نصب مجزا برای تبخیر کننده های هالوتان (فلوتک) و ایزوفلوران (ایزوتک) می باشد.

دستگاه ایزوتک (تبخیر کننده ایزوفلوران) از کشور آلمان.

اتوآنالیزر جهت اندازه گیری دقیق حداقل غلظت آلئولی (MAC) ایزوفلوران.

دستگاه shuttle-box که دارای دو بخش جعبه و کنترل می باشد. بخش جعبه از دو محفظه تاریک و روشن تشکیل شده که توسط یک درب گیوتینی از یکدیگر جدا می شوند. بخش کنترل جهت ایجاد شوک الکتریکی می باشد.

کار رفتاری :

یادگیری در این تحقیق به صورت یادگیری اجتنابی غیر فعال single trial انجام شد.

به منظور عادت، ده ثانیه بعد از قرار دادن حیوان در قسمت روشن دستگاه درب گیوتینی را بالا کشیده و بالا فاصله بعد از ورود پاهای عقبی حیوان به قسمت تاریک درب را بسته و حیوان را از بخش تاریک برداشته و به قفس بر می گردانیم. اگر زمان ورود حیوان به قسمت تاریک ۱۰۰ ثانیه طول می کشید حیوان حذف می شد.

در مرحله اکتساب، ۳۰ دقیقه بعد از سازش حیوان مجدداً ۱۰ ثانیه در بخش روشن قرار داده می شد. و بعد از باز کردن درب گیوتینی مدت زمانی که طول می کشد تا حیوان با پاهای عقب وارد محفظه تاریک شود ثبت می گردید.

در این لحظه درب گیوتینی را پائین آورده و شوک الکتریکی به میزان ۵۰ میلی آمپر و به مدت ۵ ثانیه به جانور اعمال می شود.

بیهوشی :

حیوانات توسط مخلوطی از گاز ایزوفلوران (۱/۴٪) و

این دارو مورد استعمال وسیع قرار نگرفته است، این پژوهش ممکن است فرصت خوبی را برای درک بهتر اثرات آن بر حافظه مشخص کند.

مواد و روش ها

- حیوانات مورد آزمایش و نحوه نگهداری آنها :

موشهای سفید آزمایشگاهی نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۳۰۰ گرم و سن متوسط ۸-۶ هفته تهیه شدند. موشها به صورت اجتماعی و دسته های ۴ تایی در قفسهای فیبر گلاس مخصوص نگهداری می شدند. دمای اتاق پرورش حیوانات $22 \pm 2C$ و فاصله نوری بصورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی تنظیم شده بود. غذای مصرفی موشها غذای مخصوص بوده و آب آنها از آب لوله کشی شهر تامین می شد.

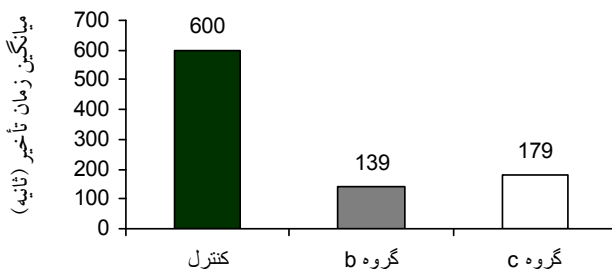
گروه های مورد آزمایش :

تعداد ۳۰ سر موش در ۳ گروه آزمایشگاهی بطور مساوی تقسیم شدند. گروه ها عبارت بودند از : گروه کنترل : که فقط تربیت شده و ۲۴ ساعت بعد تست می شدند. گروه b (ایزوفلوران قبل از آموزش): که بمدت یک ساعت تحت بیهوشی با ایزوفلوران ۱/۴٪ قرار گرفته و سپس تربیت می شدند و ۲۴ ساعت بعد تست می شدند. گروه c (ایزوفلوران بعد از آموزش) که ابتدا آموزش میدیدند و پس از ۵ دقیقه تحت بیهوشی با ایزوفلوران ۱/۴٪ بمدت یک ساعت قرار می گرفتند و ۲۴ ساعت بعد همانند سایر گروه ها تست می شدند.

داروها و دستگاه ها :

در این پژوهش جهت مطالعه اثرات ایزوفلوران بر حافظه از محلول ۱۰۰cc ایزوفلوران ساخت شرکت رودیا، بریستول انگلستان استفاده گردید. دستگاههایی که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند عبارت بودند از :

حافظه صورت گرفت. یافته‌ها در نمودار ۱ نشان داده شده است. میانگین زمان تاخیر در گروه b (ایزوفلوران قبل از آموزش) به ۱۳۹ ثانیه کاهش یافته بود و در گروه c (ایزوفلوران پس از آموزش) به ۱۷۹ ثانیه کاهش یافته بود. مقایسه میانگین زمان تاخیر بین گروه کنترل و گروه‌های تجربی اختلاف کاملاً معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P < 0/05$).



نمودار ۱- مقایسه میانگین زمان تاخیر بین گروه کنترل و دو گروه آزمایشی b و c. گروه‌های تجربی میانگین زمان کمتری نسبت به گروه کنترل داشته که از نظر آماری این اختلاف کاملاً معنی‌دار است.

بحث

نتایج نشان داد که استعمال ایزوفلوران به هر دو صورت post training و pre training منجر به اختلال در فراخوانی حافظه شده و باعث فراموشی پیش‌گرا و پس‌گرا بترتیب در گروه‌های b, c گردید اما مطالعه‌ای هم در سال ۱۹۹۳ توسط کوماتسو و همکارانش [3] بصورت post training جهت بررسی آثار هالوتان، انفلوران و ایزوفلوران در موش‌های سوری نوع ddN انجام شد.

نتایج مطالعه آنها پیشنهاد می‌کند که عوامل فوق باعث تسهیل حافظه می‌شود. حال با مقایسه نتایج کوماتسو و مطالعه حاضر مشاهده می‌شود که نتایج کاملاً با یکدیگر متناقض می‌باشد. سوالی که در اینجا مطرح می‌شود اینست که وجود چه پارامترهای متفاوتی باعث خلق چنین نتایج

اکسیژن توسط ماسک مخصوص بیهوشی که توسط رابطی که از تبخیر کننده مخصوص ایزوفلوران (ایزوتک) به ماسک متصل می‌شود، در معرض بیهوشی قرار می‌گرفتند. روش آزمون:

۲۴ ساعت بعد از آموزش، تست به خاطر آوری (Retention test) انجام می‌گرفت. جهت انجام تست حیوان مجدداً در بخش روشن قرار داده شده و بعد از ۱۰ ثانیه درب گیوتینی را بالا کشیده و مدت زمانی را که حیوان در بخش روشن مانده و سپس وارد بخش تاریک می‌شود را یادداشت کرده که به عنوان زمان تاخیر (Retention Latency) در نظر گرفته می‌شد. زمان توتال در این آزمایش ۶۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد. روشهای تجزیه و تحلیل آماری:

حیوانات را در گروه‌های ۱۰ تایی قراردادده و برای هر گروه اقدامات لازم صورت می‌گرفت. داده‌های خام پس از آزمون عددیایی بودن که نشان دهنده فاصله زمانی باز شدن درب گیوتینی و ورود موش به اتاق تاریک بودند سپس میانگین خطای معیار محاسبه گردید. بررسی آماری و آنالیز داده‌ها به روش Dependent sample test و بدنبال آن Student-t-test انجام می‌شد تفاوت بین میانگین‌ها در سطح $P < 0/05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد نتیجه این بررسی‌ها، اختلافات موجود بین گروه‌های تجربی و شاهد و مشاهدات آماری به صورت نمودار ارائه گردید. خطای معیار (Standard error) در تمامی آزمایشات بصورت خط عمودی (Vertical bar) در همه نمودارها آورده شده است.

نتایج

این پژوهش بمنظور بررسی اثرات پیش‌گرا (Anterograde) و پس‌گرای (Retrograde) ایزوفلوران و

متناقضی شده است. در این دو مطالعه چند پارامتر مختلف وجود دارند که به ترتیب به توضیح آنها می‌پردازیم.

غلظت ایزوفلوران که در آن مطالعه ۱/۱ درصد بود در حالی که در مطالعه حاضر ۱/۴ درصد بود البته این توجیه منطقی به نظر نمی‌رسد زیرا موشهای سوری با وزن ۲۰-۴۰ گرم در صورتی که تحت غلظت ۱/۴ درصد قرار بگیرند، احتمال مرگ در آنها بسیار بالا می‌باشد در حالیکه در موشهای صحرائی مورد مطالعه ما وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم بوده و چنین غلظتی از ایزوفلوران برای شروع بیهوشی و ادامه بیهوشی کاملاً مورد نیاز بود و مادر این مطالعه مشاهده نمودیم که در غلظت‌های کمتر موش‌های صحرائی اصلاً بیهوش نمی‌شدند و اما دومین پارامتر متفاوت مدت زمان بیهوشی بود در مطالعه کوماتسوموشهای سوری به مدت ۲ ساعت تحت بیهوشی قرار می‌گرفتند در حالیکه در مطالعه حاضر موش‌های صحرائی به مدت یک ساعت تحت بیهوشی قرار می‌گرفتند که این مورد نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. و سومین تفاوت در این دو مطالعه مربوط به روش کار می‌باشد که تا اندازه‌ای تفاوت در روش آموزش وجود دارد در مطالعه کوماتسو از روش یادگیری اجتنابی فعال استفاده شده بود در حالی که در این مطالعه از روش یادگیری اجتنابی غیر فعال استفاده شد و این مورد هم می‌تواند دلیلی بر خلق نتایج متناقض در این تحقیق‌ها باشد که البته به نظر می‌رسد این مورد اختلاف اساسی‌ترین علت خلق چنین نتیجه متناقضی شده است زیرا کوماتسو و همکارانش در سال ۱۹۹۸ نیز در مطالعه دیگری در ادامه تحقیق ابتدائی‌شان داشتند و در آن اثر انفلوران بر حافظه فضایی را بررسی کرده و نشان دادند که انفلوران نیز اثرات تسهیلی بر حافظه دارد و چهارمین پارامتر متفاوت در این دو مطالعه حیوان مورد آزمایش می‌باشد، در هر دو مطالعه‌ای که توسط کوماتسو صورت گرفته حیوان مورد آزمایش موش سوری می‌باشد در حالی که در مطالعه حاضر حیوان

مورد آزمایش موشهای صحرائی نژاد ویستار می‌باشد و شاید تفاوت ساختارهای آناتومیک مربوط به تثبیت حافظه در این دو حیوان باعث به وجود آمدن نتایج متناقض شده است، به هر حال علت هر چه باشد نیاز به بررسی‌های بیشتری را می‌طلبد.

یافته‌های دیگری که در پژوهشهای دیگر که با هدف‌های مختلف در مورد اثرات ایزوفلوران صورت گرفته و نتایج مشاهده شده در این پژوهش را تایید می‌کنند عبارتند از:

۱- مطالعه‌ای که توسط بایکلر و همکارانش [۲] جهت بررسی اثرات ایزوفلوران و هیپوتر می بر روی فلاکس (FLUX) کلسیم که توسط رسپتورهای گلوتاماتی NMDA میانجی می‌شود، نشان داده شده که فلاکس کلسیم توسط ایزوفلوران از طریق این رسپتورها تا حدود ۶۰٪ کاهش می‌یابد و همچنین در مطالعات الکتروفیزیولوژیک سلولها در محیط کشت با استفاده از آنالیز patch clamp نشان داده شده است که ایزوفلوران مدت بازماندن کانالهای سدیم را که توسط گیرنده نیکوتینی فعال می‌شوند کم می‌کند [۷].

حال با استناد به مطالعات انجام شده در مورد اثرات ایزوفلوران که باعث کاهش ۶۰ درصدی فلاکس کلسیم از طریق رسپتورهای NMDA و کاهش دادن مدت زمان بازماندن کانالهای سدیم و نتیجه مطالعه حاضر که اثر تخریبی این دارو را بر حافظه نشان می‌دهد و با توجه به اینکه تا حد زیادی ثابت شده است که رسپتورهای NMDA در حافظه و یادگیری دخیل می‌باشد [۸] احتمالاً می‌توان نتیجه گرفت که ایزوفلوران اثر فراموشی دهنده‌اش را که هم به صورت پیش‌گرا و پس‌گرا می‌باشد نه تنها از طریق افزایش دادن الکترون‌گاتیویته داخل سلولی (Vm) (مکانیزم اثر بیهوش کننده‌های استنشاقی تثبیت پتانسیل غشا و الکترون‌گاتیویته می‌باشد) [۷]، بلکه از طریق کاهش دادن فلاکس یونی کلسیم نیز به انجام می‌رساند. رسیدن به چنین

یادگیری مانند Morris water maze نیز انجام شود و اثرات این دارو بررسی شود.
در صورت امکان تاثیر این دارو بر روندهای حافظه بلند مدت و همچنین تاثیر آن بر تقویت طولانی مدت LTP در موشهای صحرایی بررسی می گردد.

تشکر و قدردانی

از مرکز پزشکی امام و خصوصاً از آقای دکتر سهراب نگارگر که با مساعدت بی دریغ شان در تهیه داروی ایزوفلوران و دستگاه ایزوتک و اتوآنالیزما را در انجام این تحقیق یاری فرمودند نهایت تشکر را دارم.

نتیجه ای در مورد چگونگی مکانیزم اثر فراموشی دهنده ایزوفلوران زیاد غیر قابل انتظار نیست زیرا اثر تخریبی اش را بر روند حافظه در هر دو صورت قبل و بعد از آموزش نشان می دهد در حالی که در مطالعات قبلی [۱] و همچنین در مطالعه ای که در آزمایشگاه ما در مورد اثرات هالوتان بر حافظه صورت گرفت مشخص شد هالوتان فقط در مطالعه Pre training باعث تخریب حافظه می گردد در حالی که در مطالعه post training اثری بر حافظه ندارد و در مورد این دارو نمی توان به چنین نتیجه ای رسید [۹].

پیشنهادات

پیشنهاد می شود چنین مطالعه ای در روشهای دیگر

منابع

- [1] Pang, R., Turndrof, H., Quarter, M.D., Pavlovian, F. conditioning in mice anesthetized with halothan, *J. Physiol. Behavior.*, 59 (1996) 873-875.
- [2] Bickler, P.E., Buck, L.T., Hansen, Bm. Effects of isoflurane and hypothermia on glutamate receptor-mediated calcium influx in brain slices., *J Anesthesiology.*, 81(1994)1461-9.
- [3] Komatsu, H., Nogaya, J., Anbuky, D., Yokono, S., Kinishita, H., Shirakawa, y., Ogli, K. Memory faciliation by post training exposure to halothane, enflurane and isoflurane in ddn mice, *J. Anesth-Analg.*, 76 (1993) 609-612.
- [4] Komatsu, H., Nogaya, J., Kutani, N., Veki, M., Yokono, S., Ogli, K. Repetitive post-training exposure to enflurane modifies spatial memory in mice. *Anesthesiology.*, 89 (1998) 1184-90.
- [5] Sonner. J.M., Li, J., Eger, E. Desflurane and none the immobalizer1, 2-dicholorohexaflureylobutane suppress learning by a mechanism independent of unconditioned stimulation. *J. Anesth-Analg.*, 87 (1998) 200-206.
- [6] Munglani, R., Andrade, J., Sapsford, D.J., Baddeley, A., Jones. J.G.A. Measure of conciousand memory during isoflurane admimistration: the coherent frecuncy, *Br. J. Anesth.*, 71 (1993) 633-41.
- [7] Katzung, B.G. *Medical Pharmacology*, Lange, (1995) 189-195.
- [8] Ganong, W.F. *Review of Medical Physiology*, vol..1, Lange, (1999).
- [۹] فربود، ی.، مرد، ع.، ببری، ش.، ابراهیمی، ه.، اثرات هالوتان بر روی حافظه و نقش پیراستام در جلوگیری از اثرات اثرات جانبی آن، خلاصه مقالات پانزدهمین کنگره فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران، شیراز، آبان ماه ۱۳۸۰، ۲۵۵-۱۳۸۰.

