بررسی پاسخهای رفتاری و الکتروفیزیولوژی در مدل درد نوروپاتی SNI در موش صحرایی نر بالغ

دکتر غلامعلی حمیدی[1]- دکتر هما مناهجی[2]- دکتر محمود سلامی زواره[3]

چکیده

زمینه و هدف: آسیب به مسیر سیستم عصبی یکی از مهمترین عوامل ایجادکننده دردهای نوروپاتیک می‌باشد که با عوارض متعددی نظیر افزایش حساسیت به محرکهای دردناک (هایپرآلژزیا) و محرکهای غیر دردناک (آلودینیا) و درد خودبه‌خودی همراه است. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی برخی ویژگیهای رفتاری و الکتروفیزیولوژیکی مدل درد نوروپاتی SNI (Spared Nerve Injury) انجام شد.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد Sprague Dawley در محدوده وزنی ۲۳۰ تا ۲۸۰ گرم استفاده شد. حیوانات بر اساس وزن بدن با استفاده از پنتوباربیتال سدیم با دوز ۵۰mg/kg به صورت تزریق درون صفاقی بیهوش شدند؛ سپس عمل جراحی به روش SNI بر روی آنها انجام شد. پاسخ رفتاری حیوانات به وسیله آزمونهای آلودینیای حرارتی و مکانیکی و هایپرآلژزیای حرارتی و مکانیکی طی روزهای صفر، ۲۱،۱۴،۷،۳ و ۲۸ پس از جراحی مورد ارزیابی قرار گرفت؛ پاسخهای الکتروفیزیولوژیکی از عصب سیاتیک، دو هفته بعد از عمل جراحی ثبت شد؛ بدین ترتیب که تحریک به بخش پروگزیمال محل اکسوتومی شده و شاخه سورال اعمال گردید و ثبت در محل پروگزیمال گرفته شد. داده‌ها با استفاده ازآزمونهای آماری ANOVA، Tukey و Kruskal-Walis در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: پاسخهای رفتاری حیوانات گروه آزمون (SNI) در مقابل گروه شاهد نسبت به تحریکات مکانیکی و حرارتی غیردردناک و آسیب‌رسان افزایش معنی‌داری نشان داد (P< ۰/۰۱ تا P<۰/۰۵) که به ترتیب نشان‌دهنده آلودینیا و هایپرآلژزیا می‌باشد. در بررسیهای الکتروفیزیولوژیکی، سرعت هدایت عصب به طور معنی‌داری در گروه آزمون در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۵). دامنه به طور مختصر کاهش یافت ولی زمان صعودی پتانسیل عمل مرکب در گروه آزمون شبیه گروه شاهد بود.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه، حیوانات در مدل SNI حساسیت شدیدی نسبت به محرکهای حرارتی و مکانیکی غیردردناک و محرکهای دردناک نشان دادند. ثبتهای الکتروفیزیولوژیکی از عصب نیزحاکی از آسیب دیدگی عصب و پیدایش ضایعه تحت تأثیر این مدل می‌باشد که در نتیجه آن سرعت هدایت عصب کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: درد نوروپاتی؛ آلودینیا؛ هایپرآلژزیا؛ پاسخهای الکتروفیزیولوژی؛ مدل SNI

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند (دوره ۱۴؛ شماره ۲؛ تابستان سال ۱۳۸۶)

دریافت: ۱۳۸۵/۸/۱۳ اصلاح نهایی: ۱۳۸۵/۱۲/۵ پذیرش: ۱۳۸۵/۱۲/۱۵

[1] نویسنده مسؤول؛ استادیار گروه آموزشی فیزیولوژی- فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان
آدرس: کاشان- دانشگاه علوم پزشکی کاشان- دانشکده پزشکی- گروه فیزیولوژی- فارماکولوژی
تلفن: ۵۵۵۶۸۷۸- ۰۳۶۱ نمابر: ۵۵۵۲۹۹۹-۰۳۶۱ پست الکترونیکی: hamiidi@yahoo.com
[2] استادیار گروه آموزشی فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب
[3] دانشیار گروه آموزشی فیزیولوژی- فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

مقدمه

درد نوروپاتیک به دنبال آسیب‌رسیدن به سیستم عصبی ایجاد می‌شود؛ درد ایجادشده به دلیل آسیب‌دیدن اعصاب محیطی شایعتر است (۱). آسیب عصب محیطی، تغییرات مولکولی و الکتروفیزیولوژیکی را در بخش پروگزیمال آکسون‌ها و نیز شاخ خلفی نخاع ایجاد می‌نماید و آزادسازی بیش از حدّ گلوتامات در شاخ خلفی نخاع، نقش مهمّی در بروز درد حادّ و مزمن و پدیده‌های آلودینیا و هایپرآلژزیا دارد (۲،۳). در این نوع آسیبها فیبرهای حسّی و حرکتی و همچنین میدان دریافتی فیبرها دچار اختلال می‌شوند که از مهمترین علائم آن افزایش حسّ درد است (۱).

یکی از جدیدترین روشهای ایجاد درد نوروپاتی، مدل SNI* می‌باشد که توسط Decosterd و Woolf در سال ۲۰۰۰ ارائه شد. از پیامدهای این مدل درد، افزایش شدید پاسخ نسبت به محرکهای مکانیکی و حرارتی غیر دردناک می‌باشد (۴). به عقیده Decosterd و همکاران، آلودینیای مکانیکی حاصل از مدل SNI ناشی از افزایش حساسیت فیبرهای آوران آسیب‌ندیده می‌باشد (۵). بر اساس سایر تحقیقات انجام شده، در مدل SNI علاوه بر وجود دو پدیده آلودینیای مکانیکی و حرارتی، هایپرآلژزیای مکانیکی نیز وجود دارد (۵)؛ همچنین پس از آسیب‌دیدن عصب محیطی، پدیده آلودینیای مکانیکی خیلی سریعتر از هایپرآلژزیای حرارتی حاصل می‌شود؛ بنابراین به نظر می‌رسد این دو، علل زمینه‌ای متفاوتی داشته باشند (۴). Mosconi و Kruyer، کاهش چشمگیری در فیبرهای میلین‌دار قطور نسبت به فیبرهای بدون میلین را در روز هفتم تا چهاردهم پس از ضایعه گزارش کردند و عامل بروز هایپر آلژزیا را کاهش فیبرهای میلین‌دار ذکر نمودند (۶). فرایندهای متعددی در بروز دردهای نوروپاتیک دخالت دارند؛ از جمله ترشح بیش از حدّ اسیدهای آمینه تحریکی نظیر گلوتامات و آسپارتات از پایانه آوران اولیه و فعال‌شدن گیرنده‌های NMDA و Non-NMDA که در انتقال پیام آورانهای درد در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک، نقش اصلی را ایفا می‌کنند (۷،۲)؛ همچنین به جوانه زدن فیبرهای اعصاب جانبی، تغییر در تحریک‌پذیری آکسون‌های آسیب دیده و تخلیه‌های نا به جا می‌توان اشاره نمود (۹،۸).

برخی از محققان، فرایندهای درگیر در تولید و تداوم درد نوروپاتیک را نتیجهٔ کاهش فعالیت اینترنورون‌های مهاری در شاخ خلفی نخاع، به همراه افزایش رهایش نوروترانسمیترهای تحریکی مانند گلوتامات و رسپتورهای آن می‌دانند (۱،۱۰). در خصوص مدل SNI بررسی و مطالعات چندانی در زمینه الکتروفیزیولوژی صورت نگرفته است؛ بنا بر مطالب پیش گفت، در این مدل (SNI) در موش صحرایی نر بالغ که علائم درد ایجادشده طی آن با علائم ایجادشده درد نوروپاتی محیطی تا حدود زیادی با انسان مطابقت دارد، ارزیابی رفتاری و الکتروفیزیولوژیکی انجام شد.

روش تحقیق

این مطاالعه به روش تجربی و بر روی موش‌های صحرایی نر از نژاد Sprague Dawley (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) در محدوده وزنی ۲۳۰ تا ۲۸۰ گرم انجام شد. آب و غذا به صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار گرفت؛ از نمونه ها در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۲۲±۲°C نگهداری شد.

قبل از انجام آزمایش، حیوانات به صورت تصادفی به گروههای شش تا هشت تایی تقسیم شدند (۴).

در گروه آزمون (SNI)، پس از بیهوش نمودن حیوان، عصب سیاتیک پای چپ، طبق مدل SNI تحت عمل جراحی قرار گرفت. در گروه شاهد پوست و عضله در ناحیه بالای ران برش داده شد و پس از نمایان شدن عصب سیاتیک، بدون دستکاری عصب، پوست و عضله با نخ ۴/۰ سیلک بخیه زده شد. جهت ایجاد مدل SNI روی عصب سیاتیک، ابتدا حیوان بیهوش شد؛ پس از اطمینان از بیهوشی کامل، موهای ناحیه ران حیوان در روی پای چپ تمیز می‌گردید؛ سپس با

* Spared Nerve Injury (SNI)

اسکالپل، شکافی به طول چند سانتیمتر روی پوست و عضله ایجاد گردید و بر اساس مدل ارائه شده توسط Decosterd و Woolf در سال ۲۰۰۰، در ناحیه سه شاخه شدن عصب با استفاده از نخ بخیه ۴/۰ سیلک، دو شاخه (Tibia, Common Proneal) از سه شاخه عصب گره محکم زده شد؛ سپس حدود ۲ میلیمتر بعد از گره به طرف دیستال، دو شاخه عصب قطع شد و فقط شاخه سورال باقی ماند؛ سپس عضله و پوست به طور مجزا بخیه زده شد (۴).

در گروه شاهد، پس از بیهوش نمودن حیوان، موهای بالا و پشت ران کاملاً تراشیده و با استفاده از تیغ بیستوری، شکافی به طول چند سانتیمتر روی قسمت خارج ران پای چپ، در محل عصب سیاتیک ایجاد شد؛ پس از رویت عصب، بدون هیچ گونه دستکاری، عضله و پوست دوخته شد. پس از عمل جراحی، حیوان به قفس منتقل شد و پس از به هوش آمدن، به اتاق مخصوص نگهداری حیوانات، منتقل گردید؛ سپس طبق برنامه اعمال رفتاری، ارزیابی شد.

آزمونهای رفتاری زیر برای بررسی رفتار حسی حیوانات قبل از جراحی (روز صفر) و ۳، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز بعد از جراحی مورد استفاده قرار گرفت.

۱- آلودینیای حرارتی: جهت مشخص کردن حساسیت حیوان نسبت به آلودینیای حرارتی، از این آزمون استفاده شد. در این روش حیوان بر روی یک شبکه سیمی قرار داده شد و به وسیله یک سرنگ انسولین که به جای سوزن آن یک لوله باریک پلی‌پروپیلن قرار داشت، یک قطره استن به کف پای چپ حیوان پاشیده شد. این آزمایش پنج بار و هر بار به فاصله ۳ دقیقه انجام گرفت. چنانچه با پاشیده شدن استن، حیوان پای خود را بلند می‌کرد، پاسخ، مثبت و در غیر این صورت، پاسخ منفی در نظر گرفته می‌شد. درصد پاسخ از طریق تعداد پاسخ مثبت حیوان نسبت به کل تعداد تحریک محاسبه گردید.

۲- آلودینیای مکانیکی: در این آزمون، حیوان بر روی یک شبکه سیمی و در داخل یک محفظه پلکسی گلاس به ابعاد ۲۰×۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتیمتر قرار گرفت. پس از عادت‌کردن حیوان به محیط جدید، جهت سنجش آلودینیای مکانیکی، از تارهای مختلف Von Frey در محدوده ۲ تا ۶۰ (۶۰-۲۶-۱۵-۸-۶-۴-۲) گرم ساخت شرکت Stolting Inc استفاده شد. هر آزمایش با تار دارای کمترین وزن شروع شد و در صورت عدم ایجاد پاسخ، به ترتیب از تارهای با وزن بالاتر استفاده گردید. برای ایجاد تحریک هر تار، سه بار متوالی به فاصله پنج ثانیه و هر بار به مدت یک ثانیه به کف پای چپ حیوان فشار وارد شد. چنانچه دو بار متوالی پاسخ (بلندکردن همان پا به وسیله حیوان) مشاهده گردید، همان وزن، به عنوان آستانه پاسخ محسوب می‌شد و دیگر آزمایش ادامه پیدا نمی‌کرد؛ چنانچه حیوان به هیچ‌یک از تارها از جمله تار شماره ۶۰ نیز پاسخ نمی‌داد، عدد ۶۰ به عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته می‌شد (۱۱).

۳- هایپر آلژزیای حرارتی: با استفاده از دستگاه Radiant Heat بخش میانی کف پای سالم و آسیب‌دیده حیوان در مدل CCI* از میان سطح پلکسی‌گلاس در معرض تشعشع ثابت حرارتی قرار می‌گرفت و زمان پس‌کشیدن پا (Latency) ثبت می‌گردید. تحریکات گرمایی سه مرتبه و با فواصل ۵ تا ۱۰ دقیقه تکرار می‌شد. روش محاسبه پاسخ به صورت زیر بود (۱۲):

میانگین تأخیر پاسخ در پای راست- میانگین تأخیر پاسخ در پای چپ =تفاوت زمانی پاسخ بین دو پا

۴- هایپرآلژزیای مکانیکی: جهت سنجش هایپرآلژزیای مکانیکی، حیوان، همانند آزمون آلودینیای مکانیکی بر روی یک شبکه سیمی قرار داده شد و پنج بار متوالی به فاصله پانزده ثانیه و به مدت یک ثانیه، کف پای چپ حیوان با وارد نمودن نیرو توسط Pin Prick تحریک گردید؛ چنانچه حیوان پای خود را بلند می‌کرد، به عنوان پاسخ مثبت و در غیر این صورت به عنوان پاسخ منفی در نظر گرفته می‌شد؛ درصد پاسخ از طریق تعداد پاسخ مثبت حیوان نسبت به کل تعداد

* Constriction Chronic Injury (CCI)

تحریک محاسبه گردید.

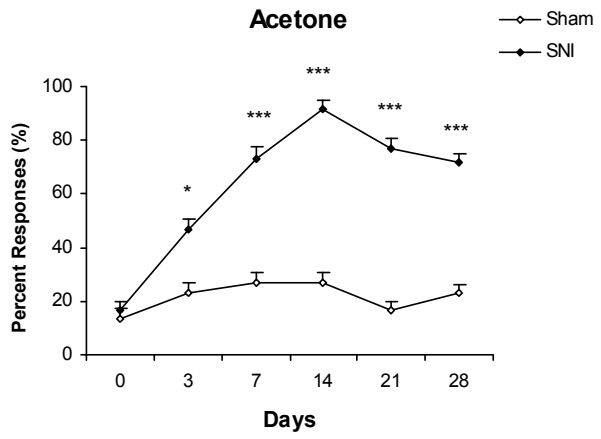
۵- بررسی خصوصیات الکتروفیزیولوژیک عصب سیاتیک: به منظور ثبت پتانسیل‌های عمل مرکب (CAP)* از عصب سیاتیک با استفاده از بساط الکتروفیزیولوژی، دو هفته بعد از عمل جراحی، پس از بیهوشی کامل حیوان، موهای ناحیه ران در روی پای چپ و پشت تراشیده شد و با اسکالپل یک شکاف نسبتاً طولانی از ناحیه کمر تا ناحیه ران روی پوست حیوان داده شد که پس از شکافتن و باز نمودن آن عصب سیاتیک آشکار گردید؛ سپس با استفاده از میله‌های شیشه‌ای نازک، با دقت پوششهای اطراف عصب در مناطق مورد نیاز جهت تحریک و ثبت تمیز شد. میکروالکترودهای تحریکی از جنس نقره که از یک طرف به دستگاه ایزواستیمولاتور متصل بود، با بخش دیستال عصب سیاتیک حیوان تماس داده شد و از طرف دیگر بخش پروگزیمال عصب سیاتیک در تماس با میکروالکترودهای ثبات از جنس نقره که با کلرور نقره پوشش داده شده بود، با فاصله زمانی بسیار کوتاهی پاسخ توسط میکروالکترودهای ثبات دریافت و پس از تقویت توسط آمپلی‌فایر به دستگاه Data Acquisition منتقل گردید و در نهایت خروجی این دستگاه که یک مبدل آنالوگ به دیجیتال (A/D) بود، به صورت دیجیتال درآمد و وارد رایانه گردید تا در فرصت دیگری مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد.

جهت تجزیه و تحلیل دادها، از نرم‌افزار Statistical (5.5) و آزمون ANOVA Repeated Measures به منظور مقایسه نتایج حاصل از آزمونهای رفتاری استفاده گردید. برای تحلیل نتایج الکتروفیزیولوژی نیز از آزمون ANOVA یک‌طرفه استفاده شد؛ همچنین از آنالیز Post Hoc از نوع آزمون Tukey جهت تعیین سطح تفاوت معنی‌داری بین گروهها استفاده شد. در آزمون هایپرآلژزیای حرارتی† از آزمون غیر پارامتری Kruskal-Walis استفاده گردید. سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در مدل درد نوروپاتی SNI پاسخ حیوانات به تحریکات حرارتی و مکانیکی غیردردناک (که به ترتیب توسط استن و تارهای Von Frey اعمال می‌شد) و نیز پاسخ حیوانات نسبت به تحریکات حرارتی و مکانیکی دردناک (که توسط Radiant Heat و سوزن کند Pin Prick اعمال می‌شد)، بررسی گردید.

آلودینیای حرارتی (آزمون استن): اختلاف معنی‌داری بین دو گروه آزمون و شاهد نسبت به پاشیدن استن به کف پای حیوان در روزهای۳ (P<۰/۰۵)، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ (P<۰/۰۰۱) بعد از عمل وجود داشت (نمودار ۱).



نمودار ۱- مقایسه دو گروه آزمون و شاهد نسبت به تحریک ناشی از پاشیدن استن (آلودینیای حرارتی) * (P<۰/۰۵)، * (P<۰/۰۰۱)**

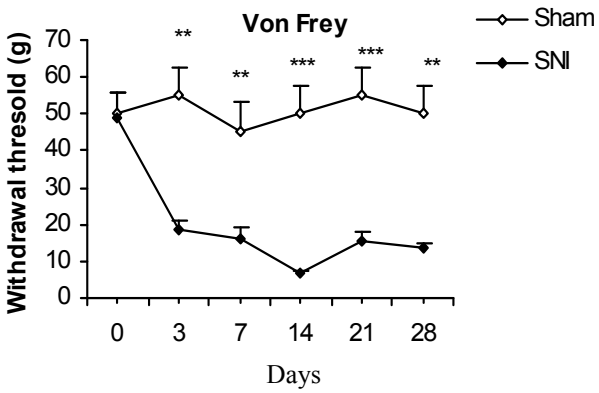
آلودینیای مکانیکی (آزمون Von Frey): حساسیت حیوانات پس از عمل جراحی، نسبت به تحریک مکانیکی غیردردناک که توسط تارهای نازک Von Frey اعمال شد، افزایش یافت؛ بدین ترتیب که پاسخ به تحریک مکانیکی گروه آزمون در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری را در روزهای ۳ و ۷ (P<۰/۰۱)، ۱۴، ۲۱ (P<۰/۰۰۱) و ۲۸ (P<۰/۰۱) بعد از عمل نشان داد (نمودار ۲).

هایپرآلژزیای حرارتی (آزمون Radiant Heat): تحریکات دردناک ناشی از تابش حرارتی که توسط دستگاه Plantar Test (Radiant Heat) اعمال می‌شد، موجب

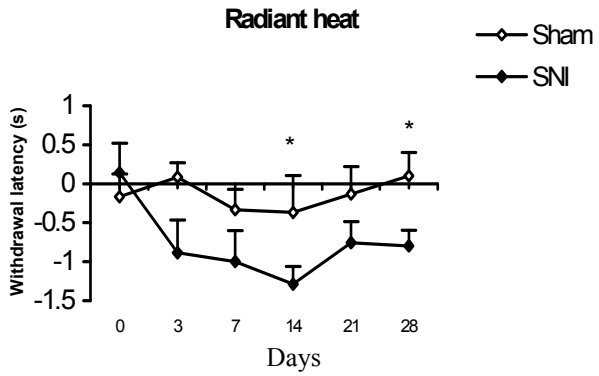
* Compound Action Potential (CAP)
† Radiant Heat

گردید تا حیوانات ضمن عقب‌کشیدن پا، رفتار تهاجمی نظیر تکان دادن و لیسیدن پای تحریک شده را نیز از خود نشان دهند. نتایج حاصل از تحریکات حرارتی دردناک در گروه آزمون نسبت به گروه شاهد در طی روزهای ۱۴ و ۲۸ اختلاف معنی‌داری را در افزایش رفتار درد نشان داد (P<۰/۰۵) (نمودار ۳).

هایپرآلژزیای مکانیکی (آزمون Pin–Prick): درصد پاسخ به تحریک دردناک با Pin Prick در گروه آزمون افزایش یافت ولی در گروه شاهد تغییر نکرد. پاسخ به تحریک دردناک مکانیکی گروه آزمون نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را طی روزهای ۳ (P<۰/۰۵)، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ (P<۰/۰۰۱) بعد از عمل جراحی نشان داد (نمودار ۴).

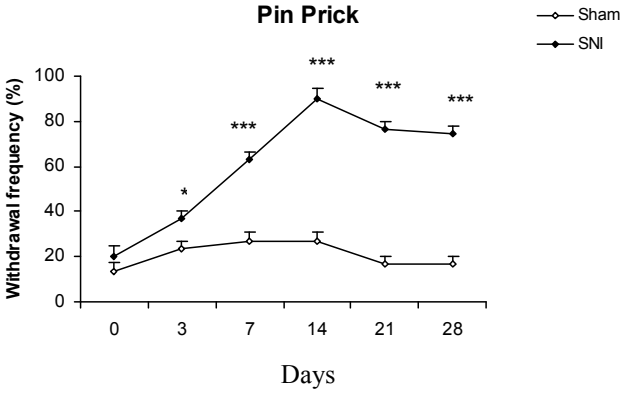


نمودار ۲- مقایسه دو گروه آزمون و شاهد نسبت به تحریک ناشی از تماس Von Frey (آلودینیای مکانیکی)؛ ** P<۰/۰۱، *** P<۰/۰۰۱



نمودار ۳- مقایسه دو گروه آزمون و شاهد نسبت به تحریک ناشی از اشعه مادون قرمز (هایپرآلژزیای حرارتی)؛ *(P<۰/۰۵)

ثبت از عصب سیاتیک در مدل SNI : کاهش در سرعت هدایت پتانسیل عمل مرکب در گروه شاهد نسبت به گروه SS (تحریک به عصب سورال) (P<۰/۰۵) و گروه SP (تحریک به بخش پروگزیمال) (P<۰/۰۱) وجود داشت و بین گروه SP و SS اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. آنالیز دامنه و زمان مرحله صعودی پتانسیل عمل مرکب در مدل SNI، نشان داد که بین گروههای آزمایش اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.



نمودار ٤- مقایسه دو گروه آزمون و شاهد نسبت به تحریک ناشی از Pin Prick (هایپرآلژزیای مکانیکی)؛ *(P<۰/۰۵)، *(P<۰/۰۰۱)**

بحث

در این تحقیق، در مدل درد نوروپاتیک SNI پاسخ به محرکهای حرارتی (سرما)، مکانیکی غیر دردناک (پدیده آلودینیا)، محرک حرارتی (گرما) و مکانیکی دردناک (پدیده هایپرآلژزیا) افزایش نشان داد؛ همچنین در این مدل، پدیده‌های آلودینیا و هایپرآلژزیا سه روز پس از عمل جراحی، بروز نمود و در روز چهاردهم بعد از عمل جراحی به اوج خود رسید و پس از آن بتدریج کاهش یافت. در مطالعه Kim و همکاران، از روز دوم بعد از ایجاد یک ضایعه فشاری مزمن به عصب سیاتیک در مدل CCI آلودینیای مکانیکی بروز نمود و بتدریج در هفته دوم هایپرآلژزیای مکانیکی و حرارتی نیز مشاهده شد که در اواخر هفته دوم این پدیده‌ها به اوج خود رسید و تا حدود دو ماه ادامه پیدا کرد (۱۳)؛ در حالی که پدیده

آلودینیای حرارتی کمی با تأخیر ایجاد شد و نسبت به پدیده آلودینیای مکانیکی از سرعت و شدت کمتری برخوردار بود؛ همچنین نتایج این پژوهش حاکی از این است که حیوانات در مدل SNI نسبت به تحریکات دردناک ناشی از اشعه مولد حرارت که به صورت یک نقطه به کف پا تابیده می‌شد و محدوده معین، دقیق و کوچکی از کف پا در معرض حرارت قرار می‌گرفت، واکنش نشان دادند. حیوانات گروه SNI در مقایسه با گروه شاهد در طی روز چهاردهم آزمایش که مصادف با اوج درد بود، حساسیت افزایش یافته‌ای را نشان دادند که حاکی از بروز پدیده هایپرآلژزیای حرارتی در حیوانات در مدل‌های فوق می‌باشد. برخی مطالعات یکی از دلایل مهم بروز هایپرآلژزیای حرارتی را کاهش فیبرهای قطور میلینه می‌دانند و معتقدند ارتباط مستقیمی بین هایپرآلژزیای حرارتی و میزان آسیب به فیبرهای قطور میلینه وجود دارد (۱۵،۱۴).

حساسیت نسبت به حرارت شدید (هایپرآلژزیای حرارتی) با تأخیر و در زمان اوج درد بروز نمود که این نتایج تا حدود زیادی مطابق یافته‌های مطالعات مشابه می‌باشد (۴)؛ بنابراین تجویز نوروتوکسین در حیوانات نوروپاتیک سبب حذف هایپرآلژزیای حرارتی می‌شود ولی آلودینیای مکانیکی باقی می‌ماند؛ این امر نشانگر علل زمینه‌ای متفاوت در ایجاد پدیده‌های فوق می‌باشد (۱۲). مطالعه Doubell و همکاران نشان داد که به دنبال آسیب عصب سیاتیک، تعدادی از فیبرهای Aβ میلین‌دار عصب سافنوس جوانه زده و به ناحیه‌ای از لامینای II نخاع که محل مخصوص فیبرهای عصبی C و Aδ است، می‌روند؛ این جوانه‌ها با جسم سلولی نورون‌هایی که مخصوص ارتباط با فیبرهای C و Aδ می‌باشد، سیناپس می‌دهند (۱۶)؛ این امر می‌تواند افزایش حساسیت و یا آلودینیا را در زمان آسیب توجیه نماید. توانایی جوانه‌زدن فقط مخصوص فیبرهای آسیب‌دیده نیست؛ یافته‌های مطالعات اخیر نشان داده است که ایجاد جوانه‌های عصبی از اعصاب سالم نیز امکان‌پذیر است (۱۷). در مورد فرایند ایجاد حس‌های غیر طبیعی، Handwerker و Kobal، معتقدند که عامل ایجاد آلودینیا در آسیب اعصاب محیطی، فیبرهای Aβ می‌باشد؛ زیرا بلاک این فیبرها، آلودینیای ایجاد شده را از بین می‌برد (۱۸). Mosconi و Kruyer کاهش چشمگیری در فیبرهای میلین‌دار قطور نسبت به فیبرهای بدون میلین‌دار را در روز هفتم تا چهاردهم پس از ضایعه گزارش کرد و عامل بروز هایپر آلژزیا را کاهش فیبرهای میلین‌دار ذکر نمودند (۱۹)؛ با توجه به یافته‌های مطالعات مورد اشاره، می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که تغییرات ایجادشده در شاخ خلفی نخاع، پایه بروز هایپرآلژزیا و آلودینیا و دردهای راجعه و دردهای خودبه‌خودی و از پیامدهای درد نوروپاتی SNI می‌باشد.

طبق مطالعات انجام‌شده، در مدل CCI، عصب سافنوس با جوانه‌زدن، موجب بهبودی و تغییرات حسی می‌گردد و در مدل SNI نیز عصب سورال ضمن جوانه‌زدن، سبب کاهش آستانه درد و انتقال ایمپالس‌ها می‌گردد (۲۰،۴). مطالعه دیگری نشان داد که تغییرات ناشی از آسیب در انشعابات آوران اولیه که به سمت شاخ خلفی نخاع می‌روند، می‌تواند یکی از دلایل دردهای طولانی‌مدت در بیماری نوروپاتی باشد (۲۱).

برخی ویژگیهای پتانسیل عمل مرکب نظیر سرعت هدایت، دامنه و زمان صعودی پتانسیل عمل مرکب در عصب سیاتیک، ابزار استاندارد و مناسبی برای ارزیابی عوارض عصب محیطی و بررسی عملکرد عصب سیاتیک محسوب می‌شوند. جهت تأیید پاسخهای رفتاری ناشی از ضایعه ایجادشده روی عصب، بررسیهای الکتروفیزیولوژیکی با ثبت پتانسیل عمل مرکب بخش پروگزویمال به محل فشردگی و اکسوتومی در مدل SNI انجام شد. بررسیهای الکتروفیزیولوژی در تحقیق حاضر نشان داد که آسیب عصب سیاتیک منجر به کاهش سرعت هدایت و اندازه دامنه پتانسیل عمل مرکب در مدل درد نوروپاتی SNI می‌شود ولی مدت زمان مرحله صعود پتانسیل عمل مرکب در مدل فوق تغییری نیافت. مطالعات و بررسیهای میکروسکوپی سایر محققان بر روی عصب

سیاتیک آسیب‌دیده نشان می‌دهد که آسیب به بخش پروگزویمال، تغییرات پاتولوژیکی قابل توجهی ندارد؛ ولی در بخش دیستال به محل فشردگی در مدل CCI دژنره شدن اکسون‌های میلینه به وفور وجود دارد (۲۳،۲۲،۱۵)؛ بنابراین عقیده بر این است که کاهش سرعت هدایت پتانسیل عمل مرکب می‌تواند به علت کاهش فیبرهای قطور میلینه و آسیب آنها باشد. از این مطالب می‌توان چنین نتیجه گرفت که کاهش سرعت هدایت پتانسیل‌های عمل مرکب ثبت شده از بخش دیستال به محل فشردگی عصب سیاتیک می‌تواند ناشی از تغییرات ساختمانی فیبرهای میلینه و تغییر قطر و تعداد آنها باشد. از طرفی با توجه به کاهش تعداد فیبرهای ناقل سیگنال پس از آسیب عصبی (۲۴) دامنه پتانسیل عمل مرکب پاسخهای ثبت شده در این آزمایشات نیز کوتاه شده که این موارد می‌تواند آزردگی عصب را نشان دهد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد که در مدل SNI، حیوانات پاسخ رفتاری شدیدی در مقابل محرکهای غیردردناک (پدیده آلودینیا) و محرکهای دردناک (پدیده هایپرآلژزیا) از خود بروز می‌دهند که نشان‌دهنده بروز درد می‌باشد. حداکثر پاسخ به محرکهای فوق، ۱۴ روز پس از عمل جراحی بود؛ ولی میزان پاسخ از هفته سوم شروع به کاهش نمود و تا آخرین روز آزمایش (۲۸ روز) ادامه داشت. ثبتهای الکتروفیزیولوژی از عصب سیاتیک نیز حاکی از آسیب‌دیدگی عصب و پیدایش ضایعه تحت تأثیر این مدل بود که در نتیجه آن سرعت هدایت عصب کاهش یافت؛ ولی دامنه پتانسیل عمل مرکب و زمان صعودی پتانسیل عمل مرکب تغییر قابل توجهی پیدا نکرد.

تقدیر و تشکر

این طرح با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان و مرکز علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد؛ بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی اعلام می‌گردد.

منابع:

1- Wall PD, Melzack R. Textbook of pain. 4th ed. USA: Churchill Livingstone; 1999.

2- Lee YW, Park KA, Lee WT. Effects of MK-801 and morphine on spinal CFOS expression during the development of neuropathic pain. Yonsei Med J. 2002; 43: 370-76.

3- Munglani R, Hunt SP. Molecular biology of pain. Br J Anesthesia. 1995; 75: 186-92.

4- Decosterd I, Woolf CJ. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. Pain. 2000; 87: 149-58.

5- Decosterd I, Allchorne A, Woolf JC. Differential analgesic sensitivity of two distinct neuropathic pain models. Anesth Analg. 2004; 99: 457-63.

6- Mosconi T, Kruyer L. Fixed-diameter polyethylene cuffs applied to the rat sciatic nerve induce a painful neuropathy: ultrastructural morphometric analysis of axonal alterations. Pain. 1998; 60: 37-57.

7- Mayer DJ, Mao J, Holt J, Price DD. Cellular mechanisms of neuropathic pain, morphine tolerance, and their intractions. Proc Natl Acad Sci USA. 1999; 96: 7731-36.

8- Nakamura S, Myers RR. Myelinated afferents sprout into lamina II of L3-5 dorsal horn following chronic constriction nerve injury in rats. Brain Res. 1999; 13; 285-90.

9- Woolf CJ, Shortland P, Coggeshall RE. Peripheral nerve injury triggers central sprouting of myelinated afferents. Nature. 1992; 355: 75-78.

10- Moore KA, Kohno T. Partial peripheral nerve injury promotes a selective loss of GABAergic inhibition in the superficial dorsal horn of spinal cord. J Neuroscience. 2002; 22: 6724-6731.

11- Kingery WS, Guo TZ, Davies MF, Limbird L, Maze M. The alpha (2A) adrenoceptor and the sympathetic postganglionic neuron contribute to the development of neuropathic heat hyperalgesia in mice. Pain. 2000; 85: 345-58.

12- Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. Pain. 1988; 33; 87-107.

13- Kim KJ, Yoon YW, Chung JM. Comparison of three rodent neuropathic pain models. Exp Brain Res. 1997; 113: 200-206.

14- Tal M, Bennett GJ. Extra-territorial pain in rat with a peripheral mononeuropathy: mechano-hyperalgesia and mechano- allodynia in the territory of an uninjured nerve. Pain. 1994; 57: 375-82.

15- Basbaum A, Gautron M, Jazat F, Mayes M. The spectrum of fiber loss in a model of neuropathic pain in the rat: an electron microscopic study. Pain. 1991; 47: 359-67.

16- Doubell TP, Mannon RJ, Woolf CJ. Intact sciatic myelinated primary afferent terminals collaterally sprout in the adult rat dorsal horn following section of a neighboring peripheral nerve. L Comp Neural. 1997; 380: 95-104.

17- Ro LS, Jacobs JM. The role of the saphenous nerve in experimental sciatic nerve mononeuropathy produced by loose ligatures: a behavioral study. Pain. 1993; 52: 359-69.

18- Handwerker HO, Kobal G. Psychophysiology of experimentally induced pain. Physiol Rev. 1993; 73: 639- 71.

19- Mosconi T, Kruyer L. Fixed-diameter polyethylene cuffs applied to the rat sciatic nerve induce a painful neuropathy: ultrastructural morphometric analysis of axonal alterations. Pain. 1998; 60: 37-57.

20- Ramer MS, Bisby MA. Adrenergic innervation of rat sensory ganglia following proximal or distal painful sciatic neuropathy: distinct mechanisms revealed by anti-NGF treatment. J Neurosci. 1999; 11: 837-46.

21- Millan MJ, The induction of pain: An integrative review. Pain. 1999; 57: 61-64.

22- Carlton SM, Dougherty PM, Pover CM, Coggeshall RE. Neuroma formation and numbers of axons in a rat model of experimental peripheral neuropathy, Neurosci Lett. 1991; 131: 88-92.

23- Nuytten D, Kupers R, Lammens M, Dom R, Van HJ, Gybels J. Further evidence for myelinated as well as unmyelinated fiber damage in a rat model of neuropathic pain. Exp Brain Res. 1992; 91: 73-78.

24- Daemen MA, Kurvers HA, Kitslaar PE, Slaaf DW, Neurogenic inflammation in an animal model of neuropathic pain. Neurologic Res. 1998; 20: 41-45.

Title: Behavioural and electrophyasiological responses in neuropathic pain model of spared nerve injury in the male adult rats

Authors: GA. Hamidi[1], H. Manaheji[2], M. Salami Zevareh[3]

Abstract

Background and Aim: Damage to neural pathways is one of the most significant factors of neuropathic pains, which is characterized by spontaneous burning pain accompanied by allodynia and hyperalgesia. The present study was carried out to explore behavioral and electrophysiological characteristics of neuropathic pain model of Spared Nerve Injury (SNI).

Materials and Methods: In this experimental study, male Sprague-Dawley rats (wt: 230-280 Gms.) were used. Anesthesia was initially induced with sodium pentobarbital (ip) at a dose of 50 mg/kg. Then, SNI surgery operation was performed on them. The animals were tested for their behavioral responses shown as heat and mechano-allodynia; and heat and mechano-hyperalgesia prior to the surgery ("0" day), and on the 3rd, 7th, 14th, 21st and 28th day post- operation. Electrophysiological responses by the sciatic nerve were recorded two weeks after the operation. Stimulation of the sural nerve branch and proximal area of auxotomized nerve were recorded proximally. Repeated ANOVA and one-way ANOVA statistical softwares were applied to the results of behavioural testing and electrophysiological responses, respectively. $P \leq 0.05$ was considered as the significant level.

Results: Compared to the control group, the rats in the SNI group revealed an obvious difference in their behavioral responses towards heat and mechano-stimulation manifested by allodynia and hyperalgesia, respectively ($P<0.05$, $P<0.01$). Conduction velocity (CV) significantly reduced in SNI rats compared to the control group ($P<0.05$). Amplitude also slightly decreased in the SNI group. Compound action potential (CAP) rising time was similar in both SNI and the control animals.

Conclusion: SNI models showed acute behavioural responses to both thermal and mechanical allodynia and hyperalgesia stimuli. Besides, electrophysiological recordings of the nerve confirmed nerve damage and injury due to this model, which caused a decrease in nerve conduction.

Key Words: Neuropathic pain; Allodynia; Hyperalgesia; Electrophysiological responses SNI model

[1] Corresponding Author; Assistant Professor, Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences. Kashan, Iran hamiidi@yahoo.com

[2] Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Shaid Beheshti University of Medical Sciences. Neurosciences Research Center. Tehran, Iran

[3] Associate Professor, Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences. Kashan, Iran