

## Original Article

# Evaluation of the L<sub>5</sub> spinal nerve ligation on A $\delta$ - and C-fibers activation threshold and also LTP-induced by electrical high frequency stimulation of sciatic nerve in spinal dorsal horn of rats

Bahari Z<sup>1</sup>, Manaheji H<sup>2\*</sup>, Hosseini Mardi N<sup>1</sup>, Meftahi GH<sup>3</sup>, Sadeghi M<sup>4</sup>, Noorbakhsh SM<sup>5</sup>

1- Department of Physiology, Faculty of Medicine, Shahid-Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran.

2- Neurophysiology Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran.

3- Neuroscience Research Center, Baqiyatallah (a.s.) University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran.

4-Department of Physiology, Faculty of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, I. R. Iran.

5- Science Beam CO., Tehran, I. R. Iran.

Received March 17, 2014; Accepted July 6, 2014

### Abstract:

**Background:** The underlying central mechanisms for the development and maintenance of neuropathic pain are unknown. The current study aimed to evaluate the long-term potentiation (LTP) changes in spinal dorsal horn wide dynamic range (WDR) neurons following a peripheral neuropathy model.

**Materials and Methods:** This study was conducted on 26 male Wistar rats. The spinal nerve ligation (SNL) model was performed to induce neuropathy. After surgery, thermal hyperalgesia and mechanical allodynia were evaluated one day before neuropathy, and then on days 2, 5, 7, 14, 21 and 28 after neuropathy. Single-unit recording was used to study the changes of LTP. The changes of LTP and A $\delta$ - and C-fiber evoked responses by high-frequency stimulation (100 Hz and current intensity six times that of the threshold for activation of C-fibers) of sciatic nerve in spinal WDR synapses were studied on day 14 after surgery up to 2 hours.

**Results:** Neuropathy was induced thermal hyperalgesia and mechanical allodynia on day 2 and persisted for 28 days after neuropathy. Electrophysiological recording revealed that HFS induced LTP either in the A $\delta$ - or in the C-fibers in both sham and neuropathy groups up to 2 hr on day 14 after neuropathy. Neuropathy also significantly decreased the threshold of these fibers.

**Conclusion:** LTP-induced HFS in spinal WDR neurons can be one of the underlying central mechanisms in the maintenance of neuropathic pain.

**Keywords:** Neuropathic pain, Hyperalgesia, Allodynia, LTP

\* Corresponding Author.

Email: hshardimanaheji@yahoo.com

Tel: 0098 912 185 6257

Fax: 0098 21 224 39971

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences October, 2014; Vol. 18, No 4, Pages 325-335

Please cite this article as: Bahari Z, Manaheji H, Hosseini Mardi N, Meftahi Gh, Sadeghi M, Noorbakhsh SM. Evaluation of the L<sub>5</sub> spinal nerve ligation on A $\delta$ - and C-fibers activation threshold and also LTP-induced by electrical high frequency stimulation of sciatic nerve in spinal dorsal horn of rats. *Feyz* 2014; 18(4): 325-35.

# بررسی اثرات قطع عصب نخاعی<sup>۱</sup> بر آستانه فعال سازی فیبرهای A-دلتا و C و نیز القای LTP در شاخ خلفی نخاع توسط تحیریک الکتریکی پرفرکانس عصب سیاتیک در موش صحرایی

زهرا بهاری<sup>۶</sup>، هما مناهجی<sup>۱</sup>، نرگس حسین مردی<sup>۲</sup>، غلامحسین مفتاحی<sup>۳</sup>، مهدی صادقی<sup>۴</sup>، سید محمد نوربخش<sup>۵</sup>

خلاصه:

سابقه و هدف: مکانیسم‌های مرکزی دخیل در ایجاد و تداوم درد نوروپاتیک نامشخص می‌باشند. در مطالعه حاضر تغییرات تقویت سیناپسی بلند مدت (LTP, Long-Term Potentiation) در نوروون‌های WDR (Wide Dynamic Range) شاخ خلفی نخاع به دنبال ایجاد یک مدل نوروپاتی محیطی بررسی گردید.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش از ۲۶ موش صحرایی نر نژاد ویستار استفاده گردید. جهت ایجاد نوروپاتی از مدل Spinal SNL (Nerve Ligation) استفاده شد. بهمنظور تایید نوروپاتی ایجاد شده، از تست‌های رفتاری هیپرآلرژی حرارتی و آلودینیای مکانیکی ۱ روز قبل از جراحی و سپس در روزهای ۲، ۵، ۷، ۲۱ و ۲۸ پس از جراحی انجام گردید. برای بررسی تغییرات LTP از تکنیک Single-Unit Recording استفاده گردید؛ به این صورت که در روز ۱۴ پس از جراحی، تغییرات LTP و پاسخ فیبرهای A-دلتا و C در سطح سیناپس نوروون‌های WDR شاخ خلفی نخاع با تحیریک الکتریکی پرفرکانس (HFS, ۱۰۰ هرتز و شدت جریان ۶ برابر آستانه فیبرهای C) که به عصب سیاتیک داده می‌شد به مدت ۲ ساعت بررسی گردید.

نتایج: نوروپاتی باعث بروز هیپرآلرژی حرارتی و آلودینیای مکانیکی از روز ۲ بعد از نوروپاتی گردید و تا روز ۲۸ ادامه داشت. ثبت الکتروفیزیولوژی در روز ۱۴ بعد از نوروپاتی نشان داد که تحیریک پرفرکانس توانست LTP را در هر دو نوع فیبر A-دلتا و C در گروه‌های نوروپاتی و شم برای ۲ ساعت القا نماید. همچنین، نوروپاتی منجر به کاهش معنی دار آستانه فعال‌سازی نخاعی فیبرهای مذکور شد.

نتیجه‌گیری: LTP القایی با تحیریک الکتریکی پرفرکانس در نوروون‌های WDR نخاع می‌تواند یکی از مکانیسم‌های مرکزی دخیل در تداوم درد نوروپاتیک باشد.

وازگان کلیدی: درد نوروپاتیک، هیپرآلرژی، آلودینیا، LTP

دو ماهنامه علمی-پژوهشی فیض، دوره هجدهم، شماره ۴، مهر و آبان ۱۳۹۳، صفحات ۳۲۵-۳۳۵

امروزه مشخص شده است که برخی از فرآیندهای حافظه و شکل-

پذیری سیناپسی در مسیرهای نخاعی، نیز در مژمن شدن دردهای نوروپاتیک (حافظه درد) نقش دارند [۴-۶]. یکی از انواع شکل پذیری سیناپسی، تقویت سیناپسی طولانی مدت یا LTP می‌باشد، که برای اولین بار در هیپوکامپ نشان داده شد [۷]. درک مکانیسم‌های شکل پذیری سیناپسی در مدارهای نورونی درد در سطح نخاع برای فهم مکانیسم‌های درد مژمن نوروپاتیک مهم است، زیرا به دنبال ضایعه عصبی، حساسیت مرکزی در نوروون‌های نخاع ایجاد می‌گردد بطوريکه حتی پس از بهبود ضایعه عصبی، درد احساس می‌شود [۸]. پیشنهاد شده است که LTP ممکن است جزء مهمی از حساسیت مرکزی باشد که ممکن است نقش مهمی در مژمن شدن درد نوروپاتی داشته باشد [۹]. ممکن است که LTP منجر به تسهیل انتقال پیام‌های درد در فیبرهای آوران درد در سیستم اعصاب مرکزی درگیر بوده و در پایداری رفتارهای درد (هیپرآلرژی و آلودینیا) دخالت دارد [۱۰]. در بیشتر مطالعات الکتروفیزیولوژی از تکنیک ثبت خارج سلولی پتانسیل‌های میدانی (Field Potential recording) برای مطالعه LTP استفاده شده است. Xing و همکاران در سال ۲۰۰۷ با استفاده از تکنیک ثبت خارج

مقدمه

درد نوروپاتیک یک تجربه حسی ناخوشایند ناشی از آسیب اعصاب محیطی یا مرکزی بوده و با درد خودبه‌خودی (احساس درد بدون حضور محرك)، هایپرآلرژی (تقویت دامنه پاسخ فرد نسبت به محرك‌های دردناک) و آلودینیا (کاهش شدید آستانه درد و احساس درد نسبت به محرك‌های غیردردناک) همراه است [۱-۳]. از آنجایی که درد نوروپاتیک اغلب به درمان‌های رایج پاسخ نمی‌دهد، مکانیسم‌های پایه مولد درد نوروپاتیک همواره مورد توجه بوده است.

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

<sup>۲</sup> دانشیار، مرکز تحقیقات نورووفیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

<sup>۳</sup> استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

<sup>۴</sup> استادیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)

<sup>۵</sup> استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

<sup>۶</sup> دکتری تخصصی علوم اعصاب، موسسه پرتو دانش، تهران

\* لشانی نویسنده مسئول\*

مرکز تحقیقات نورووفیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

تلفن: ۰۹۱۲ ۱۸۵۶۳۵۷، ۰۲۱ ۲۳۴۳۹۹۷۱

پست الکترونیک: hshardimanaheji@yahoo.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۳/۴/۱۵

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۲۶

### ایجاد مدل نوروپاتی

در این پژوهش از مدل نوروپاتی SNL که در سال ۱۹۹۲ به وسیله Chung و Kim توصیف شده است، استفاده گردید [۱۵]. به طور خلاصه، ابتدا حیوانات با تزریق داخل صفاقی سدیم پتو-باربیتال (۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش گردیده، سپس روی تخته جراحی به پشت قرار داده می‌شدند. در شرایط استریل، روی پشت حیوان یک برش طولی به طول ۳ سانتی متر از خط وسط از بخش دمی مهره  $L_5$  تا اولین مهره ساکرال در سمت چپ ایجاد می‌شد. با ایجاد برش عضلات پارا-اسپینال سمت چپ ستون مهره دیده می‌شدند. با استفاده از قیچی کوچک با نوک گرد عضلات پارا-اسپینال از سطح زائده خاری مهره  $L_5$  تا ساکروم را کنار زده و سپس در زیر لوب، با استفاده از استخوان بر کوچک، زائده عرضی مهره  $L_6$  به طور کامل برداشته می‌شد. با برداشته شدن زائده عرضی مهره  $L_6$  عصب نخاعی  $L_5$  نزدیک به تنہ ستون مهره، قابل مشاهده بود. با نخ بخیه سیلک  $6-0$  عصب نخاعی  $L_5$  که در ناحیه دیستال نسبت به گانگلیون ریشه خلفی قرار گرفته، به طور محکمی گره زده شد. جهت اطمینان بیشتر از تخریب همه آکسون‌های موجود در عصب، درست در ناحیه دیستال نسبت به گره، عصب به طور کامل قطع گردید. آنگاه محل زخم ضد عفونی و سپس عضله و پوست بخیه می‌شد. حیوانات در قفس‌های تمیز قرار داده شده و به حیوانخانه منتقل می‌شدند. آزمایشات رفتاری از ۱ روز قبل از ایجاد مدل نوروپاتی و سپس در روزهای ۲، ۵، ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد از نوروپاتی انجام می‌شد.

### مطالعات رفتاری

در مطالعات رفتاری از دو گروه ۸ تایی شم و نوروپاتی استفاده شد. به منظور اطمینان از ایجاد درد نوروپاتیک در حیوانات و ارزیابی وضعیت رفتارهای ناشی از جراحی SNL، تست‌های رفتاری فون فری برای سنجش آلودگی مکانیکی و پلاتر تست برای سنجش هیپرآلژی حرارتی انجام گرفت؛ در صورتی که حیوانات عوارض مربوط به جراحی SNL از قبیل تا شدن انگشتان پا و عدم برقراری وزن بدن بر روی پای آسیب دیده را نشان نمی‌دادند، از مطالعه کنار گذاشته می‌شدند.

تست رفتاری فون فری برای سنجش آلودگی مکانیکی حساسیت مکانیکی به محركهای غیر دردناک با اعمال فیلامنت‌های فون فری  $2$ ،  $4$ ،  $6$ ،  $8$ ،  $15$ ،  $26$  و  $60$  گرمی (Stoelting, Wood dale.II) به کف پای حیوان اندازه‌گیری شد. برای این کار از روش بالا-پایین (Dickenson) استفاده می‌شد.

سلولی پتانسیل‌های میدانی نشان دادند که نوروپاتی منجر به کاهش آستانه فیبرهای C و نیز افزایش دامنه پتانسیل عمل در روز ۷ بعد از نوروپاتی شده است [۱۱]. محققین برای اولین بار در سال ۱۹۹۷ LTP را در نورون‌های WDR در شاخ خلفی نخاع حیوانات سالم با استفاده از ثبت خارج سلولی تک واحدی نشان دادند [۱۲]. نورون‌های WDR در انتقال پیام‌های درد از محیط به مغز و ایجاد حساسیت مرکزی نقش مهمی دارند [۱۳]. امروزه مدل‌های نوروپاتیک محیطی و مرکزی زیادی جهت درک مکانیسم‌های درد نوروپاتیک معرفی شده است. شدت پاسخ‌های رفتاری و الکتروفیزیولوژی نورون‌ها با توجه به نوع مدل نوروپاتی و شدت فرکانس تحریک و نوع عصب تحریک شونده متفاوت است [۱۴]. از بین مدل‌های ارائه شده، قطع یک‌طرفه عصب نخاعی  $L_5$  (مدل SNL) منجر به بروز بسیاری از اختلالاتی که بیماران نوروپاتی از آن رنج می‌برند، شده است [۱۵]. از این مدل جهت مطالعه مکانیسم‌های درد نوروپاتیک بسیار کم استفاده شده است. بنابراین، با توجه به کم بودن حجم مطالعات انجام شده در زمینه شکل‌پذیری سیناپسی به دنبال ایجاد مدل‌های متفاوت نوروپاتیک محیطی یا مرکزی و نیز نبود اطلاعاتی در زمینه تاثیر مدل نوروپاتی SNL بر LTP با استفاده از ثبت خارج سلولی تک واحدی، هدف از مطالعه حاضر بررسی تغییرات آستانه فعال‌سازی فیبرهای A-دلتا و C به دنبال نوروپاتی و نیز ثبت تغییرات LTP القابی در سطح سیناپس نورون‌های WDR شاخ خلفی نخاع توسط تحریک پرفرکانس (Stimulus HFS, High Frequency) عصب سیاتیک به دنبال قطع یک‌طرفه (سمت چپ) عصب نخاعی  $L_5$  در موش صحرایی می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

#### حیوانات

در مطالعه تحریبی حاضر از موش‌های صحرایی نر بالغ (n=۲۶)، نژاد ویستار در محدوده وزنی ۱۸۰-۲۰۰ گرم استفاده گردید. حیوانات همگی در شرایط یکسان و در اتاق کنترل شده از نظر حرارت و رطوبت، در سیکل ۱۲ ساعت روشناختی و ۱۲ ساعت تاریکی و در قفس‌های جداگانه در گروههای ۳ تایی از یک هفته قبل از آزمایش نگهداری شده و در تمام مدت دسترسی راحت به آب و غذای استاندارد و کافی داشتند. کلیه آزمایشات از ساعت ۸ صبح شروع و تا حصول نتیجه ادامه می‌یافت. در تمام موارد قوانین اخلاقی مورد تایید گروه اخلاق مرکز تحقیقات علوم اعصاب رعایت می‌گردید.

گزارش شده توسط Svendson و همکاران [۱۸] مورد بررسی قرار گرفت.

آماده سازی حیوان جهت ثبت الکتریکی در ابتدا، حیوانات با تزریق داخل صفاتی اورتان (۱/۵ گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. حذف رفلکس pedal نشاندهنده سطح مناسب بیهوشی بود. سپس، یک برش ۳ سانتی‌متری روی پوست ناحیه پارامدیال در لگن ایجاد گردید. عصب سیاتیک حدود ۷ تا ۸ میلی‌متر در زیر فاشیای عضلات ران تا ساق پای حیوان عبور می‌کند که با برداشتن این عضلات عصب آشکار می‌گردد. سپس، با استفاده از میکروسوکوب تشریع عصب جدا گردیده و یک جفت الکترود نقره (فاصله دو الکترود ۲ میلی‌متر) جهت تحریک الکتریکی در زیر عصب سیاتیک، در نزدیکی محل سه شاخه شدن عصب، قرار گرفت. برای جلوگیری از تماس الکترود با عضلات حیوان، یک ورقه پارافیلم دور عصب و الکترود قرار می‌گرفت. جهت لامینکتومی، حیوان به دستگاه استرنو-تاکس مخصوص نخاع (برج صنعت، ایران) منتقل شده و پس از ثابت کردن سر حیوان، به کمک اسکالپل یک شکاف طولی (۷-۸ سانتی‌متر) از ناحیه پشت گردن تا ۳ سانتی‌متری بالای ریشه دم ایجاد گردید. در مرحله بعد دو طرف ستون مهره‌ها (در بالای آخرین دندنه) به طور طولی شکافته شده و ستون مهره از بالا ثابت می‌گردد. سپس، از پایین به بالا ماهیچه‌های اطراف زوائد عرضی مهره‌های T<sub>13</sub> و L<sub>1</sub> جدا می‌شود و به کمک استخوان بر، این زوائد برداشته می‌شود. با برداشتن زوائد عرضی مهره‌های T<sub>13</sub> و L<sub>1</sub>، قطعات کمری L<sub>4</sub>, L<sub>5</sub> و L<sub>6</sub> نخاع (برجستگی کمری) آشکار می‌شود. این قطعات کمری محل خروج ریشه‌های عصب سیاتیک بوده و از نوروون‌های WDR این ناحیه ثبت گرفته می‌شوند. بعد از آشکار شدن برجستگی کمری، به کمک پنس ظرفی سخت شامه کنار زده شده و دقت می‌گرددید تا به نرم شامه آسیبی وارد نشود. در این قسمت ستون مهره از سمت پایین به کمک کلامپ‌های کمری ثابت می‌گرددید، و دقت می‌شود تا سر و ستون مهره‌ها در یک راستا قرار گیرند. سطح آشکار نخاع توسط روغن معدنی پوشانده می‌شود.

پیدا کردن نوروون مناسب و جمع آوری سیگنال برای این منظور بهوسیله میکرومتر دستگاه منیپولیتور، الکترود ثبات (میکروالکترود تنگستن با مقاومت ۲-۵ مگا اهم) به صورت عمودی و نزدیک به خط وسط در سمت ضایعه نوروپاتی (سمت چپ شاخ خلفی) به سطح نخاع نزدیک می‌گرددید.

[۱۶]. حیوانات روی یک صفحه مشبک فلزی و در داخل یک حفظه پلاستیکی به ابعاد ۲۰ در ۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر قرار گرفته و بعد از گذشت ۳۰ دقیقه که حیوان با محیط جدید عادت کرد و فعالیت و کاوش محیط جدید متوقف شد، هر فیلامنت سه بار متوالی به فاصله ۵ ثانیه و هر بار به مدت زمان حدود دو تا سه ثانیه به کف پای نوروپاتی اعمال می‌شد. اگر حیوان دو بار از سه بار اعمال فیلامنت پای خود را از محرك عقب می‌کشید (پاسخ مثبت)، آن فیلامنت به عنوان آستانه مکانیکی درد در نظر گرفته می‌شود و در غیر این صورت بعد از پنج دقیقه محرك با شدت بالاتر اعمال می‌گرددید. کمترین شدت محرك بر حسب گرم که بتواند ۲ پاسخ مثبت را از مجموع ۳ بار اعمال تحریک ایجاد نماید، به عنوان پاسخ مثبت به حساب می‌آمد. پاسخ‌هایی که در اثر حرکت و سایر رفتارهای طبیعی حیوان بود، در نظر گرفته نمی‌شد. در صورتی که حیوان به فیلامنت شماره ۶۰ نیز پاسخ نمی‌داد، عدد ۶۰ به عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته می‌شد.

تست رفتاری پلاتاری برای سنجش هیپرآلرژی حرارتی تغییرات هیپرآلرژی طی روند پیشرفت نوروپاتی با استفاده از دستگاه Heat Radiant (ساخت شرکت Ugo basil ایتالیا) انجام شد [۱۷]. حیوانات درون محفظه‌های مخصوص دستگاه قرار گرفته و بعد از گذشت ۳۰ دقیقه که حیوان به محیط جدید عادت کرد، یک منبع متحرک تابش اشعه مادون قرمز را در زیر کف پای نوروپاتی حیوان قرار داده و محرك حرارتی با شدت ثابت، برای همه گروه‌ها اعمال می‌گرددید. وقتی حیوان پای نوروپاتی خود را از منبع حرارتی عقب می‌کشید، تایمر دستگاه متوقف شده و منبع حرارتی به طور اتوماتیک خاموش می‌شد. مدت زمان تحمل در برابر تابش اشعه گرمایی به کف پای نوروپاتی در صفحه مانیتور ثبت شده که نشان دهنده آستانه حرارتی حیوان بوده و بر حسب ثانیه ثبت می‌گرددید. این کار ۳ بار با فواصل زمانی حداقل ۵ دقیقه برای پای نوروپاتی انجام می‌شد و میانگین این سه بار به عنوان آستانه پاسخ بر حسب زمان در نظر گرفته می‌شد. بهمنظور جلوگیری از آسیب بافتی، زمان قطع آزمایش ۳۳ ثانية تنظیم گردید (Cut-Off).

#### مطالعات الکتروفیزیولوژی

در مطالعات الکتروفیزیولوژی از دو گروه ۵ تایی شم و نوروپاتی استفاده شد. با استفاده از تکنیک In Vivo Extracellular Single Unit Recordings فیبرهای A-Dلتا و C در سطح سیناپس نوروون‌های WDR شاخ خلفی نخاع در روز ۱۴ بعد از جراحی نوروپاتی بر اساس روش

(HFS) با مشخصات Train duration ۲۰ ثانیه، فاصله بین هر دو Train ۱۰ ثانیه، با شدت جریان ۶ برابر آستانه فعال‌سازی فیر C، فرکانس ۱۰۰ هرتز) به عصب سیاتیک اعمال می‌شد. بعد از تحریک HFS ۱۰ دقیقه به نورون استراحت داده می‌شد. سپس ۲۴ تحریک الکتریکی با شدت جریان ۱/۵ برابر آستانه فعال‌سازی فیر C مجدداً هر ۴ دقیقه یکبار به عصب سیاتیک اعمال می‌شد. پاسخ نورون‌های WDR بعد از هر تحریک الکتریکی به عصب سیاتیک، که توسط الکترود ثبات در نخاع ثبت می‌شد، به مدت ۳۰۰ میلی ثانیه بعد از شروع هر تحریک الکتریکی بررسی گردید. این مدت زمان بر اساس تأخیر زمانی فعالیت مربوط به فیرهای A-Dلتا و C بود؛ بدین ترتیب که پتانسیل‌های عمل ظاهر شده در محدوده زمانی ۲۰ تا ۹۰ میلی ثانیه پس از هر تحریک الکتریکی ۱۲ تحریک قبل و ۲۴ تحریک بعد از محرک (HFS) ناشی از تحریک شدن فیرهای A-Dلتا و نیز پتانسیل‌های عمل ظاهر شده در محدوده زمانی ۹۰ تا ۳۰۰ میلی ثانیه ناشی از فعال شدن فیرهای C می‌باشد. لذا، تعداد پتانسیل عمل مربوط به فعالیت فیرهای A-Dلتا و C قبل و بعد از HFS مورد آنالیز قرار گرفتند.

#### گروه‌های آزمایشی

جهت مطالعه رفتاری، ۱۶ سر موش صحرایی در ۲ گروه ۸ تایی به صورت تصادفی انتخاب شدند: گروه شم و نوروپاتی. در این گروه‌ها، اثر جراحی بر تست‌های رفتاری در پای نوروپاتی (پای سمت چپ)، یک روز قبل از جراحی نوروپاتی و سپس در روزهای ۲، ۵، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ بعد از جراحی بررسی شد. جهت مطالعات الکتروفیزیولوژی، ۱۰ سر موش صحرایی در ۲ گروه ۵ تایی به صورت تصادفی انتخاب شدند: گروه شم و گروه نوروپاتی. در گروه‌های مذکور اثرات HFS بر پاسخ فیرهای A-Dلتا و C و نیز آستانه فعال‌سازی این فیرها در روز ۱۴ بعد از نوروپاتی بررسی شد.

#### تجزیه و تحلیل داده‌ها

تمام داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار گزارش شده است. نتایج به دست آمده با استفاده از نسخه ۵ نرم افزار آماری Graphpad Prism، San Diego، CA، USA) مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعات رفتاری، تفاوت‌های درون گروهی (زمان‌های مختلف) و نیز بین گروهی به ترتیب با استفاده از آزمون‌های آنالیز واریانس یک و نیز دو طرفه و متعاقب آن پس آزمون توکی بررسی شد. در مطالعات الکتروفیزیولوژی، پاسخ نورون‌های WDR در مدت زمان ۳۰۰ میلی ثانیه بعد از هر تحریک

سپس، به آرامی با گام‌های ۱۰ میکرونی از سطح خلفی وارد بر جستگی کمری نخاع می‌شد. سیگنال‌های الکتریکی ناشی از فعالیت نورون به وسیله میکروالکترود دریافت شده و به وسیله آمپلی‌فایر تقویت گردیده و سپس از طریق دستگاه (Aquisition, D3111, Science Beam CO., Tehran, Iran) به کامپیوتر منتقل می‌گردید. سیگنال‌های دریافتی در محدوده پهنای باند ۳۰۰ تا ۳۰۰۰ فیلتر شده که منطبق با مدت زمان Science Beam CO., Tehran, Neuro Comet. (Iran) نمایش داده شده و صدای آن نیز توسط کارت صوت کامپیوتر پخش می‌گردید. با گوش دادن به صدای سیگنال از طریق بلندگو و مشاهده امواج و جدا نمودن آنها به کمک پنجه‌های جدا کننده دستگاه، نورون WDR مناسب جدا می‌شد و بدین ترتیب پاسخ‌های الکتریکی شاخ خلفی مانیتور می‌گردید. بیشترین تراکم نورون‌های WDR در عمق ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ میکرونی از سطح نخاع می‌باشد، لذا در این عمق جستجو جهت پیدا کردن نورون صورت می‌گرفت. نورون‌های WDR بر اساس فعالیت خود به خودی، میدان پذیرنده و آستانه پاسخ مشخص می‌شوند. نورون‌های WDR به طیف وسیعی از محرک‌ها از قبیل لمس، فشار و تحریک در دنناک به تدریج افزاینده پاسخ می‌دهند؛ یعنی باید پاسخ به تحریک لمسی pinch پوست با افزایش نیرو افزایش باید و همیشه پاسخ به در دنناک باید بزرگتر از پاسخ به فشار باشد. اگر نورون پیدا شده به همه این محرک‌ها پاسخ می‌داد، به عنوان نورون WDR در نظر گرفته شده و اطلاعات آن به وسیله کامپیوتر ثبت شده و سپس جهت اندازه‌گیری پارامترهای مختلف مورد آنالیز قرار می‌گرفت. بعد از پیدا کردن نورون WDR مناسب، ده دقیقه صبر کرده تا فعالیت نورون پایدار شود، سپس آستانه تحریک فیرهای A-C-Dلتا در شروع آزمایش مشخص می‌شد. جهت تعیین آستانه فیرهای A-Dلتا و C، تحریکات الکتریکی به صورت موج‌های مربعی ۲ میلی ثانیه‌ای از کمترین شدت جریان (۱۰۰ میکرو آمپر) هر ۴ دقیقه به عصب سیاتیک اعمال می‌شد. در صورت عدم پاسخ دهی فیرهای A-Dلتا و C، جریانی با شدت بیشتر به عصب سیاتیک اعمال می‌شد. شدت جریانی که منجر به ۳ پتانسیل عمل ناشی از فیرهای A-Dلتا و C می‌شد، به عنوان آستانه فعال‌سازی فیرهای مذکور در نظر گرفته می‌شد. بعد از پیدا کردن آستانه فیرها، در ابتدا پاسخ پایه نورون WDR با اعمال ۱۲ تحریک الکتریکی که به عصب سیاتیک (شدت جریان ۱/۵ برابر آستانه فیر C) به صورت موج مربعی ۲ میلی ثانیه) داده می‌شد، هر ۴ دقیقه یکبار ثبت می‌گردید. سپس جهت القای LTP، محرک الکتریکی پر فرکانس

حرارتی و مکانیکی به ترتیب توسط پلاتنتر تست و تارهای فون فری بررسی گردید.

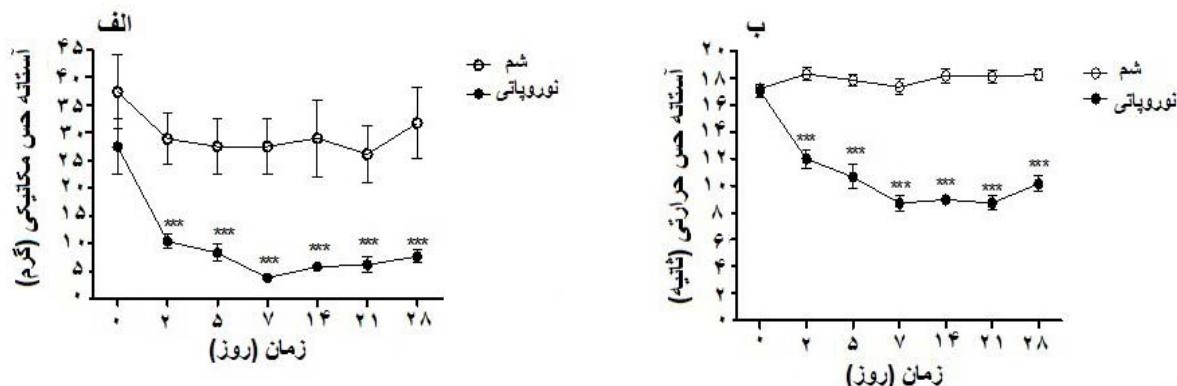
#### نتایج رفتاری

در شکل شماره ۱ اثرات ایجاد نوروپاتی SNL بر هیپرآلزی حرارتی و آلودینیای مکانیکی نشان داده شده است. آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد که آستانه تحمل به محركهای حرارتی و مکانیکی در گروه نوروپاتی در مقایسه با گروه شم، به طور معنی داری ۲ روز بعد از ضایعه عصبی کاهش و تا ۲۸ روز بعد از نوروپاتی پایین باقی ماند. کمترین آستانه تحمل درد در روزهای ۷ و ۱۴ مشاهده شد ( $P<0.001$ ، شکل شماره ۱).

الکترویکی بررسی گردید. در این مطالعه در مجموع، ۱۲ تحریک الکترویکی قبل از HFS و ۲۴ تحریک الکترویکی بعد از HFS داده شد. به منظور ساده تر کردن شکل ها، تعداد پتانسیل عمل هر ۳ تحریک الکترویکی به صورت یک میانگین در نظر گرفته شد. لذا، به جای ۱۲ میانگین قبل از HFS، ۴ میانگین ( $12/3$ ) و نیز به جای ۲۴ میانگین بعد از HFS، ۸ میانگین ( $24/3$ ) در نظر گرفته شد. نتایج الکتروفیزیولوژی با آزمون واریانس یک طرفه و متعاقب آن پس آزمون توکی بررسی شد. اختلاف با احتمال کمتر از  $0.05$  بین گروه های آزمایشی از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

#### نتایج

در مدل درد نوروپاتی SNL پاسخ حیوانات به تحریکات



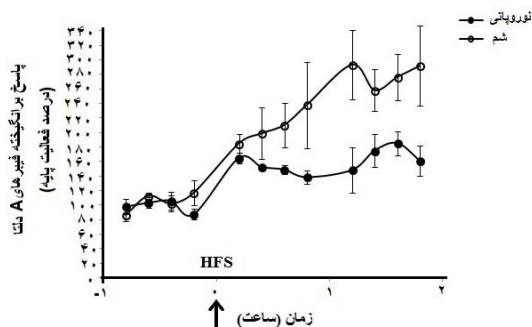
شکل شماره ۱- اثر نوروپاتی SNL بر آلودینیای مکانیکی و هیپرآلزی حرارتی (الف) آلودینیای مکانیکی که به صورت آستانه حس مکانیکی و گرم نشان داده شده است. (ب) هیپرآلزی حرارتی که به صورت آستانه حس حرارتی و ثانیه نشان داده شده است.

جدول آنالیز واریانس دو طرفه برای شکل ۱ (الف: آستانه حس مکانیکی)

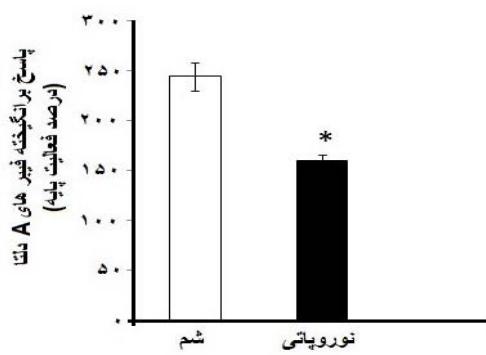
P	F	(MS)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	درجه آزادی	منبع تغییرات
0.001	72/28		11001	11001	1/0	اثر مداخله (بین گروهی)
0.001	۳/۵۱	۵۳۴/۱	۳۲۰۴	۳۲۰۴	۶/۰	اثر زمان (درون گروهی)
0/۵	۰/۶۴	۹۷/۸۳	۵۸۷/۰	۵۸۷/۰	۶/۰	اثر تعاملی مداخله و زمان
		۱۵۲/۲	۱۴۹۱۶	۹۸/۰		خطا
			۲۹۷۰۸	۱۱۱/۰		مجموع

جدول آنالیز واریانس دو طرفه برای شکل ۱ (ب: آستانه حس حرارتی)

P	F	(MS)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	درجه آزادی	منبع تغییرات
0.001	۵۸۰/۵۸		۱۳۷۰	۱۳۷۰	۱/۰	اثر درمان (بین گروهی)
0.001	۱۳/۰۷	۳۰/۸۴	۱۸۵/۰	۱۸۵/۰	۶/۰	اثر زمان (درون گروهی)
0.001	۱۷/۲۹	۴۰/۷۹	۲۴۴/۷	۲۴۴/۷	۶/۰	اثر تعاملی درمان و زمان
		۲/۳۵۹	۲۳۱/۲	۹۸/۰		خطا
			۲۰۳۱	۱۱۱/۰		مجموع



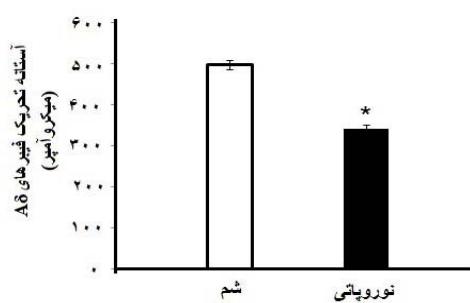
شکل شماره ۴- اثر تحریک HFS بر پاسخ فیبرهای A-Dلتا در گروههای شم و نوروپاتی نشان داده شده است. زمان بر حسب ساعت نشان داده شده است. ثبت فعالیت پایه نورون از زمان ۱- تا زمان صفر انجام شد. در زمان مذکور تحریک الکتریکی هر ۴ دقیقه به عصب سیاتیک داده شد. تعداد پتانسیل عمل در محدوده زمانی ۹۰ تا ۹۰ میلی ثانیه بعد از هر تحریک آنالیز شد. میانگین هر سه تحریک الکتریکی گرفته شد و در نتیجه به صورت ۴ دایره تو خالی یا توپر نشان داده شده است. محرک HFS در زمان صفر به عصب سیاتیک اعمال شد. بعد از آن ۲۴ تحریک الکتریکی هر ۴ دقیقه به عصب سیاتیک داده شد. تعداد پتانسیل عمل در محدوده زمانی ۰ تا ۲۰ میلی ثانیه بعد از هر تحریک آنالیز شد. میانگین هر ۳ تحریک الکتریکی گرفته شد و در نتیجه به صورت ۸ دایره تو خالی یا توپر نشان داده است. القای LTP از زمان صفر تا ۲ ساعت بعد از اعمال محرک HFS قابل مشاهده می باشد.



شکل شماره ۵- تفاوت آماری تقویت سیناپسی طولانی مدت فیبرهای A-Dلتا در گروههای شم و نوروپاتی نشان داده شده است. از تعداد کل پتانسیل های عمل مربوط به ۲۴ تحریک الکتریکی میانگین گرفته شده و نسبت به پاسخ پایه نورون (قبل از اعمال HFS) درصد گرفته شده و در نشان داده شده است ( $*P<0.05$ ).

اثر تحریک HFS بر پاسخ فیبرهای C در حیوانات شم و نوروپاتیک

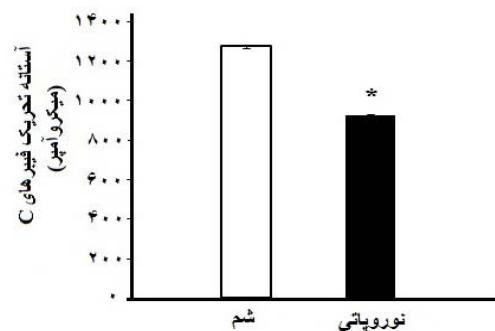
شکل شماره ۶ القای LTP (به مدت ۲ ساعت) را در فیبرهای C در هر دو گروه شم و نوروپاتی نشان می دهد. آنالیز آماری در شکل شماره ۸ نشان می دهد که درصد تقویت بلند مدت القا شده توسط HFS (به مدت ۲ ساعت) در گروه نوروپاتی  $171/40 \pm 4/25$  درصد پاسخ پایه) نسبت به گروه شم  $226/18 \pm 5/54$  درصد پاسخ پایه) به طور معنی داری کمتر بود ( $P<0.05$ ). شکل شماره ۷. علاوه



شکل شماره ۲- اثر نوروپاتی به روش SNL بر آستانه فعال سازی فیبرهای A-Dلتا به صورت میکروآمپر نشان داده شده است ( $*P<0.05$ ).

#### نتایج الکتروفیزیولوژی

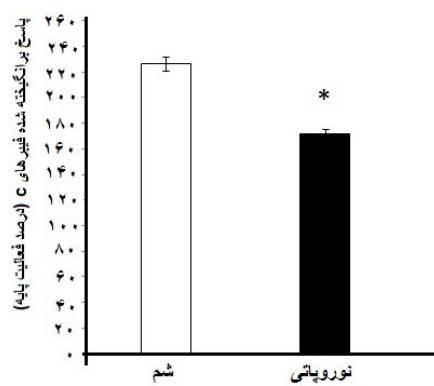
اثر نوروپاتی بر آستانه تحریک فیبرهای A-Dلتا و C آستانه تحریک فیبرهای A-Dلتا در حیوانات نوروپاتیک نسبت به حیوانات شم کاهش معنی داری داشت (گروه شم:  $498 \pm 11/57$  میکروآمپر، گروه نوروپاتی:  $340 \pm 18/7$  میکروآمپر) ( $P<0.05$ ). شکل ۲. همچنین، آستانه تحریک فیبرهای C نیز در حیوانات نوروپاتیک نسبت به حیوانات شم کاهش معنی داری داشت (گروه شم:  $1276 \pm 8/12$  میکروآمپر، گروه نوروپاتی:  $924 \pm 13/63$  میکروآمپر) ( $P<0.05$ ). شکل شماره ۳.



شکل شماره ۳- اثر نوروپاتی به روش SNL بر آستانه فعال سازی فیبرهای C به صورت میکروآمپر نشان داده شده است ( $*P<0.05$ ).

#### اثر تحریک HFS بر پاسخ فیبرهای A-Dلتا در حیوانات شم و نوروپاتیک

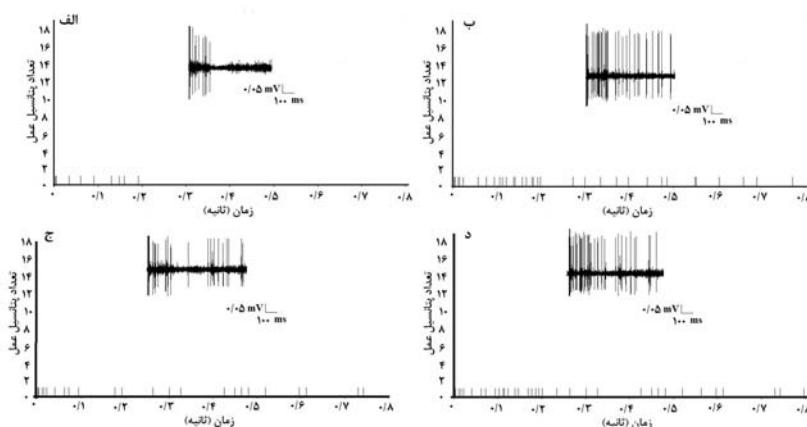
شکل شماره ۴ القای LTP (به مدت ۲ ساعت) را در فیبرهای A-Dلتا در هر دو گروه شم و نوروپاتی نشان می دهد. آنالیز آماری در شکل شماره ۵ نشان می دهد که درصد تقویت بلند مدت القا شده توسط HFS (به مدت ۲ ساعت) در گروه نوروپاتی  $159/45 \pm 5/95$  درصد پاسخ پایه) نسبت به گروه شم  $224/40 \pm 14/41$  درصد پاسخ پایه) به طور معنی داری کمتر بود ( $P<0.05$ ). شکل شماره ۵.



شکل شماره ۷- تفاوت آماری تقویت سیناپسی بلند مدت فیبرهای C در گروههای شام و نوروپاتی نشان داده شده است. از تعداد کل پتانسیل‌های عمل مربوط به ۲۴ تحریک الکتریکی (بعد از اعمال HFS) میانگین گرفته شده و نسبت به پاسخ پایه نورون (قبل از اعمال HFS) درصد گرفته شده و در شکل نشان داده شده است ( $*P < 0.05$ ).

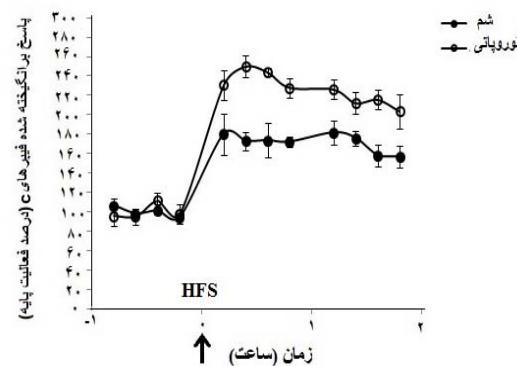
### بحث

مهم‌ترین یافته‌های این مطالعه عبارتند از: ۱- کاهش معنی‌دار آستانه تحمل به محرك‌های حرارتی و مکانیکی در گروه نوروپاتی در روز ۲ بعد از قطع عصب L5 که تا روز بعد از نوروپاتی ادامه داشت؛ کمترین آستانه تحمل به درد در روزهای ۷ و ۱۴ مشاهده شد. ۲- افزایش تعداد پتانسیل عمل در زمان ثبت پایه فعالیت نورون (قبل از اعمال HFS) در گروه نوروپاتی نسبت به گروه شام. ۳- القای LTP در فیبرهای A-Dلتا و C در سطح سیناپس با نورونهای WDR شاخ خلفی در حیوانات شام و نوروپاتی در روز ۱۴ بعد از نوروپاتی متعاقب اعمال محرك HFS به عصب سیاتیک.



شکل شماره ۸- نمونه‌ای از پاسخ ثبت شده مربوط به یک نورون WDR و نمودار PSTH آن در یک موش صحرابی شام (الف و ب) و یک موش صحرابی نوروپاتی (ج و د). پانل‌های الف و ب و ج پاسخ پایه نورون را بعد از اعمال اولین تحریک و پانل‌های د و ج پاسخ نورون را بعد از اعمال اولین تحریک به دنبال القای LTP نشان می‌دهند. تعداد اسپایک‌های پایه در موش نوروپاتی بیشتر از موش شام است. همچنین تغییرات LTP در موش نوروپاتی نسبت به موش شام کمتر است.

بر این، در شکل ۸ پتانسیل‌های الکتریکی خام یک نورون انتخابی در پاسخ به اولین تحریک الکتریکی قبل از محرك HFS و نیز در پاسخ به اولین تحریک الکتریکی بعد از محرك HFS در گروههای شام و نوروپاتی نشان داده شده است.



شکل شماره ۶- اثر تحریک HFS بر پاسخ فیبرهای C در گروههای شام و نوروپاتی نشان داده شده است. زمان بر حسب ساعت نشان داده شده است. ثبت فعالیت پایه نورون از زمان ۰- تا زمان صفر انجام شد. در زمان مذکور ۱۲ تحریک الکتریکی هر ۴ دقیقه به عصب سیاتیک داده شد. تعداد پتانسیل عمل در محدوده زمانی ۹۰ تا ۳۰۰ میلی ثانیه بعد از هر تحریک آغاز شد. میانگین هر ۳ تحریک الکتریکی گرفته شد و در نتیجه به صورت ۴ دایره تو خالی یا توپر نشان داده شده است. محرك HFS در زمان صفر به عصب سیاتیک اعمال شد. بعد از آن، ۲۴ تحریک الکتریکی هر ۴ دقیقه به عصب سیاتیک داده شد. تعداد پتانسیل عمل در محدوده زمانی ۹۰ تا ۳۰۰ میلی ثانیه بعد از هر تحریک آغاز شد. میانگین هر ۳ تحریک الکتریکی گرفته شد و در نتیجه به صورت ۸ دایره تو خالی یا توپر نشان داده شده است. القای LTP از زمان صفر تا ۲ ساعت بعد از اعمال محرك HFS قابل مشاهده می‌باشد.

برای اولین بار در اوایل ۱۹۷۰ به عنوان مدل حافظه و یادگیری در هیپوکامپ مطرح گردید [۷]. مطالعات بیشتر نشان داد که LTP در قسمت‌های مختلف سیستم اعصاب مرکزی نیز از قبیل نخاع القا می‌شود [۲۴]. به عنوان مثال، برخی از ضایعات عصبی ممکن است منجر به بروز برخی از تغییرات شکل پذیری سیناپسی از قبیل LTP در مدارهای نوروپاتی نخاع شود [۲۵]. محققین القای LTP نخاعی را با استفاده از تحریکات شدید مکانیکی یا الکتریکی به اعصاب محیطی، برای ۳ ساعت در موش صحرابی سالم و ۶ ساعت در موش صحرابی نخاعی نشان دادند [۲۶، ۲۷]. در بیشتر مطالعات الکتروفیزیولوژی از تکنیک ثبت پتانسیلهای میدانی برای القای LTP استفاده شده است [۲۸، ۲۹]. با استفاده از این تکنیک، تغییرات سیناپسی را می‌توان در سطح تعداد زیاد نوروپاتی بررسی کرد. Wang و همکاران با استفاده از تکنیک ثبت پتانسیلهای میدانی نشان دادند که اعمال محرک تانیک به عصب سیاتیک منجر به القای LTP در نخاع در حیوانات سالم می‌شود [۲۸]. Liu و Sandkuhler با استفاده از ثبت پتانسیلهای میدانی توانستند LTP در نورون‌های Suralia gelatinosa (در فرکانس ۱۰۰ هرتز) به عصب را با اعمال محرک الکتریکی (با فرکانس ۵۰ تا ۳۵ میکرونی لامینای سطحی شاخ خلفی نخاع) در حیوانات سالم درآوردند. همچنان، این محققین نشان دادند که اعمال محرک دردناک حرارتی به نواحی از پوست که توسط عصب Suralia عصب‌دهی می‌شوند، منجر به القای LTP در حیوانات نخاعی می‌شود [۲۷]. در مطالعه الکتروفیزیولوژی حاضر از تکنیک ثبت خارج In vivo single-unit recording سلولی این تکنیک، تغییرات سیناپسی در سطح یک یا دو نوروپاتی در این زمان ثبت پایه (قبل از HFS) در گروه نوروپاتی (۹/۶) بیشتر از گروه شم (۷/۳) بود. شاید یکی از دلایل افزایش تعداد پتانسیل عمل در زمان ثبت پایه در گروه نوروپاتی افزایش فعالیت مسیرهای تحریکی گلوتاماتریک نزولی و نیز کاهش فعالیت مسیرهای مهاری گاباریک نزولی باشد [۲۹]. علاوه بر آن، نتایج الکتروفیزیولوژی حاضر نشان داد که اعمال HFS به عصب سیاتیک منجر به القای LTP در پاسخ هر دو نوع فیر و در هر دو گروه در طول مدت آزمایش (۲ ساعت) می‌شود. همچنان، دیده شد که شدت LTP در هر دو نوع فیر بعد از اعمال HFS در گروه نوروپاتی نسبت به گروه شم به طور معنی‌داری کمتر بود (شکل‌های ۵ تا ۸). این کاهش LTP در حیوانات نوروپاتی خود گویای ایجاد تغییراتی مشابه با LTP و شکل‌پذیری سیناپسی در شاخ خلفی نخاع توسط خود

جهت درک بهتر و کامل‌تر مکانیسم‌های مرکزی دخیل در درد نوروپاتی نیاز به مطالعه بیشتر رفتارها و تغییرات الکتریکی نوروپاتی در مدل‌های مختلف نوروپاتی می‌باشد. در مطالعه حاضر، از مدل نوروپاتی محیطی SNL که کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است، استفاده شد. نتایج رفتاری نشان داد که شدت آلودگینی مکانیکی بدنبال مدل SNL بیشتر از هیپرآلزی حرارتی بوده و از روز ۲ بعد از نوروپاتی شروع شده و تا ۲۸ روز ادامه داشت. نتایج بررسی الکتروفیزیولوژی حاضر نشان داد که قطع عصب نخاعی L۵ در گروه نوروپاتی منجر به کاهش معنی‌دار آستانه تحریک فیرهای A-Delta و C در روز ۱۴ بعد از نوروپاتی شد. این موضوع نشان می‌دهد که نوروپاتی منجر به افزایش حساسیت فیرهای A-Delta و C در نتیجه افزایش تحریک‌پذیری نوروپاتی WDR در شاخ خلفی نخاع شده است. بدعلت همین افزایش تحریک‌پذیری نوروپاتی WDR در گروه نوروپاتی خیلی راحت‌تر از گروه شم بود. Xing و Field همکارانش با استفاده از تکنیک ثبت خارج سلولی Field potential recording آستانه فیرهای C و نیز افزایش دامنه پتانسیل عمل در روز ۷ بعد از نوروپاتی می‌شود [۱۱]. با توجه به نتایج حاضر، می‌توان این‌گونه توضیح داد که احتمالاً قطع عصب L۵ منجر به افزایش تخلیه الکتریکی و پتانسیل عمل در فیرهای آسیب دیده و در نتیجه حساس شدن محیطی می‌شود [۱۹]. همچنان، ممکن است فاکتورهای التهابی آزاد شده در محل ضایعه عصبی نیز در این حساس شدن محیطی نقش داشته باشند [۲۰]. این افزایش تخلیه الکتریکی در فیرهای محیطی به سمت شاخ خلفی نخاع گسترش یافته و منجر به تخلیه الکتریکی پشت سر هم (Repetitive) نوروپاتی پس سیناپسی شاخ خلفی نخاع می‌شوند. تخلیه الکتریکی پشت سر هم نوروپاتی پس سیناپسی نخاع می‌تواند منجر به بروز پدیده حساس شدن مرکزی در نخاع شود [۲۱]. به همین علت در مطالعه حاضر آستانه فعالسازی فیرهای A-Delta و C در حیوانات نوروپاتی کمتر از حیوانات شم بود. پدیده حساسی مرکزی نقش مهمی در ایجاد حافظه درد در نخاع دارد. بدلیل ایجاد حافظه درد در سیستم اعصاب مرکزی بیماران نوروپاتی، ممکن است که بیماران حتی با وجود درمان کامل عصب آسیب دیده درد را احساس کنند. LTP یکی از انواع حساسیت مرکزی در نخاع بوده که می‌تواند باعث مزمن شدن درد نوروپاتی شود [۲۲]. LTP به معنای تسهیل بلند مدت قدرت سیناپسی است که در پاسخ به تحریکات شدید و دردناک مکانیکی، الکتریکی و یا شبیه‌سازی اعصاب محیطی و یا مرکزی ایجاد می‌شود [۲۳].

در سطح نورون‌های شاخ خلفی و در نتیجه مزمن شدن درد نوروپاتی می‌شود [۳۰].

### نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های این مطالعه می‌توان گفت که رفتارهای هیپرآلژی و آلودنیای دیده شده، در روز ۱۴ بعد از نوروپاتی مدل SNL به بیشترین مقدار خود رسید و نیز افزایش تحریک پذیری نورون‌های شاخ خلفی نخاع در روز ۱۴ بود. بنابراین، شاید LTP یکی از مکانیسم‌های سلولی دخیل در تداوم رفتارهای هیپرآلژی و آلودنیا به دنبال نوروپاتی مدل SNL باشد. علاوه بر این، تحریک پرفراکنس عصب سیاتیک منجر به القای LTP باشد بیشتری در حیوانات نوروپاتیک نسبت به حیوانات شم شد. کاهش شدت LTP در حیوانات نوروپاتیک گویای این احتمال است که تغییرات مشابه با LTP توسط خود نوروپاتی در شاخ خلفی ایجاد شده و تاحدی این پدیده و پلاستیسیتی سیناپسی را توضیح می‌دهد. بنابراین، شاید بتوان با ممانعت از بروز LTP، از مزمن شدن درد نوروپاتی جلوگیری نمود. بدیهی است که الگوی زمان بندی و شدت پاسخ‌های رفتاری و الکتروفیزیولوژی دیده شده در مطالعه حاضر، با توجه به نوع مدل نوروپاتی و شدت آسیب عصبی (محیطی یا مرکزی)، نوع تحریک اعصاب محیطی، الگوی تحریکات و نیز نوع عصب تغییر می‌کند. لذا، شناخت دقیق مکانیسم‌های دخیل در بیان و تداوم LTP نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

### تشکر و قدردانی

از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی جهت حمایت مالی این پژوهه تشکر و قدردانی می‌شود.

### References:

- [1] Hama AT, Borsook D. Behavioral and pharmacological characterization of a distal peripheral nerve injury in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 2005; 81(1): 170-81.
- [2] Mendell LM. Computational functions of neurons and circuits signaling injury: Relationship to pain behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108 Suppl 3: 15596-601.
- [3] von Hehn CA, Baron R, Woolf CJ. Deconstructing the neuropathic pain phenotype to reveal neural mechanisms. *Neuron* 2012; 73(4): 638-52.
- [4] Ikeda H, Kiritoshi T, Murase K. Synaptic plasticity in the spinal dorsal horn. *Neurosci Res* 2009; 64(2):133-6.
- [5] Ji RR, Kohno T, Moore KA, Woolf CJ. Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms? *Trends Neurosci* 2003; 26(12): 696-705.
- [6] Svendsen F, Tjolsen D, Rykkja F, Hole K. Behavioral effect of LTP inducing-sciatic nerve stimulation in the rat. *Eur J Pain* 1999; 3(4): 355-63.
- [7] Bliss TV, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 1973; 232(2): 331-56.
- [8] Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell* 2009; 139(2): 267-84.

نوروپاتی می‌باشد؛ بدین صورت که در حیوانات شم بسیاری از سیناپس‌ها در شاخ خلفی خاموش و غیر فعال بوده، اما بعد از قطع عصب نخاعی  $\Delta$  بسیاری از سیناپس‌های نخاعی در گروه نوروپاتی فعال می‌شوند. این تغییر حالت سیناپس‌ها از خاموشی به فعالیت منجر به افزایش پاسخ نورون‌های WDR شاخ خلفی در حیوانات نوروپاتی شده که این موضوع در پاسخ پایه نورون در WDR در شکل شماره ۸ مشهود بوده و افزایش پاسخ نورون‌های WDR در حیوانات نوروپاتی را نشان می‌دهد. لذا، بعد از اعمال HFS، با توجه به فعال بودن بیشتر سیناپس‌ها در حیوانات نوروپاتی، طبق انتظار شاهد کاهش تغییرات پتانسیل عمل قبل و بعد از اعمال HFS هستیم؛ زیرا بعد از اعمال محرک پرفراکنس دیگر سیناپس خاموش زیادی باقی نمانده تا شروع به تخلیه کند. بنابراین، بعد از اعمال محرک HFS در حیوانات نوروپاتی به علت کاهش ظرفیت سیناپس‌ها، تعداد پتانسیل‌های عمل به اندازه گروه شم افزایش نمی‌یابد. این در حالی است که، در گروه شم قبل از اعمال محرک HFS تعداد کمی از سیناپس‌ها فعال بوده و در نتیجه محرک HFS باعث شدن تعداد بیشتری از سیناپس‌های خاموش نسبت به گروه نوروپاتی می‌شود. بهطور کلی، چندین علت پاتولوژیک ناشی از قطع عصب نخاعی  $\Delta$  ممکن است منجر به القای حساسیت LTP در سطح نخاع شود: ۱- قطع عصب  $\Delta$  منجر به تولید پتانسیل‌های عمل خودبه‌خودی در محل این عصب می‌شود؛ ۲- فعالیت خودبه‌خودی آکسون‌های آسیب دیده تا نورون‌های DRG و نخاع گسترش می‌یابد؛ ۳- علاوه بر این، تغییرات الکتریکی ناشی از قطع عصب  $\Delta$  می‌تواند منجر به بیان طیف وسیعی از آنژیم‌ها، کانال‌ها و فاکتورهای شیمیایی در عصب آسیب دیده، بافت هدف، نورون‌های DRG و نخاع شود؛ ۴- در LTP نهایت مجموع این تغییرات الکتریکی و شیمیایی منجر به بیان

- [9] Sandkuhler J. Understanding LTP in pain pathways. *Mol Pain* 2007; 3: 9.
- [10] Woolf CJ. Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain* 2011; 152(3 Suppl): S2-15.
- [11] Xing GG, Liu FY, Qu XX, Han JS, Wan Y. Long-term synaptic plasticity in the spinal dorsal horn and its modulation by electroacupuncture in rats with neuropathic pain. *Exp Neurol* 2007; 208(2): 323-32.
- [12] Svendsen F, Tjolsen A, Hole K. LTP of spinal A beta and C-fiber evoked responses after electrical sciatic nerve stimulation. *Neuroreport* 1997; 8(16): 3427-30.
- [13] Rygh LJ, Tjolsen A, Hole K, Svendsen F. Cellular memory in spinal nociceptive circuitry. *Scand J Psychol* 2002; 43(2): 153-9.
- [14] Campbell JN, Meyer RA. Mechanisms of neuropathic pain. *Neuron* 2006; 52(1): 77-92.
- [15] Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 1992; 50(3): 355-63.
- [16] D'Mello R, Dickenson AH. Spinal cord mechanisms of pain. *Br J Anastasia* 2008; 101(1): 8-16.
- [17] Nazemi S, Manaheji H, Zaringhalam J, Sadeghi M, Haghparast A. Post-injury repeated administrations of minocycline improve the antinociceptive effect of morphine in chronic constriction injury model of neuropathic pain in rat. *Pharmacol Biochem Behav* 2012; 102(4): 520-5.
- [18] Svendsen F, Rygh LJ, Gjerstad J, Fiska A, Hole K, Tjolsen A. Recording of long-term potentiation in single dorsal horn neurons in vivo in the rat. *Brain Res Brain Res Protoc* 1999; 4(2): 165-72.
- [19] Sandkuhler J. Learning and memory in pain pathways. *Pain* 2000; 88(2): 113-8.
- [20] Martucci C, Trovato AE, Costa B, Borsani E, Franchi S, Magnaghi V, et al. The purinergic antagonist PPADS reduces pain related behaviors and interleukin-1 $\beta$ , interleukin-6, iNOS and nNOS overproduction in central and peripheral nervous system after peripheral neuropathy in mice. *Pain* 2008; 137(1): 81-95.
- [21] Pockett S. Long-term potentiation and depression in the intermediate gray matter of rat spinal cord in vitro. *Neuroscience* 1995; 67(4): 791-98.
- [22] Qu XX, Cai J, Li MJ, Chi YN, Liao FF, Liu FY, et al. Role of the spinal cord NR2B-containing NMDA receptors in the development of neuropathic pain. *Exp Neurol* 2009; 215(2): 298-307.
- [23] Randic M, Jiang MC, Cerne R. Long-term potentiation and long-term depression of primary afferent neurotransmission in the rat spinal cord. *J Neurosci* 1993; 13(12): 5228-41.
- [24] Rygh LJ, Svendsen F, Hole K, Tjolsen A. Natural noxious stimulation can induce long-term increase of spinal nociceptive responses. *Pain* 1999; 82(3): 305-10.
- [25] Sandkuhler J, Liu X. Induction of long-term potentiation at spinal synapses by noxious stimulation or nerve injury. *Eur J Neurosci* 1998; 10(7): 2476-80.
- [26] Svendsen F, Rygh LG, Gjerstad J, Fiska A, Hole K, Tjolsen A. Recording of long term potentiation in single dorsal horn neurons in vivo in the rat. *Brain Res Protoc* 1999; 4(2): 165-72.
- [27] Liu XG, Sandkuhler J. Long-term potentiation of C-fiber-evoked potentials in the rat spinal dorsal horn is prevented by spinal NeuroreN-methyl-D-aspartic acid receptor blockage. *Neurosci Lett* 1995; 191(1-2): 43-6.
- [28] Wang ZY, Zhang YQ, Zhao ZQ. Inhibition of tetanically sciatic stimulation-induced LTP of spinal neurons and Fos expression by disrupting glutamate transporter GLT-1. *Neuropharmacology* 2006; 51(4): 764-72.
- [29] Almeida A, Tavares I, Lima D, Coimbra A. Descending projections from the medullary dorsal reticular nucleus make synaptic contacts with spinal cord lamina I cells projecting to that nucleus: an electron microscopic tracer study in the rat. *Neuroscience* 1993; 55(4): 1093-106.
- [30] Nickel FT, Seifert F, Lanz S, Maihofner C. Mechanisms of neuropathic pain. *Eur Neuropsychopharmacology* 2012; 22(2): 81-91.