Physiology and Pharmacology, 14 (4), 397-405
Winter 2011 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Downloaded from ppj.phypha.ir at 23:55 +0330 on Monday September 23rd 2019

Microinfusion of TNFα and its antibody into locus coeruleus modifies nerve injury induced thermal hyperalgesia and mechanical allodynia

Kambiz Rohampour[1], Homa Manaheji[2], Saeed Semnanian[1*], Hossein Azizi[1]

1. Dept. Physiology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Dept. Physiology, School of Medicine, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 23 April 2010 **Accepted: 25 July 2010**

Abstract

Introduction: Glial activation and secretion of cytokines at the spinal level is known as part of chronic pain pathogenesis. Although changes in TNFα at the supraspinal level are reported during chronic pain, its exact role and site of action remain to be elucidated. We investigated the effect of microinfusion of TNFα into the LC in a rat model of neuropathic pain.

Methods: Male Wistar rats were cannulated in the LC. The cannula was connected to an Alzet mini-osmotic pump, which was filled by the drug (vehicle, TNFα or TNFα-antibody) and placed subcutaneously behind the neck. Twenty four-48 hours after cannulation, a chronic constriction injury (CCI) surgery was performed on the contralateral sciatic nerve. Hyperalgesia and allodynia symptoms were assessed 2, 4, 6, 8, 10 and 12 days after CCI.

Results: Microinfusion of TNFα (100ng/day) into the LC significantly exacerbated the hyperalgesia in rat models of neuropathic pain on days 2 and 8 after CCI. On the other hand, microinfusion of TNFα antibody (250ng/day) decreased the symptoms of hyperalgesia on days 2, 4, 6, 8, 10 and 14. TNFα antibody also significantly alleviated the CCI-induced allodynia.

Conclusion: These data suggest that alterations of TNFα levels in the LC play a crucial role in the development and maintenance of neuropathic pain.

Key words: Neuropathic Pain, TNFα, Allodynia, Hyperalgesia

*Corresponding author e-mail: ssmenan@modares.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

Downloaded from ppj.phypha.ir at 23:55 +0330 on Monday September 23rd 2019

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۴ (٤)، ۳۹۷ – ٤۰۵
زمستان ۱۳۸۹

فیزیولوژی و فارماکولوژی

انفوزیون TNFα و آنتی‌بادی آن به داخل هسته لوکوس سرولئوس پردردی حرارتی و آلودینیای مکانیکی ناشی از آسیب عصبی را تعدیل می‌کند

کامبیز رهام پور[۱]، هما مناهجی[۲]، سعید سمنانیان[۱]، حسین عزیزی[۱]
۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۲. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

دریافت: ۳ اردیبهشت ۸۹ پذیرش: ۳ مرداد ۸۹

چکیده

مقدمه: بخشی از پاتوژنز درد مزمن به نقش سلول‌های گلیا و سیتوکین‌های ترشح شده از آنها در سطح نخاع نسبت داده می‌شود. علی‌رغم تغییرات سطح TNFα در برخی نواحی مغز طی درد مزمن، هنوز نقش و جایگاه اثر فوق نخاعی این عامل تنظیم کننده عصبی مشخص نشده است. در این پژوهش اثر انفوزیون TNFα و آنتی‌بادی آن به داخل هسته LC طی آسیب فشاری مزمن (CCI) عصب سیاتیک بررسی شده است.

روش‌ها: در این پژوهش از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (وزن ۳۰۰–۲۵۰ گرم) استفاده شد. ابتدا کانول‌گذاری در مختصات هسته LC انجام شد و همزمان پمپ کوچک اسمزی حاوی دارو (حلال، TNFα، آنتی‌بادی TNFα) در زیر پوست گردن حیوان کاشته شد. ۴۸–۲۴ ساعت بعد موش های صحرایی تحت جراحی CCI یا جراحی کاذب روی پای مقابل قرار می‌گرفتند. رفتارهای دردی موش های صحرایی قبل از جراحی CCI و ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۴ روز پس از جراحی با آزمون‌های پردردی حرارتی و آلودینیا مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: انفوزیون داخل هسته‌ای TNFα نوترکیب به میزان ۱۰۰ نانوگرم در روز، پردردی موش‌های صحرایی گروه CCI را در روزهای ۲ و ۸ (P<۰/۰۵) تشدید کرد. انفوزیون آنتی‌بادی TNFα به داخل هسته LC به میزان ۲۵۰ نانو گرم در روز، پردردی ناشی از CCI را در روزهای ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ پس از نوروپاتی به‌طور معنی داری کاهش داد. آنتی‌بادی TNFα همچنین در آلودینیای مشاهده شده در موش‌های صحرایی نوروپاتیک بهبود معنی‌داری ایجاد نمود.

نتیجه‌گیری: این یافته‌ها بیانگر آنست که تغییرات سطح TNFα ی موجود در هسته LC در ایجاد و تداوم پردردی و آلودینیای ناشی از آسیب عصبی نقش اساسی ایفاء می‌کند.

واژه‌های کلیدی: درد نوروپاتیک، آسیب عصبی، آلودینیا، پردردی، عامل نکروزی تومور (TNFα).

مقدمه

درد نوروپاتیک نوعی درد مزمن است که در اثر تحریکات آسیب‌رسان طولانی مدت و شدید ویا آسیب عصبی شکل می‌گیرد. فعال شدن مداوم آوران‌های درد در پاسخ به آسیب بافتی یا آسیب عصب محیطی، باعث تغییرات بلند مدت عملکردی در CNS می‌شوند که موجب تقویت و تداوم درد می‌گردد (۱۰). نورون‌های نورآدرنرژیک گروه A6 نواحی خلفی پل مغزی یا همان هسته لوکوس سرولئوس (LC) حاوی عمده نورآدرنالین

*نویسندهٔ مسئول مکاتبات: ssmenan@modares.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

Downloaded from ppj.phypha.ir at 23:55 +0330 on Monday September 23rd 2019

سیستم عصبی مرکزی و شبکه پیچیده‌ای از استطاله‌ها می‌باشند که در تنظیم دوسویه درد نقش ایفا می‌کند (۶،۷،۱۷). مطالعات بسیاری موید درگیر شدن هسته LC با محرکهای آسیب رسان، التهاب و همچنین آسیب عصبی است که موجب پیشبرد مهار بازخوردی درد می‌گردد (۱۲،۱۳). از جمله تخریب نورون‌های نورآدرنرژیک LC پردردی حرارتی ناشی از التهاب و پاسخ‌دهی نورون‌های شاخ خلفی را افزایش می‌دهد (۲۶،۲۷). شواهدی وجود دارد که هسته LC نیز مانند نواحی سری شکمی بصل‌النخاع [1] (RVM) باعث تسهیل درد می‌شود. در واقع نظریه‌های فعلی بیش حساسیتی نوروپاتیک [2] شامل برهم خوردن تعادل بین این مهار و تسهیل است (۱۶،۲۵).

شواهد قابل توجهی بیانگر نقش سیتوکین چندکاره TNF-α در پاتوژنز درد مزمن می‌باشد و آنرا به‌عنوان عامل زمینه‌ساز درد [3]، ضروری می‌دانند. احتمالاً پردردی توسط افزایش سطح TNF-α میانجی‌گری می‌شود (۱۴،۹). در واقع درد در اثر تغییرات سازشی نامناسب در CNS، مزمن میگردد که یکی از این تغییرات، حاصل افزایش موضعی سطح TNF-α در برخی از مناطق مغز است (۱۱). فعالیت زیستی عامل نکروزدهنده تومور-آلفا (TNF-α) طی پردردی، در برخی نواحی مغز، خصوصاً ساقه مغز ازجمله در هسته لوکوس سرولئوس افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد و با از بین رفتن پردردی، دوباره به سطح پایه فعالیت خود بر می‌گردد. مشخص شده است که علاوه بر تجمع TNF-α در مناطقی از مغز، وجود TNF-α برای ایجاد پردردی ضروری است (۴،۵،۹). این افزایش سطح TNF-α فعال در مغز، ربطی به تغییرات سیستمیک TNFα به‌دنبال پاسخ التهابی ندارد، چون بطور اختصاصی در برخی از مناطق سیستم عصبی مرکزی رخ می‌دهد. فرضاً در آسیب فشاری مزمن [4] (CCI) عصب سیاتیک، در حالیکه سطح پلاسمایی TNF-α کاهش می‌یابد، شاهد افزایش بیان mRNA عامل نکروزدهنده تومور در مناطقی مانند هسته لوکوس سرولئوس و هیپوکمپ هستیم که با دوره زمانی مشاهده علائم رفتاری پردردی بعد از CCI مطابقت دارد و همزمان با برطرف شدن پردردی (روز چهاردهم) سطح TNF-α هم به مقدار پایه بر می‌گردد (۴). به علاوه، تزریق داخل بطن مغزی [5] TNF-α هم به تنهایی می‌تواند باعث ایجاد پردردی شود، بنابراین TNF-α با اثرگذاری بر جایگاهی در CNS باعث القاء پردردی می‌شود (۱۸). تجویز Thalidomide، یک مهارکننده ساخت TNF-α، قبل از عمل ایجاد نوروپاتی آزمایشگاهی، ضمن تضعیف افزایش میزان TNF-α، مانع از ایجاد پردردی می‌شود (۲۴). تجویز داخل بطنی TNF-α، ضمن ایجاد پردردی در موش های سالم، میزان پردردی در موش های تحت CCI را تشدید می‌کند. تجویز داخل بطنی آنتی‌بادی پلی‌کلونال علیه TNF-α در روز چهارم پس از CCI، در موش های واجد آسیب عصبی، پردردی را متوقف می‌کند و در برخی موارد حتی باعث کاهش احساس درد [6] می‌شود (۹). در ضمن ترشح نورآدرنالین در مغز نیز توسط TNF-α تنظیم می‌شود (۸،۲۳). افزایش تولید این سیتوکین توسط نواحی نورآدرنرژیک مغز (هسته لوکوس سرولئوس و هیپوکمپ) عامل اساسی در شکل‌گیری درد مرکزی یا نوروپاتیک است. افزون بر این افزایش سطح، TNF-α، باعث تنظیم فعالیت نورون های نورآدرنرژیک مغز طی درد می‌شود (۴،۲۳). با توجه به اینکه نقش TNF در القاء پردردی مشخص شده ولی محل دقیق اثر آن در CNS ناشناخته است بر آن شدیم که اثر انفوزیون این سیتوکین را در هسته LC بر رفتار دردی موش های صحرایی سالم و نوروپاتیک ارزیابی کنیم.

مواد و روشها

این مطالعه روی موش های صحرایی نر نژاد Wistar (۳۰۰-۲۵۰ گرم) انجام شد که در قفس‌های ۴ تایی با دسترسی آزاد به آب و غذا و با یک چرخه ۱۲ ساعت روشنایی- ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند. گروه‌های آزمایش شامل گروه جراحی کاذب، گروه آسیب نوروپاتیک، گروه‌های نوروپاتیکی که حلال دارو، TNFα و یا آنتی‌بادی TNFα (TNF-Ab) را به صورت داخل هسته‌ای دریافت کردند،

1. Rostral ventral medulla (RVM)
2. Neuropathic hypersensitivity
3. Pronociceptive
4. Chronic Constriction Injury (CCI)
5. Intracerebroventricular (icv)
6. Hypoalgesia

Downloaded from ppj.phypha.ir at 23:55 +0330 on Monday September 23rd 2019

می باشند. در هر گروه آزمایشی ۶ سر موش صحرایی مورد ارزیابی قرار گرفت.

کارگذاری پمپ‌های کوچک اسمزی و انفوزیون مداوم دارو: با توجه به ماهیت TNFα که به صورت مزمن اثر می‌کند و برای کاهش تخریب بافت مغزی از پمپ‌های کوچک اسمزی۱ مدل ۱۰۰۴ ساخت شرکت Alzet استفاده شد. این پمپ دارو را به‌طور مداوم و با سرعت ۱۰۰ نانولیتر در ساعت تخلیه می‌کند. محفظه دارو در پمپ‌های مذکور با یک لایه غشای نیمه‌تراوا و یک لایه نمکی احاطه شده‌اند (شکل ۱).

کانول‌گذاری: موش های صحرایی در دستگاه استرئوتاکسی قرار می‌گرفتند و مطابق مختصات اطلس پاکسینوس کانولهای شماره ۲۷ در مختصات هسته LC (۹/۸ میلیمتر خلفی تر نسبت به برگما، ۱/۳ میلیمتر از خط میانی و ۷/۳ میلیمتر از سطح دورا) قرار می‌گرفت (۱۹). این جراحی دو روز قبل از جراحی ایجاد نوروپاتی انجام می‌شد. پمپ اسمزی پر شده با دارو زیر پوست پشت گردن قرار می‌گرفت و توسط یک لوله پلی‌اتیلن به کانول متصل می‌گردید. پمپ اسمزی پر شده با دارو برای ۴۸-۲۴ ساعت قبل از جراحی در سالین قرار می گرفت تا لوله پلی‌اتیلن رابط هم از دارو پر شود.

روش ایجاد نوروپاتی: برای ایجاد مدل CCI از روش Bennett و Xie استفاده گردید (۳) که ۴۸-۲۴ ساعت پس از کانول‌گذاری روی پای سمت مقابل حیوان انجام شد. حیوانات پس از توزین با تزریق کتامین به میزان ۱۰۰ mg/kg و زایلوزین به مقدار ۱۰ mg/kg به صورت i.p.، بیهوش شده، موهای پشت ران حیوان را به طور کامل تراشیده و با استفاده از تیغ بیستوری شکافی ۲ سانتیمتری روی پوست و سپس عضله پای راست حیوان ایجاد می‌گردید. پس از نمایان شدن عصب سیاتیک با استفاده از نخ بخیه کرومیک ۴/۰ چهار گره شل با فواصل ۱ میلیمتری قبل از محل سه شاخه شدن عصب زده می‌شد. سپس عضله و پوست با نخ بخیه سیلک ۴/۰ دوخته می‌شد. اما در گروه sham پس از نمایان شدن عصب سیاتیک بدون دستکاری عصب، عضله و پوست دوخته می‌شد.

آزمون‌های رفتاری ارزیابی درد: رفتارهای دردی موش های صحرایی قبل از جراحی CCI و همچنین ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۴ روز پس از جراحی با آزمون‌های زیر مورد بررسی قرار می‌گرفت:

آزمون پردردی حرارتی: با استفاده از دستگاه Radiant heat (ساخت شرکت Igobasile) موش صحرایی در محفظه‌ای از جنس پلکسی گلاس قرار می‌گرفت و اشعه حرارتی به بخش میانی کف پای سالم و سپس پای آسیب دیده حیوان تابانده شده، زمان پس کشیدن پا (latency) ثبت می‌گردید. این آزمون ۳ بار با فواصل زمانی ۵ دقیقه انجام می‌شد و میانگین تاخیر پس کشیدن پای سالم از میانگین تاخیر پس کشیدن پای آسیب دیده کسر می‌شد و تفاوت تاخیر بررسی می‌شد.

آزمون آلودینیا: در این آزمون حیوان بر روی یک شبکه سیمی که با دیواره‌هایی از جنس پلکسی گلاس به ابعاد ۲۰ ۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتیمتر احاطه شده است قرار می‌گیرد. پس از ۲۰ دقیقه عادت کردن حیوان به محیط جدید، برای سنجش آلودینیای مکانیکی، از تارهای Von Frey ۱ تا ۶۰ گرم (۶۰-۲۶-۱۵-۸-۶-۴-۲-۱) ساخت شرکت Stoelting استفاده شد. در هر آزمون تاری که فشار کمتری وارد می‌کرد به کف پای حیوان زده می‌شد و در صورت عدم پاسخ تار با وزن بالاتر استفاده می‌شد. هر تار سه بار متوالی با فواصل ۵ ثانیه به کار می‌رفت. اگر موش پایش را ۲ بار از این ۳ آزمون پس می‌کشید، وزن آن تار به عنوان آستانه پاسخ حیوان ثبت می‌شد. اگر حیوان به هیچ یک از تارها پاسخ نمی‌داد، عدد ۶۰ به عنوان پاسخ ثبت می‌گردید (۱۵).

آنالیز آماری: برای ارزیابی آماری پاسخ‌های رفتاری از نرم افزار Instat استفاده شد و با آزمون Bartlett توزیع داده ها بررسی شد و برای داده هایی که توزیع نرمال داشتند از آزمون ANOVA یکطرفه و Post hoc نوع Tukey استفاده شد. برای داده هایی که توزیع نرمال نداشتند از آزمون Kruskal-Wallis بهره گرفتیم.

یافته ها

الف) پردردی حرارتی: ۱. انفوزیون TNFα به داخل هسته LC پردردی ناشی از آسیب عصبی CCI را تشدید کرد. انفوزیون داخل هسته‌ای TNFα نوترکیب موش صحرایی به

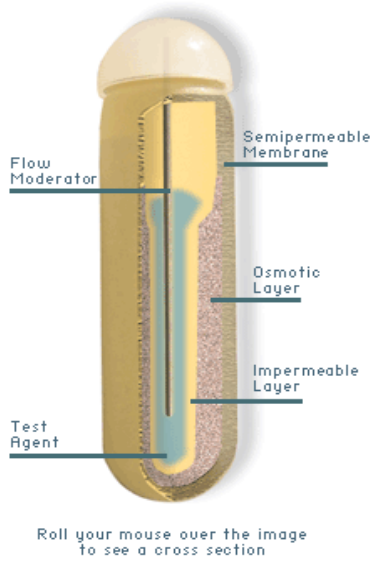
1. Mini Osmotic pump

Downloaded from ppj.phypha.ir at 23:55 +0330 on Monday September 23rd 2019

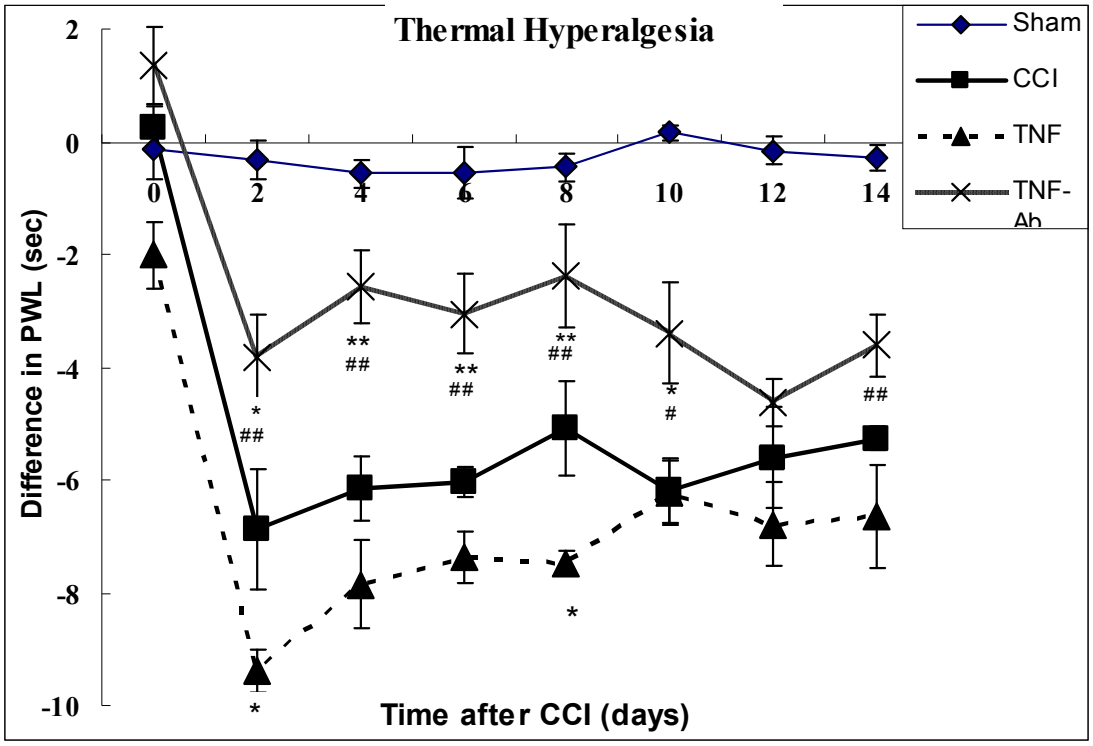
میزان ۱۰۰ نانوگرم در روز که از ۲ روز قبل از آسیب عصبی برقرار شده و تا ۱۴ روز بعد ادامه داشت، در موش هایی که دچار CCI شده بودند پر دردی را تشدید کرد. این افزایش پردردی که به صورت افزایش در اختلاف تاخیر پس کشیدن پای آسیب دیده نسبت به پای سالم نشان داده شده است (شکل ۲) هرچند در تمام روز ها افزایش درد مشاهده گردید اما این افزایش تنها در روزهای ۲ و ۸ معنی دار بود (ANOVA ی یکطرفه با تست Post hoc نوع Tukey، P<۰/۰۵).

۲. قطع انفوزیون TNFα در روز ۹ باعث کاهش پردردی می شود.

در ۲ سر از موش های صحرایی لوله پلی‌اتیلن ارتباطی بین پمپ و کانول تزریق دارو در روز ۹ پس از آسیب قطع شد و انفوزیون داخل هسته‌ای TNFα متوقف گردید. اختلاف زمان پس کشیدن پا در این دو حیوان کاهش یافته که بیانگر کاهش میزان پردردی القاء شده می باشد (شکل۳). قابل توجه اینکه این کاهش اختلاف زمان پس کشیدن پا در روزهای ۱۲

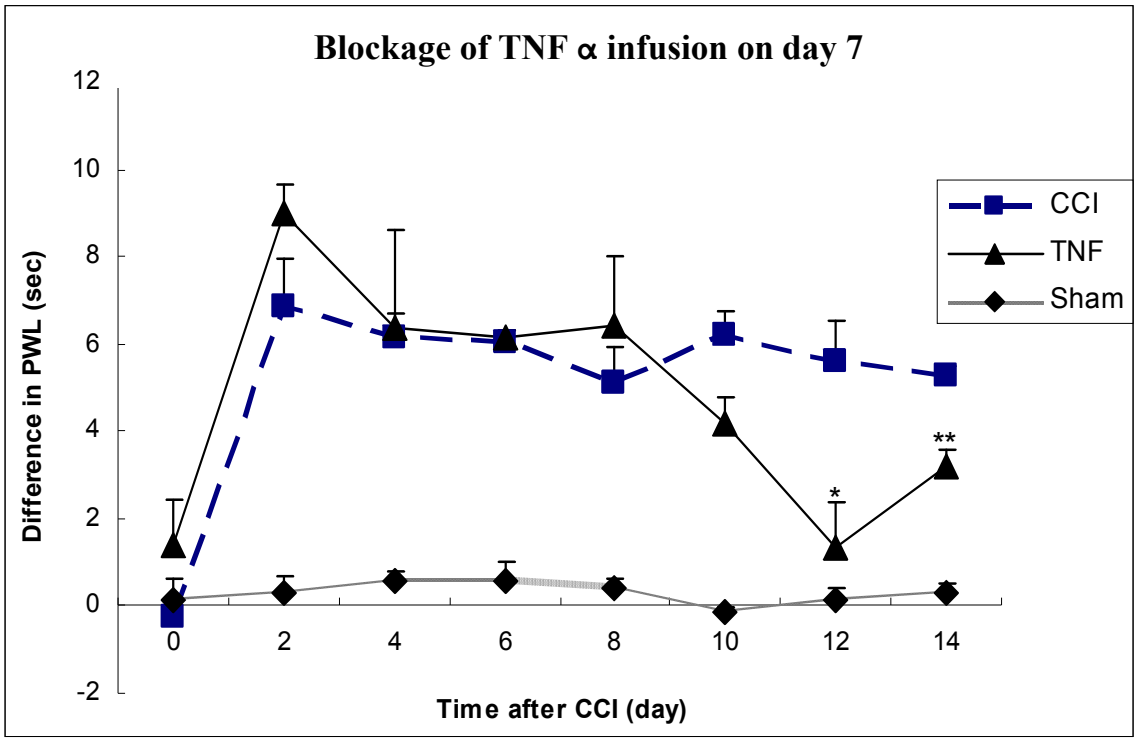


شکل ۱- شکل شماتیک پمپ کوچک اسمزی و اجزای داخلی آن.
آب مایعات خارج سلولی در اثر فشار اسمزی لایه نمکی از خلال لایه نیمه‌تروا عبور می‌کند و حجم مخزن دارو را کاهش می‌دهد. افزایش فشار مخزن دارو موجب بیرون رانده شدن دارو از لوله تنظیم کننده جریان می‌شود.



شکل ۲- تاثیر انفوزیون TNFα و آنتی بادی آن به داخل هسته لوکوس سرولئوس (LC) بر پاسخ پر دردی حرارتی در موشهای صحرایی نوروپاتیک. انفوزیون داخل هسته‌ای TNFα با غلظت ۱۰۰ نانوگرم در روز (نمودار منقطع ▲) توانست اختلاف زمان بین پس کشیدن پای سالم و آسیب دیده را در روزهای ۲ و ۸ پس از CCI نسبت به گروه آسیب عصبی افزایش دهد. اما انفوزیون داخل هسته‌ای آنتی بادی TNFα با غلظت ۲۵۰ نانوگرم در روز (نمودار پیوسته) پردردی ناشی از آسیب عصبی را به طور معنی داری کاهش داد (ANOVA, n=6 ی یکطرفه با تست Post hoc نوع Tukey). * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001, * TNF vs CCI or TNF-Ab vs CCI, # TNF-Ab vs TNF

Downloaded from ppj.phypha.ir at 23:55 +0330 on Monday September 23rd 2019



شکل ۳- قطع انفوزیون داخل هسته‌ای TNFα در روز ۹ پس از آسیب عصبی باعث کاهش پردردی گردید. قطع لوله پلی‌اتیلن ارتباطی بین پمپ و کانول تزریق دارو در روز ۹ پس از آسیب عصبی (نمودار صورتی رنگ) اختلاف زمان پس کشیدن پای حیوان را کاهش داده که بیانگر کاهش میزان پردردی حتی به میزانی کمتر از گروه CCI (نمودار سرمه‌ای رنگ) می‌باشد. (* P<0.05, ** P<0.01, T-test, n=2).

(P<۰/۰۵) و ۱۴ (P<۰/۰۱) به‌صورت معنی‌داری از اختلاف زمان مشاهده شده در گروه CCI نیز کمتر بود.

۳. انفوزیون آنتی‌بادی TNFα به داخل هسته LC پردردی ناشی از آسیب عصبی CCI را کاهش داد.

هرچند انفوزیون آنتی‌بادی TNFα به داخل هسته LC به میزان ۱۲۵ نانوگرم در روز هم توانست میزان تاخیر در پس کشیدن پای آسیب دیده را کاهش دهد (داده‌ها ارائه نشده است). اما دوز ۲۵۰ نانو گرم در روز توانست اختلاف زمان پس کشیدن پاهای سالم و آسیب دیده را به طور موثرتری کاهش دهد (شکل ۲). گروهی که قبل از آسیب نوروپاتیک آنتی بادی TNFα دریافت کرده در مقایسه با گروهی که تنها دچار آسیب عصبی شده است، اختلاف زمان کمتری بین پس کشیدن پای سالم وآسیب دیده‌اش نشان داد. این بدین مفهوم است که حضور آنتی‌بادی TNFα توانسته پردردی ناشی از CCI را کاهش دهد. این کاهش در روزهای ۲، ۴، ۶ و ۸ پس از آسیب عصبی با P<۰/۰۰۱، در روز دهم با P<۰/۰۵ و در روز چهاردهم با P<۰/۰۱ از نظر آماری معنی دار بوده است (ANOVA ی یکطرفه با تست Post hoc نوع Tukey).

ب) آلودینیا:

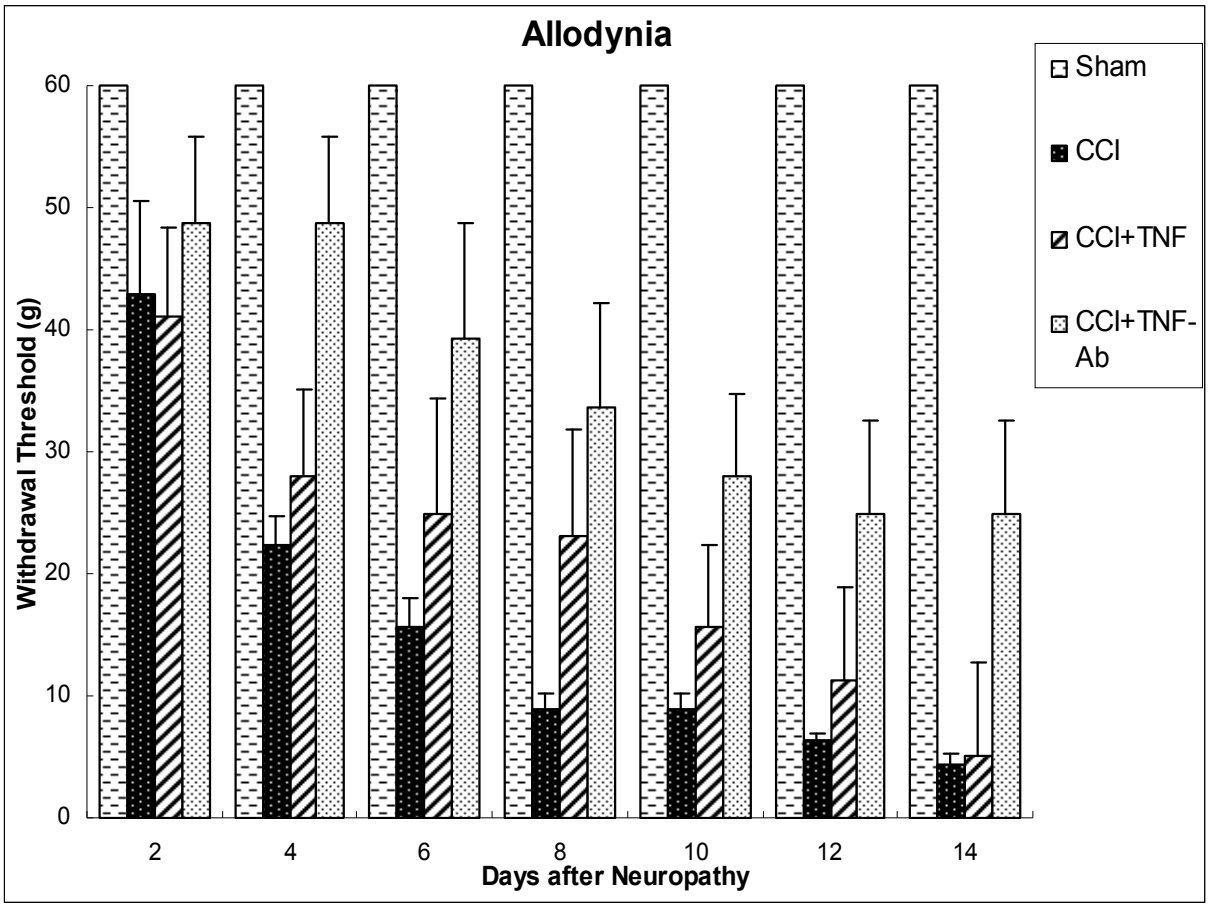
۱. انفوزیون TNFα به داخل هسته LC اثری روی آلودینیای ناشی از آسیب عصبی CCI نداشت.

انفوزیون داخل هسته‌ای TNFα نوترکیب موش صحرایی به میزان۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم در روز که از ۲ روز قبل از آسیب عصبی تجویز می‌شد، نتوانست اثر معنی‌داری روی نمره آلودینیای موش های صحرایی ایجاد نماید.

۲. انفوزیون آنتی‌بادی TNFα به داخل هسته LC آلودینیای ناشی از آسیب عصبی CCI را کاهش داد.

انفوزیون آنتی‌بادی TNFα به داخل هسته LC به میزان ۲۵۰ نانو گرم در روز توانست آلودینیای موش های صحرایی را که دچار آسیب عصبی شده بودند به‌طور معنی‌داری بهبود بخشد. موش های صحرایی که دچار آسیب عصبی شده بودند در هفته دوم پس از آسیب که آلودینیا کاملا شکل گرفته بود میانگین شماره تارهای Von Frey که موجب پس کشیدن پای حیوان می‌شد ۱/۳۷ ± ۵/۷۵ بود. اما در گروه نوروپاتیکی

Downloaded from ppj.phypha.ir at 23:55 +0330 on Monday September 23rd 2019



شکل ٤- مقایسه آستانه تحمل فشار مکانیکی (آلودینیا) در گروه های مختلف. انفوزیون آنتی بادی TNFα با غلظت ۲۵۰ نانوگرم در روز به داخل هسته LC آلودینیای ناشی از آسیب عصبی را به‌طور معنی داری کاهش داد. اما انفوزیون داخل هسته‌ای TNFα با غلظت ۱۰۰ نانوگرم در روز اثر معنی‌داری بر آلودینیا نداشت.
* TNF-Ab vs CCI, # TNF vs CCI, * P<0.05 (Kruskal-Wallis, n=6)

که آنتی‌بادی TNFα را بـه‌صـورت انفوزیـون داخـل هسـته‌ای دریافت می‌کرد میانگین شماره تارهایی که موجب پس کشیدن پای حیوان می‌شدند ۷/۶ ± ۲۵/۳ بود (شکل ۴). بنابراین میزان آلودینیا، بر اساس فشار آستانه پس کشیدن پـا، در گروهـی کـه آنتی‌بادی TNFα دریافت می کرد در روزهای ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۴ به طور معنی داری کمتر شده بود (Kruskal-Wallis).

بحث

این مطالعه نشان داد که خنثی کردن ایمونولوژیـک TNFα در هسته LC می تواند میزان درد نوروپاتیـک ناشـی از آسـیب عصبی را کاهش دهد. به علاوه انفوزیـون TNFα اگـزوژن بـه داخل این هسته پر دردی حرارتی را تشدید کـرد. ایـن داده هـا می تواند بیانگر نقش TNFα در هسته LC طی شکل‌گیری پر دردی و آلودینیا باشد.

مقالات مختلفی نشان داده‌اند که طی درد نوروپاتیک سطح TNFα ی فعـال بیولوژیـک در نـواحیی کـه در فراینـدهای شـناختی و درک درد درگیـر هسـتند از جملـه در هیپوکمـپ و هسته لوکوس سرولئوس افزایش می‌یابد (۵،۱۴). افـزایش ایـن سیتوکین در نواحی مختلف مغز ونخـاع و بـروز علائـم رفتـاری درد از الگوی زمانی یکسانی برخوردارند (۵). نتایج این پـژوهش ضرورت حضور TNFα را در هسته لوکـوس سـرولئوس بـرای تکامل پردردی ناشی از آسـیب نوروپاتیـک اثبـات مـی‌کنـد. از آنجاییکه نقش TNFα به عنوان یک تنظـیم‌کننـده عصـبی در ایجاد تغییرات نوروپلاستیک در نواحی مختلف مغز اثبـات شـده است (۲۱،۱) و با درنظر گرفتن نقش تنظیمی این سـیتوکین بـر

Downloaded from ppj.phypha.ir at 23:55 +0330 on Monday September 23rd 2019

ترشح نورآدرنالین (۸) و نقش هسته نورآدرنرژیک LC در تنظیم نزولی درد (۲۰) می‌توان TNFα را عامل کلیدی در شکل‌گیری پردردی و آلودینیا دانست که کاهش معنی‌دار سطح پردردی و آلودینیا پس از انفوزیون مزمن آنتی‌بادی پلیکلونال TNFα در روزهای مختلف آزمون‌های رفتاری موید این فرضیه است. چنانچه Ignatowski وهمکارانش نشان دادند، تزریق داخل بطن مغزی (icv) این آنتی‌بادی توانست تاخیر زمانی پس کشیدن پای آسیب دیده را افزایش دهد. به علاوه ترشح نورآدرنالین در پاسخ به تحریک الکتریکی از برش های هیپوکمپی موش های دچار CCI و نیز برشهای موش های سالم که با TNFα انکوبه شده بودند نیز کاهش می‌یابد (۹). بر این اساس مکانیزم اثر آسیب نوروپاتیک می‌توانند حاصل افزایش TNFα در هسته LC و کاهش ترشح نورآدرنالین از پروجکشن های آن باشد که مهار انتقال درد در شاخ خلفی نخاع از طریق گیرنده‌های آلفا۲ را کاهش می دهد (۲۰) و نیز با اثر نوروپلاستیک بر قدرت انتقالات سیناپسی در نورون های هسته LC و هیپوکمپ روی پردازش و ادراک درد اثر تسهیلی اعمال نموده (۲۱) و منجر به حساس شدگی مرکزی در سطح فوق نخاعی گردد. از آنجاکه شکل‌گیری این تغییرات سیناپسی به زمان نیاز دارد بلوک TNFα اگر پس از روز ۴ بعد از آسیب باشد نمی‌تواند مانع بروز پردردی گردد (۹). هرچند که افزایش TNFα توانست پردردی حاصل از آسیب عصبی را افزایش دهد اما این افزایش فقط در روزهای ۲ و ۸ پس از آسیب از نظر آماری معنی‌دار بود که احتمالاً بیانگر این نکته است که در شرایط درد نوروپاتیک میزان TNFα ی درونزاد آنقدر افزایش یافته که اثر دردزایی آن اشباع شده و TNFα تزریق شده نمی‌تواند آنرا تشدید کند. در مطالعه Ignatowski نیز اثر تشدید پردردی TNFα تنها بعد از روز ۱۴ معنی‌دار بود که میزان درد در گروه CCI اندکی کاهش نشان می‌دهد. چنانچه در شکل ۲ نشان داده شده است در نمونه‌هایی که انفوزیون TNFα در روز ۹ متوقف گردیده است، پردردی از سطح گروه CCI هم کمتر شده که می‌تواند حاکی از شکل گیری نوعی تحمل به TNFα باشد. به طوری که علی‌رغم حضور TNFα درونزاد در حد CCI بوده اما احتمالاً حضور مزمن TNFα خارجی با سطوح بالاتر از میزان فیزیولوژیک باعث نوعی حساسیت زدایی یا تحمل نسبت به TNFα درونزاد شده باشد.

مکانیزمهای مختلفی به‌عنوان عامل زمینه ساز تغییرات بلند مدتی که باعث شکل‌گیری دردهای مزمن می‌گردد، پیشنهاد شده است. آنچه مسلم است لااقل یک جزء مرکزی که ناشی از افزایش تحریک‌پذیری نورونهای نخاعی است، پذیرفته شده است. سلولهای گلیا از طریق ترشح سیتوکین ها، عوامل نوروتروفیک و پیش التهابی به عنوان عوامل مستقیم تنظیم کننده تحریک‌پذیری روی سلول های رده اول و دوم مرکزی و در نتیجه نحوه انتقال درد اثر می‌گذارند (۲). نتایج این مطالعه با توجه به نقش تغییرات TNFα در هسته LC بر درک درد، احتمال ترشح شدن این عوامل از سلول های گلیای هسته LC و درنتیجه ایجاد تغییر در تحریک‌پذیری نورون ها (۲) مطرح می‌کند و با درنظر داشتن قابلیت TNFα در تغییر قدرت انتقال های سیناپسی (۱) می‌توان تغییر در آستانه درد را به تغییر نحوه پردازش اطلاعات در مراکز کنترل نزولی درد از جمله هسته LC نسبت داد. پرواضح است که اثبات این فرضیه مستلزم مطالعات بیشتر است.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران کشور انجام شده است.

References

[1] Beattie EC, Stellwagen D, Morishita W, Bresnahan JC, Ha BK, Zastrow MV, Beattie MS, Malenka RC, Control of synaptic strength by glial TNF-α. ***Sience*** 295 (2002) 2282-2285.

[2] Beggs S and Salter MW, Stereological and somatotopic analysis of the spinal microglial response to peripheral nerve injury. ***Brain, Behaviour, and Immunity*** 21 (2007) 624-633.

[3] Bennett GJ, Xie YK, A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. ***Pain*** 33 (1988) 87-107.

Downloaded from ppj.phypha.ir at 23:55 +0330 on Monday September 23rd 2019

[4] Covey WC, Ignatowski TA, Knight PR, Spengler RN, Brain-derived TNF alpha: involvement in neuroplastic changes implicated in the conscious perception of persistent pain. ***Brain Res***. 859 (2000) 113-122.

[5] Covey WC, Ignatowski, TA, Renauld, Knight PR, Nader ND, Spengler RN, Expression of neuron-associated tumor necrosis factor alpha in the brain is increased during persistent pain. ***Reg Anesth.Pain Med***. 27 (2002) 357-366.

[6] Grzanna R, Molliver ME, The locus coeruleus in the rat: an immunohistochemical delineation. ***Neuroscience*** 5 (1980) 21–40.

[7] Holden JE, Pizzi JA, The challenge of chronic pain. ***Adv Drug Deliv Rev*** 55 (2003) 935–948.

[8] Ignatowski TA and Spengler RN, Tumor necrosis factor-alpha: presynaptic sensitivity is modified after antidepressant drug administration. ***Brain Res***. 665 (1994) 293-299.

[9] Ignatowski TA, Covey WC, Knight PR, Severin CM, Nickola TJ, Spengler RN, Brain-derived TNFalpha mediates neuropathic pain. ***Brain Res***. 841 (1999) 70-77.

[10] Ignatowski, TA, Sud, JL, Reynolds, Knight PR, Spengler RN, The dissipation of neuropathic pain paradoxically involves the presence of tumor necrosis factor-alpha. ***Neuropharmacology*** 48 (2005) 448-460.

[11] Jia G, Gao D, Liu Y, He SM, Zhang XN, Zhang YF, Zhao MG, TNF-alpha involves in altered prefrontal synaptic transmission in mice with persistent inflammatory pain. **Neurosci.Lett**. 415 (2007) 1-5.

[12] Jones SL, Gebhart GF, Quantitative characterization of coeruleospinal inhibition of nociceptive transmission in the rat. ***J Neurophysiol*** 56 (1986) 1397–1410.

[13] Jones SL, Gebhart GF, Spinal pathways mediating tonic, coeruleospinal, and raphe-spinal descending inhibition in the rat. ***J Neurophysiol*** 58 (1987) 138–159.

[14] Khanna S, Sinclair JG, Noxious stimuli produce prolonged changes in the CA1 region of the rat hippocampus, ***Pain*** 39 (1989): 337-343.

[15] 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*** 85(2000) 345-358.

[16] Martin WJ, Gupta NK, Loo CM, Rohde DS, Basbaum AI Differential effects of neurotoxic destruction of descending noradrenergic pathways on acute and persistent nociceptive processing. ***Pain*** 80 (1999) 57–65.

[17] Millan MJ, Descending control of pain. ***Prog Neurobiol*** 66 (2002) 355–474.

[18] Oka Y, Wakugawa M, Hosoi K, and Hori T, Intracerebroventricular injection of tumor necrosis factor-alpha induces thermal hyperalgesia in rats. ***Neuroimmunomodulation*** 3 (1996) 135-140.

[19] Paxinos G, Watson C, ***The Rat Brain in Stereotaxix Coordinates***. Academc Press, San Diego, CA, 2005

[20] Pertovaara A, Noradrenergic pain modulation. ***Progress in Neurobiology*** 80 (2006) 53-83.

[21] Pickering M, Cumiskey D, O'Connor JJ, Actions of TNF-alpha on glutamatergic synaptic transmission in the central nervous system. ***Exp.Physiol*** 90 (2005) 663-670.

[22] Pockett, S, Spinal Cord Synaptic Plasticity and Chronic Pain. ***Anesth Analg.*** 80(1995) 173-9.

[23] Reynolds JL, Ignatowski TA, Spengler RN, Effect of tumor necrosis factor-alpha on the reciprocal G-protein-induced regulation of norepinephrine release by the alpha2-adrenergic receptor. ***J.Neurosci.Res***. 79 (2005) 779-787.

[24] Sommer C, Marziniak M, Myers RR, The effect of thalidomide treatment on vascular pathology and hyperalgesia caused by chronic constriction injury of rat nerve. ***Pain*** 74 (1998) 83-91.

[25] Taylor BK, Roderick RE, Basbaum AI, Brainstem noradrenergic control of nociception is abnormal in the spontaneously hypertensive rat. ***Neurosci Lett*** 291 (2000) 139-142.

[26] Tsuruoka M, Willis WD, Descending modulation from the region of the locus coeruleus on nociceptive sensitivity in a rat model of inflammatory hyperalgesia. ***Brain Res*** 743 (1996) 86–92.

[27] Tsuruoka M, Arai YC, Nomura H, Matsutani K, Willis WD, Unilateral hind paw inflammation induces bilateral activation of the locus coeruleus and the nucleus subcoeruleus in the rat. ***Brain Res Bull*** 61 (2003) 117–123.