Physiology and Pharmacology, 11(2), 91 - 98
Summer 2007 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Neuronal response properties of somatosensory cortex (layer IV) are modulated following experience dependent plasticity in c-fiber depleted rats

Ali Shamsizadeh[1], Vahid Sheibani[2*], Yaghoub Fathollahi[1], Mohammad Javan[1], Javad Mirnajafi-Zadeh[1], Mohammad Reza Afarinesh[2]

1. Dept. Physiology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Kerman Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

Abstract

Introduction: Previous studies have shown that the receptive field properties, spontaneous activity and spatio-temporal interactions of low-threshold mechanical somatosensory cells in the barrel cortex are influenced by C-fibers. In this study, we examined the effect of C-fiber depletion on response properties of barrel cortex neurons following experience dependent plasticity.

Methods: In this study, exteracellular single unit recording was performed on 154 barrel cortex neurons in 70 male Wistar rats (38-41days old). For depleting of C-fibers, neonatal rats received an intra-peritoneal injection of capsaicin solution (50 mg/kg) on the first neonatal day. For induction of experience dependent plasticity, all whiskers but D2 on the left muzzle, were plucked from first neonatal day. Neuronal ON and OFF responses were recorded in right barrel cortex following principal whisker (PW) and its caudal adjacent whisker (AW) deflection.

Results: Whisker plucking increased PW–evoked ON responses both in capsaicin and vehicle treated rats (all $P<0.05$). In vehicle treated rats, AW-evoked ON responses were decreased in plucked animals ($P< 0.05$). Of particular interest, in capsaicin treated rats, AW-evoked ON responses were not decreased in plucked animals. Analyzing OFF responses showed similar result to ON responses.

Conclusion: These findings indicate that c-fibers can modulate neuronal response properties following experience dependent plasticity in layer IV of barrel cortex.

Keywords: C-fibers, Experience dependent plasticity, Barrel cortex, Sensory deprivation

[*] Corresponding Author Email: vsheibani2@yahoo.com
Available online @: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۱ (۲)، ۹۱ - ۹۸
تابستان ۱۳۸۶

تعدیل پاسخ نورون‌های لایه IV قشر حسی پیکری موش‌های صحرایی فاقد فیبرهای بدون میلین بدنبال القای شکل پذیری وابسته به تجربه

علی شمسی‌زاده[۱]، وحید شیبانی[۲*]، یعقوب فتح الهی[۱]، محمد جوان[۱]، سید جواد میر نجفی زاده[۱]، محمد رضا آفرینش[۲]

۱. گروه فیزیولوژی ،دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲. مرکز تحقیقات علوم اعصاب و گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دریافت: خرداد ۸۶ بازبینی: تیر ۸۶ پذیرش: تیر ۸۶

چکیده

مقدمه: فیبرهای بدون میلین بر خواص میدان دریافتی، فعالیت پایه و ارتباطات فضایی- زمانی نورون‌های قشر بشکه‌ای موثر هستند. در این مطالعه اثر حذف فیبرهای بدون میلین بر خصوصیات پاسخی نورون‌های قشر بشکه ای، متعاقب القای شکل پذیری وابسته به تجربه مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه، از ۱۵۴ نورون قشر بشکه‌ای در ۷۰ سر موش سفید نر ۴۱-۳۸ روزه از نژاد ویستار، ثبت خارج سلولی تک واحدی انجام شد. برای حذف فیبرهای بدون میلین، به نوزادان نر موش‌ها در روز اول تولد ماده کاپسایسین به میزان ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم به صورت تک دوز داخل صفاقی تزریق شد. برای القای شکل پذیری وابسته به تجربه، سبیل‌های سمت چپ پوزه حیوان (بجز سبیل D2) از روز تولد کنده شدند. پاسخ هایON وOFF نورون‌های قشر بشکه‌ای سمت راست متعاقب جابجایی سبیل اصلی و کناری مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: در هر دو گروه تیمار شده با کاپسایسین و یا حلال آن، کندن سبیل‌ها باعث افزایش پاسخ ON نورون‌ها به تحریک سبیل اصلی شد (all P< ۰/۰۵). در حیوانات تیمار شده با حلال کاپسایسین، متعاقب کندن سبیل‌ها، پاسخ ON به تحریک سبیل کناری کاهش یافت (P=۰/۰۴۱) در حالیکه در حیوانات تیمار شده با کاپسایسین پاسخ فوق کاهش نیافت. تغییرات پاسخ‌های OFF روندی مشابه پاسخ‌های ON داشت.

نتیجه‌گیری: این یافته‌ها پیشنهاد می‌کند که فیبرهای بدون میلین در تعدیل الگوی پاسخ نورون‌های قشر بشکه‌ای متعاقب القای پلاستیسیته وابسته به تجربه نقش دارند.

واژه‌های کلیدی: فیبرهای بدون میلین، شکل پذیری وابسته به تجربه، قشر بشکه ای، محرومیت حسی.

مقدمه

در موش و چند گونه دیگر از پستانداران، همبستگی آناتومیک و فیزیولوژیک برجسته‌ای بین گیرنده‌های حسی محیطی سبیل‌ها و نورون‌های لایه IV قشر بشکه‌ای وجود دارد. این امر باعث شده است که مجموعه‌های نورونی مربوط به هر سبیل در برش‌های مغزی به شکل بشکه (barrel) مشاهده شود [۱۵]. یکی از مهمترین ویژگی‌های قشر مغز از جمله قشر بشکه ای، شکل پذیری وابسته به تجربه (Experience dependent plasticity) نام دارد که نه تنها در طی تکوین مغز بلکه در تمام دوران زندگی در قشر دیده می‌شود. این خاصیت، یادگیری رفتارهای جدید را میسر می‌کند و تغییر رفتار را امکان‌پذیر می‌سازد [۵].

یکی از مدلهای رایج برای بررسی و مطالعه شکل پذیری وابسته به تجربه، مدل مسیر حسی سبیل است. مسیر حسی سبیل‌ها

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: vsheibani2@yahoo.com
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

از اهمیت ویژه‌ای در جوندگان و موش برخوردار است، بطوری که در کنار عصب‌گیری وسیع آن، موش فعالانه از سبیل‌های خود، در طی رفتارهای کاوش، تمایز بافت اجسام، جهت یابی فضایی، شنا، ادارک عمق و یادگیری استفاده می‌کند [۱،۱۷].

این نوع شکل پذیری وابسته به تجربه بوسیله کندن تمام سبیل‌ها و باقی گذاشتن یکی از آنها در موش سفید آزمایشگاهی قابل القای و بررسی می‌باشد. به طوریکه متعاقب القای آن، پاسخ نورون‌ها به سبیل باقی مانده افزایش یافته و به سبیل‌های کنده شده کاهش می‌یابد [۱۰،۹]. مکانیسم‌هایی که در ایجاد این نوع شکل پذیری در قشر بشکه‌ای نقش دارند شامل تغییر در فعالیت پایه [۶]، تغییر در میزان مهار جانبی [۶] و تغییر در عملکرد مدارهای بین قشری [۸] است.

اطلاعات حسی پیکری از طریق دو مسیر عمده فیبرهای میلین دار و فیبرهای بدون میلین (C-fibers) به مغز مخابره می‌شود. نوع اطلاعاتی که توسط هر کدام از این دو مسیر منتقل می‌شود و محل پردازش آنها در مغز متفاوت است. در بررسی‌های قبلی نشان داده شده است که حذف یا غیر فعال کردن فیبرهای بدون میلین روی بسیاری از جنبه‌های پردازش اطلاعات توسط مسیر میلین دار موثر است. از جمله اینکه نشان داده شده است فیبرهای بدون میلین روی خواص میدان دریافتی [۱۸،۱]، فعالیت پایه [۱۱]، ارتباطات فضایی- زمانی (Spatio-temporal Coupling) [۴] و میزان مهار جانبی [۴] نورون‌های قشر بشکه‌ای موثر هستند. عواملی که در قشر بشکه‌ای تحت تاثیر عملکرد فیبرهای بدون میلین قرار می‌گیرند، در پدیده شکل پذیری وابسته به تجربه نیز دخیلند. لذا با توجه به این امر، هدف از این تحقیق، بررسی نقش فیبرهای بدون میلین در پدیده شکل پذیری وابسته به تجربه در لایه IV قشر بشکه‌ای است.

مواد و روشها

در این مطالعه از ۱۵۴ نرون قشر بشکه‌ای در ۷۰ سر موش سفید آزمایشگاهی نر، سن ۴۱-۳۸ روزه، نژاد ویستار، وزن بین ۱۲۰ تا ۱۴۰ گرم، ثبت تک واحدی خارج سلولی انجام شد. این حیوانات از لحاظ دسترس به آب و غذا محدودیتی نداشتند، و همچنین در چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته در قفس‌های یکسانی (در هر قفس ۳-۴ سر حیوان) نگهداری می‌شدند.

جهت انجام ثبت خارج سلولی، حیوانات ابتدا توسط یورتان با دوز ۱/۲ گرم در هر کیلوگرم بیهوش شده سپس حیوانات را داخل دستگاه استریوتاکس قرار داده و درجه حرارت بدنشان توسط یک پتوی حرارتی بین (۰/۱ ± ۳۷) درجه سانتی‌گراد، تحت کنترل فیدبکی و دماسنج رکتال، نگهداری شد. ناحیه جمجمه سمت راست به ابعاد ۱ تا ۴ میلی‌متر عقب‌تر از برگما و همچنین ۴ تا ۷ میلی‌متر در جانب خط وسط برداشته شد تا سخت شامه کاملاً در معرض دید قرار بگیرد. با ارزیابی رفلکس‌های دم و پای عقب سطح هوشیاری مورد ارزیابی قرار گرفت و در صورت سبک شدن بیهوشی ده درصد دوز اولیه، ماده بیهوشی تزریق شد. برای ثبت خارج سلولی از یک میکروالکترود فلزی از جنس تنگستن (امپدانس نوک میکرو الکترود ۲/۳-۲ مگا اهم) استفاده شد. محل قرارگیری میکروالکترود با استفاده از نقشه سوماتوتوپیکی سبیل‌ها و با استفاده از تحریک مکانیکی سبیل‌های سمت مقابل، در ناحیه‌ای از قشر بشکه‌ای سمت راست که مربوط به سبیل D2 است قرار گرفت. سپس با استفاده از محلول گرم آگار ۳ درصد که در سالین حل شده است سطح قشر پوشیده شد. پس از آن میکروالکترود توسط یک میکرومانیپولاتور در لایه IV قشر حسی مربوط به سبیل D2 (ارتفاع ۷۵۰-۴۵۰ میکرومتر) قرار گرفت. اسپایک‌های برداشته شده توسط میکروالکترود پس از ده هزار بار تقویت و پالایش (۱۰۰۰۰-۳۰۰ هرتز) توسط آمپلی‌فایر (DAM 80 ساخت شرکت WPI آمریکا) به ورودی دستگاه موج‌بیز (Window-discriminator) منتقل شد و همزمان از طریق یک رابط به دستگاه مدار تأخیری (Delay line) با زمان تأخیر ۱۰ میلی ثانیه، به اسیلوسکوپ حافظه‌دار منتقل شد. معمولاً اسپایک‌های نورونی که پس از مدت زمان حدود ۱۵-۱۰ دقیقه پایدار باشند و نسبت سیگنال به نویز آنها ۳ به ۱ باشد، توسط دستگاه موج‌بیز با تعریف یک پنجره ولتاژی از بقیه نورون‌ها جدا می‌شد. دستگاه موج‌بیز به ازای هر اسپایکی که در محدوده بین پنجره ولتاژی قرار بگیرد یک پالس مربعی تولید می‌کند که به وسیله یک دستگاه شمارشگر اسپایک به کامپیوتر برای ثبت و آنالیز منتقل شد. دستگاه موج بیز طوری تنظیم شده بود که می‌توانست با فرکانس ۱۰ کیلوهرتز به شمارش اسپایک بپردازد. از طرف دیگر همین پالس اسیلوسکوپ حافظه‌دار را فعال می‌کند بدین ترتیب دستگاه مدار تأخیری و اسیلوسکوپ حافظه‌دار امکان مشاهده شکل اسپایک ایزوله شده را فراهم می‌سازد [۱۶].

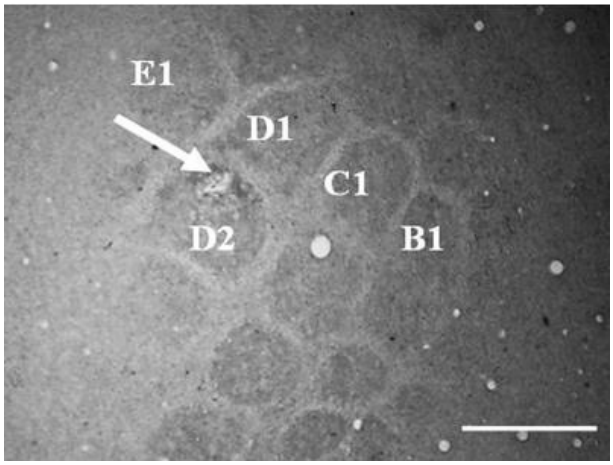
برای خم نمودن مکانیکی کنترل شده سبیلها از دو بلندگو استفاده شد. یک لوله شیشه‌ای نازک با قطر داخلی ۰/۶۹ میلیمتر، به مرکز هر بلندگو وصل شده و با اعمال ولتاژ مناسب به بلندگوها جابجایی با مشخصات ذیل در لوله‌های شیشه‌ای متصل به آنها ایجاد می‌شد: زمان بالا رفتن سبیل ۵ میلی ثانیه، مدت زمان خم شدن ۲۰۰ میلی ثانیه، میزان خم کردن ۵۰۰ میکرون، دفعات خم کردن۵۰ مرتبه با فرکانس ۱ هرتز. سبیل اصلی و سبیل کناری به فاصله ۱۰ میلی متر از سطح صورت کوتاه و نوک آنها داخل لوله‌های شیشه‌ای قرار می‌گرفت [۱۶]. متعاقب خم کردن سبیل‌ها دو نوع پاسخ نورونی مشاهده می‌شود که بنام پاسخ‌های ON و OFF معروفند. پاسخ ON زمانی ایجاد می‌شود که سبیل توسط لوله شیشه‌ای متصل به آن از وضعیت طبیعی خود به وضعیت جدید جابجا می‌شود و پاسخ OFF زمانی ایجاد می‌شود که سبیل دوباره به وضعیت اولیه خود بر می‌گردد.

پس از اتمام آزمایش، برای اطمینان از محل قرارگیری الکترودها در قشر بشکه‌ای به وسیله جریان الکتریکی (۲۰ میکروآمپر، ۱۰ ثانیه) در محل قرارگیری الکترود تخریب ایجاد شد. سپس حیوانات بصورت داخل قلبی با سالین هپارینه گرم (۳۷ درجه سانتیگراد) پرفیوز شدند. و بدنبال آن محلول سرد فیکساتور پارافرمالدئید۴ درصد، با اسیدیته ۷/۴، پرفیوز شد. پس از آن مغز از سر خارج شد و آنرا در ماده فیکساتور مذکور به مدت ۱-۴ ساعت قرار داده شد تا تثبیت بافتی کامل شود. پس از آن نمونه‌ها بمدت ۲۴ ساعت در محلول سوکروز ۳۰ درصد قرار داده شدند. برای انجام رنگ آمیزی ابتدا ناحیه قشر بشکه ای، با استفاده از یک میکروتوم انجمادی (Frozen microtome) برش زده شد. ضخامت برش‌ها بین ۴۵-۵۰ میکرون است. پس از آن، برشها در محلول زیر برای رنگ آمیزی سیتوکروم اکسیداز، انکوبه شدند. ترکیب این محلول شامل 3-3’ diaminobenzidine (با غلظت ۵۰ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر)، سیتوکروم C (با غلظت ۳۰ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر)، ۱۰۰ میلی لیتر از بافر فسفات ۰/۱ مولار با اسیدیته ۷/۴ و چهار گرم سوکروز است. مدت زمان انکوباسیون ۴ ساعت است. پس از اتمام انکوباسیون نمونه‌ها ۳ مرتبه با بافر فسفات ۰/۱ مولار، هر بار به مدت ۵ دقیقه، شستشو داده شدند و سپس آنها را خشک کرده و روی لام با استفاده از چسب فیکس شدند [۲۱]. لازم به ذکر است که لایه۴ قشر بشکه‌ای مربوط به هر سبیل بصورت مجموعه‌های نورونی کاملا مجزا (به شکل بشکه) در این رنگ آمیزی دیده می‌شود (شکل۱).

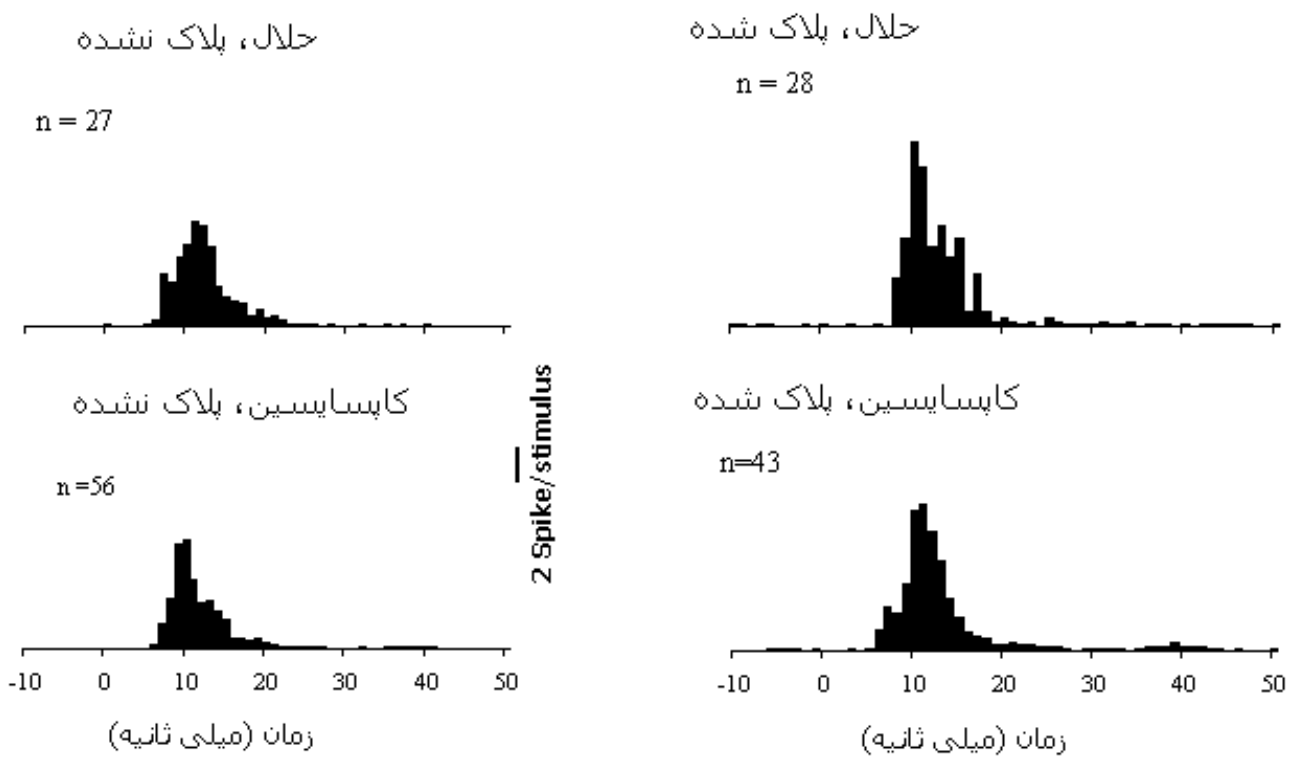
برای حذف فیبرهای بدون میلین به نوزادان نر تازه متولد شده در روز اول زندگی پس از تولد ماده کاپسایسین (که در محلول ۱۰ درصد الکل، ده درصد توین ۸۰ و سالین۸۰ درصد، حل شده است)، به میزان ۵۰ میلی گرم و با حجم ۱ میلی لیتر در کیلوگرم و به صورت تک دوزداخل صفاقی تزریق شد [۴].

تایید حذف فیبرهای بدون میلین با استفاده از آزمون حساسیت قرنیه (Corneal chemosensitivity test) انجام شد، بدین ترتیب که در روز انجام آزمایش یک قطره هیدروکسید آمونیوم ۱٪ داخل چشم حیوان درمان شده با کاپسایسین، ریخته شد و تعداد پلک زدنهای (Eye wiping) حیوان ۳۰ ثانیه بعد شمرده شد (mean ± SEM, ۴/۹± ۰/۹) و با گروه درمان نشده با کاپسایسین (mean ± SEM, ۱۳/۴± ۲/۹) مقایسه شد. که بین دو گروه اختلاف معنی داری مشاهده شد (P<۰/۰۰۱، unpaired t-test). این امر نشاندهنده کاهش معنی دار فیبرهای C است [۴].

برای القای شکل پذیری وابسته به تجربه، تمام سبیل‌های سمت چپ پوزه حیوان (بجز سبیل D2) از روز تولد بمدت ۳۰ روز کنده شدند. رشد سبیل‌ها بصورت یک روز در میان کنترل می‌شد. ۸-۱۰ روز به سبیل‌ها اجازه رشد داده شد و سپس ثبت الکترو فیزیولوژیک از لایه IV ناحیه قشر بشکه‌ای مربوط به سبیل D2



شکل۱- برش طولی (Tangential) از ناحیه قشر حسی پیکری اولیه سمت راست در موش سفید آزمایشگاهی از گروهی که سبیل های آن کنده شده و با کاپسایسین تیمار شده است. این برش با روش سیتوکروم اکسیداز رنگ آمیزی شده است. پیکان محل لیژن را نشان میدهد. مقیاس ۵۰۰ میکرون.



شکل ۲- هیستوگرام تجمعی پاسخ ON نورون ها به تحریک سبیل اصلی در گروه های مختلف تیمار شده با کاپسایسین و یا حلال آن. چهار هیستوگرام تجمعی نشان داده شده است. هر هیستوگرام تجمعی نشان دهنده پاسخ نورون ها به ۵۰ بار تحریک سبیل اصلی است. محور افقی نشان دهنده زمان بر حسب میلی ثانیه است و زمان صفر، نشانگر لحظه شروع تحریک سبیل است. محور عمودی در تمام نمودار ها مشابه و بر حسب spike/stimulus است. به افزایش پاسخ ON در گروه های پلاک شده توجه کنید. n: تعداد نورون‌های ثبت شده در هر گروه را نشان میدهد.

سمت راست در روزهای ۴۱-۳۸ پس از تولد انجام شد [۵].

در این مطالعه حیوانات به دو گروه کلی و ۴ زیرگروه تقسیم شدند.

الف- گروه دریافت کننده کاپسایسین. این حیوانات پس از تزریق کاپسایسین در روز تولد، به دو زیر گروه پلاک شده و پلاک نشده تقسیم شدند که در زیر گروه پلاک شده سبیل‌های حیوان بر اساس روش گفته شده در فوق کنده شدند اما در زیر گروه پلاک نشده سبیل‌های حیوان پلاک نشدند.

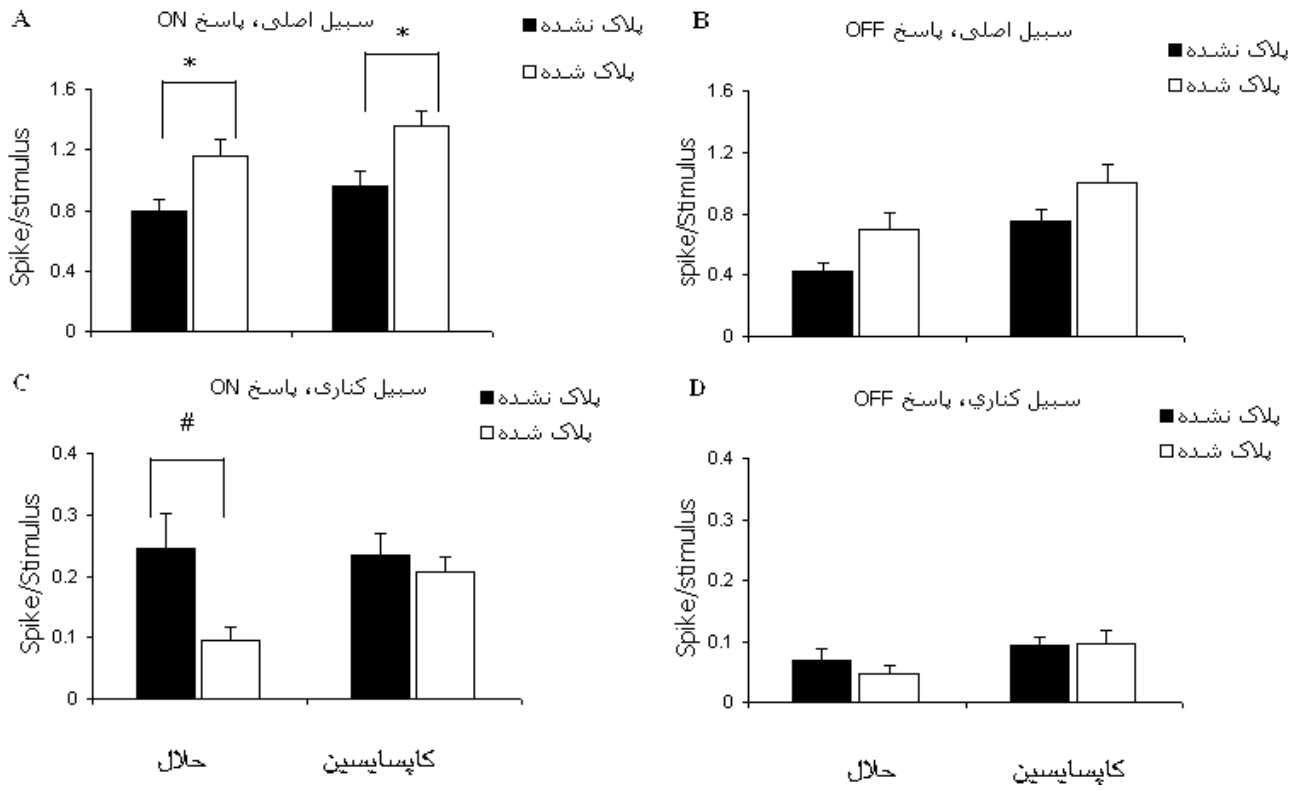
ب- گروه دریافت کننده حلال کاپسایسین. این حیوانات پس از تزریق حلال کاپسایسین در روز تولد، به دو زیر گروه پلاک شده و پلاک نشده تقسیم شدند. در ادامه مشابه زیرگروه‌های مربوط به گروه دریافت کننده کاپسایسین عمل شد.

برای ارزیابی میدان دریافتی تحریکی، سبیل اصلی و کناری هر کدام به تنهایی و به صورت تصادفی به تعداد ۵۰ مرتبه با فرکانس ۱ هرتز جابه‌جا شده و پاسخ‌های مربوطه بصورت هیستوگرام در فایلهای جداگانه ذخیره شد. پاسخ نورون‌ها در ۲۰۰ میلی ثانیه اول هر فایل ثبتی (جایی که هیچگونه تحریک مکانیکی وجود نداشت) بعنوان فعالیت خودبخودی مورد محاسبه قرار گرفت. بزرگی پاسخ‌ها (Response magnitude) در دوره زمانی ۳۵- ۵ میلی ثانیه بعد از جابجایی سبیل‌ها محاسبه شد. زمانی به عنوان زمان تأخیر پاسخ (Response latency بر حسب میلی ثانیه) در نظر گرفته شد که در آن زمان پاسخ نورون‌ها بعد از جابجایی سبیل‌ها از میانگین به اضافه ۲ برابر انحراف معیار فعالیت خودبخودی بیشتر باشد [۱۶].

داده‌های بدست آمده با استفاده از آزمون two-way ANOVA و t-test مورد بررسی قرار گرفت. در تمام موارد داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. آنالیز داده‌ها به کمک نرم افزار SPSS و Excel انجام شد.

یافته‌ها

در شکل۲، هیستوگرام تجمعی اطراف تحریک [Population Peri-Stimulus Time Histogram (PPSTH)] پاسخ ON نورون‌ها به تحریک سبیل اصلی در گروه‌های



شکل ۳- پاسخ های تحریکی نورون ها به جابجایی سبیل اصلی و کناری در گروه های مختلف تیمار شده با کاپسایسین و حلال آن. A: پاسخ ON به جابجایی سبیل اصلی. کندن سبیل ها باعث افزایش پاسخ ON در گروه هایی که با کاپسایسین و حلال آن تیمار شده اند، می شود (all P<0.03 *). B: پاسخ OFF به جابجایی سبیل اصلی. C: پاسخ ON به جابجایی سبیل کناری. در حیواناتی که با حلال کاپسایسین تیمار شده اند، کندن سبیل ها باعث کاهش پاسخ ON نورون ها به تحریک سبیل کناری شد (P= 0.04 #). D: پاسخ OFF به جابجایی سبیل کناری.

مختلف مشاهده می‌شود. به نظر می‌رسد که در گروه‌های پلاک شده پاسخ ON حداکثر است. در شکل ۳ قسمت A، پاسخ ON نورون‌ها به تحریک سبیل اصلی بصورت کمی نشان داده شده است. برای بررسی اثر تیمار با کاپسایسین و کندن سبیل‌ها روی میزان پاسخ ON به تحریک سبیل اصلی، از آزمون two-way ANOVA استفاده شد. نتایج نشان داد که اثر کندن سبیل‌ها روی پاسخ ON معنی دار است ($F(1,106)= 11.62; P<0.001$) در حالیکه اثر تیمار با کاپسایسین ($F(1,106)= 2.52; P> 0.1$) و برهمکنش بین این دو عامل ($F(1,106)= 0.029; P>0.8$) معنی دار نبود. کندن سبیل‌ها در روز تولد باعث افزایش پاسخ ON در گروه‌هایی که با کاپسایسین و یا حلال آن تیمار شده اند، شد (t-test, all P<0.05). بررسی پاسخ OFF نورون‌ها به تحریک سبیل اصلی، روندی مشابه پاسخ‌های ON را نشان داد، گرچه اختلاف معنی داری در این مورد دیده نشد (شکل ۳ قسمت B).

در شکل ۳ قسمت C، پاسخ ON نورون‌ها به تحریک سبیل کناری نشان داده شده است. نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد که اثر کندن سبیل‌ها روی این پاسخ معنی دار است ($F(1,67)= 4.31; P= 0.042$) بطوریکه، در حیواناتی که با حلال کاپسایسین تیمار شده اند، کندن سبیل‌ها باعث کاهش پاسخ ON نورون‌ها به تحریک سبیل کناری می‌شد (t-test, P= 0.041). به هرحال، در حیواناتی که با کاپسایسین تیمار شده‌اند کندن سبیل‌ها باعث کاهش پاسخ ON به تحریک سبیل کناری نشد. اثر تیمار با کاپسایسین ($F(1,67)= 1.43; P> 0.2$) و برهمکنش بین این دو عامل ($F(1,67)= 2.09; P> 0.15$) بر روی پاسخ ON به تحریک سبیل کناری معنی دار نبود.

بررسی پاسخ OFF نورون‌ها به تحریک سبیل کناری، روندی مشابه پاسخ‌های ON را نشان داد، گرچه اختلاف معنی داری در این مورد دیده نشد (شکل۳ قسمت D).

جدول ۱ زمان تاخیر پاسخ نورون‌ها در قشر بشکه‌ای را به

جدول ۱ – اثر حذف فیبرهای بدون میلین بر زمان تاخیر پاسخ نورون ها (بر حسب میلی ثانیه) به تحریک سبیل اصلی متعاقب القای شکل پذیری وابسته به تجربه.

گروه ها					نوع پاسخ
تیمار شده با کاپسایسین		تیمار شده با حلال کاپسایسین			
پلاک شده	پلاک نشده	پلاک شده	پلاک نشده		
۷/۸ ± ۰/۲	۷/۸ ± ۰/۱۳	۷/۵ ± ۰/۳	۷/۵ ± ۰/۱۸		ON
۱۰/۱ ± ۰/۲۷	۱۰/۶ ± ۰/۲	۱۱/۳ ± ۰/۶	۱۱/۵ ± ۰/۳		OFF

نمایش داده ها بصورت میانگین ± انحراف معیار است.

تحریک سبیل اصلی نشان میدهد. بطور کلی در تمام گروه‌ها پاسخ‌های ON به تحریک سبیل اصلی زمان تاخیر کوتاهتری نسبت به پاسخ‌های OFF داشتند (t-test, all $P < 0.05$). اثر کندن سبیل‌ها ($F(1,69)= 0.18;\ P>0.6$) و یا تیمار با کاپسایسین ($F(1,69)= 2.3;\ P>0.12$) و یا برهمکنش بین این دو عامل ($F(1,69)= 0.26;\ P>0.5$)، بر زمان تاخیر پاسخ‌های ON به تحریک سبیل اصلی معنی دار نبود. نتایج حاصل از بررسی پاسخ OFF نورون‌ها مشابه پاسخ ON بود.

بحث

در مطالعه اخیر، اثر حذف فیبرهای بدون میلین بر شکل پذیری وابسته به تجربه در قشر بشکه‌ای بررسی شد. مطالعات قبلی نشان دادند که متعاقب ایجاد شکل پذیری وابسته به تجربه در قشر بشکه‌ای با استفاده از کندن تمام سبیل‌ها و باقی گذاشتن یکی، پاسخ به سبیل باقی مانده افزایش یافته ولی پاسخ به سبیل کنده شده کاهش می‌یابد [۵،۱۰]. اما در مقابل نتایج ما نشان داد که در شرایط حذف فیبرهای بدون میلین، این الگوی پاسخ دهی نورون‌ها متعاقب القای شکل پذیری وابسته به تجربه تغییر می‌کند. بطوریکه اگر چه باز هم پاسخ نورون‌ها به سبیل باقی مانده افزایش می‌یافت ولی پاسخ به سبیل کنده شده کاهش پیدا نکرد و در بعضی نورون‌های ثبت شده افزایش نیز داشت. این یافته‌ها پیشنهاد می‌کنند که فیبرهای بدون میلین در تنظیم الگوی پاسخ نورون‌ها متعاقب القای شکل پذیری وابسته به تجربه نقش دارند. به هر حال، با توجه به اینکه افزایش مشاهده شده در پاسخ به سبیل باقی مانده در حیوانات فاقد فیبرهای بدون میلین نسبت به گروه حلال دارای اختلاف معنی داری نیست، بنابراین باید گفت که فیبرهای بدون میلین احتمالا در کنترل افزایش پاسخ به سبیل باقی مانده متعاقب القای شکل پذیری وابسته به تجربه، نقشی ندارند.

مطالعات قبلی نشان دادند که تزریق نوزادی کاپسایسین باعث افزایش میدان دریافت تحریکی [۲،۱۸] و افزایش میزان پاسخ نورون‌ها به تحریک سبیل اصلی و کناری [۱۲] در موشهای سفید آزمایشگاهی که در آن‌ها پلاستیسیته القا نشده است، می‌شود. نتایج ما نیز در این مورد با یافته‌های قبلی هماهنگی دارد. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که حذف فیبرهای بدون میلین روی زمان تاخیر پاسخ نرون‌ها متعاقب جابجایی سبیل اصلی، تاثیر معنی داری نداشت. کیانی و همکاران نیز نشان دادند که متعاقب مصرف سیستمیک کاپسایسین در دوران نوزادی، زمان تاخیر پاسخ نرون‌ها به جابجایی سبیل اصلی و کناری تحت تاثیر قرار نگرفت [۱۲].

مکانیسم دقیق افزایش پاسخ نورون‌ها به سبیل باقی مانده متعاقب ایجاد شکل پذیری وابسته به تجربه در قشر بشکه‌ای مشخص نیست. کاهش در مهار جانبی بعنوان یک مکانیسم فعال کننده مراحل اولیه ایجاد شکل پذیری مطرح شده است [۷]. بنظر می‌رسد که مهار پاسخ به سبیل‌های کنده شده متعاقب ایجاد شکل پذیری وابسته به تجربه در قشر بشکه ای، منشا قشری داشته باشد و مدارهای موضعی بین قشری در این پدیده نقش داشته باشند [۱۰،۱۹].

بیشتر مدارهای مهاری در قشر بشکه‌ای از طریق گابا واسطه گری می‌شوند و نشان داده شده است که فیبرهای بدون میلین می‌توانند مهار ناشی از گابا را در قشر بشکه‌ای تحت تاثیر قرار دهند. به طوریکه نشان داده شده است که مهار گیرنده‌های GABAA باعث افزایش میدان دریافت تحریکی در قشر بشکه‌ای می‌شود که متعاقب حذف فیبرهای بدون میلین، این اثر دیده نمی‌شود [۳]. علاوه بر آن، فرازی فرد و همکاران نشان دادند که حذف فیبرهای بدون میلین با استفاده از کاپسایسین، باعث کاهش میزان مهار جانبی ناشی از تحریک دو سبیل در فواصل زمانی متفاوت در قشر بشکه‌ای می‌شود [۴]. همچنین Calford و همکاران نشان دادند که متعاقب تزیق موضعی

کاپسایسین در عصب رادیال، اندازه میدان دریافت نرون‌های قشر حسی پیکری در نوعی خفاش افزایش می‌یابد. ایشان نتیجه گرفتند که فیبرهای بدون میلین در پدیده مهار جانبی در قشر حسی پیکری دخیل می‌باشند [۲]. از طرف دیگر نشان داده شده است که مهار فعالیت نورون‌های قشر بشکه‌ای با استفاده از موسیمول، از کاهش پاسخ نورون‌ها به سبیل کنده شده و افزایش پاسخ به سبیل باقی مانده جلوگیری می‌کند [۲۰]. بنابراین یکی از مکانیسمهای احتمالی اثر فیبرهای بدون میلین بر شکل پذیری وابسته به تجربه در قشر بشکه ای، احتمالا از طریق نقش آنها در تنظیم مدارهای مهاری گابا و تنظیم فرایند مهار جانبی است.

به هر حال اگرچه به نظر می‌رسد که مکانیسم‌های دخیل در شکل پذیری وابسته به تجربه در قشر مغز قرار داشته باشند [۹،۱۹،۲۰] اما ما در این مطالعه نمی‌توانیم اثر احتمالی فیبرهای بدون میلین را بر ساختارهای تحت قشری را رد کنیم زیرا نشان داده شده است که فیبرهای بدون میلین می‌توانند فعالیت نورون‌های هسته سه قلو و تالاموس را تحت تاثیر قرار دهند [۱۱،۱۳،۱۴]. به طوریکه Kwan و همکاران نشان دادند که تزریق نوزادی کاپسایسین باعث افزایش میدان دریافت نرون‌های دریافت کننده اطلاعات حسی سبیل‌ها و افزایش میزان پاسخ این نرون‌ها به جابجایی سبیل کناری می‌شود [۱۳،۱۴]. Katz و همکاران نشان دادند که متعاقب تزریق زیر جلدی کاپسایسین در لب، میدان دریافتی و فعالیت خودبخودی نرون‌های حساس به جابجایی سبیل‌ها در هسته VPM تالاموس در موش سفید آزمایشگاهی، تغییر می‌کند [۱۱]. بنابراین مقایسه تغییرات ایجاد شده در نواحی قشری و زیر قشری متعاقب القای شکل پذیری وابسته به تجربه، در حضور و عدم حضور فیبرهای بدون میلین، در فهم دقیق تر مکانیسم عمل این فیبرها در شکل پذیری وابسته به تجربه مفید به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

کلیه هزینه‌های این تحقیق توسط مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان در قالب طرح تحقیقاتی پرداخت شده است که مراتب تشکر و امتنان ابراز می‌گردد.

منابع

[1] Bialy M, Beck J, The influence of vibrissae removal on copulatory behaviour in male rats. ***Acta Neurobiol Exp*** 53 (1993) 415-9.

[2] Calford MB, Tweedale R, C-fibres provide a source of masking inhibition to primary somatosensory cortex. ***Proc Biol Sci*** 243 (1991) 269-75.

[3] Farazifard R, Kiani R, Esteky H, Effects of GABAA receptor inhibition on response properties of barrel cortical neurons in C-fiber-depleted rats. ***Brain Res*** 1050 (2005) 27-32.

[4] Farazifard R, Kiani R, Noorbakhsh M, Esteky H, Effects of neonatal C-fiber depletion on the integration of paired-whisker inputs in rat barrel cortex. ***Exp Brain Res*** 162 (2005) 115-21.

[5] Fox K, A critical period for experience-dependent synaptic plasticity in rat barrel cortex. ***J Neurosci*** 12 (1992) 1826-38.

[6] Fox K, Anatomical pathways and molecular mechanisms for plasticity in the barrel cortex. ***Neuroscience*** 111 (2002) 799-814.

[7] Fox K, Glazewski S, Schulze S, Plasticity and stability of somatosensory maps in thalamus and cortex. ***Curr Opin Neurobiol*** 10 (2000) 494-7.

[8] Fuchs JL, Salazar E, Effects of whisker trimming on GABA(A) receptor binding in the barrel cortex of developing and adult rats. ***J Comp Neurol*** 395 (1998) 209-16.

[9] Glazewski S, Experience-dependent changes in vibrissae evoked responses in the rodent barrel cortex. ***Acta Neurobiol Exp*** 58 (1998) 309-20.

[10] Glazewski S, McKenna M, Jacquin M, Fox K, Experience-dependent depression of vibrissae responses in adolescent rat barrel cortex. ***Eur J Neurosci*** 10 (1998) 2107-16.

[11] Katz DB, Simon SA, Moody A, Nicolelis MA, Simultaneous reorganization in thalamocortical ensembles evolves over several hours after perioral capsaicin injections. ***J Neurophysiol*** 82 (1999) 963-77.

[12] Kiani R, Farazifard R, Noorbakhsh SM, Esteky H, Effects of neonatal C-fiber depletion on discrimination of principal and adjacent whisker stimulation within rat individual cortical barrels. ***Brain Res*** 1015 (2004) 129-35.

[13] Kwan CL, Demaro JA, Hu JW, Jacquin MF, Sessle BJ,

C-fiber depletion alters response properties of neurons in trigeminal nucleus principalis. ***J Neurophysiol*** 81 (1999) 435-46.

[14] Kwan CL, Hu JW, Sessle BJ, Neuroplastic effects of neonatal capsaicin on neurons in adult rat trigeminal nucleus principalis and subnucleus oralis. ***J Neurophysiol*** 75 (1996) 298-310.

[15] Land PW, Simons DJ, Cytochrome oxidase staining in the rat SmI barrel cortex. ***J Comp Neurol*** 238 (1985) 225-35.

[16] Sheibani V, Farazifard R, Dorsal raphe nucleus stimulation modulates the response of layers IV and V barrel cortical neurons in rat. ***Brain Res Bull*** 68 (2006) 430-5.

[17] Waite PM, Tracy DJ, Trigeminal sensory system. In: Paxinos G, editor. ***The Rat Nervous System.*** New York: Academic Press, 1995, p. 705-724.

[18] Wall PD, Fitzgerald M, Nussbaumer JC, Van der Loos H, Devor M, Somatotopic maps are disorganized in adult rodents treated neonatally with capsaicin. ***Nature*** 295 (1982) 691-3.

[19] Wallace H, Fox K, Local cortical interactions determine the form of cortical plasticity. ***J Neurobiol*** 41 (1999) 58-63.

[20] Wallace H, Glazewski S, Liming K, Fox K, The role of cortical activity in experience-dependent potentiation and depression of sensory responses in rat barrel cortex. ***J Neurosci*** 21 (2001) 3881-94.

[21] Wong-Riley M, Changes in the visual system of monocularly sutured or enucleated cats demonstrable with cytochrome oxidase histochemistry. ***Brain Res*** 171 (1979) 11-28.