بررسی رفتارهای حسی و حرکتی در رت‌های نوروپاتیک قبل و بعد از پیوند داخل نخاعی سلولهای کرومافینی

*دکتر فریناز نصیری‌نژاد I
دکتر هما مناهجی II

چکیده

براساس گزارشهای موجود سلولهای کرومافینی، فعال کننده‌های عصبی متعددی را از کاتکول آمینها و انکفالینها ترشح می‌کنند که در کاهش درد نقش دارند. پیوند قسمت مرکزی آدرنال به عنوان منبع کاتکول آمینی در مدلهای ایجاد کننده ضایعه، همواره مورد استفاده قرار گرفته است. هدف از این مطالعه بررسی نقش پیوند داخل نخاعی قسمت مرکزی آدرنال در ترمیم اعمال حسی و حرکتی به دنبال آسیب اعصاب محیطی بوده است. به این منظور ۳۲ رت از نژاد Sprague Dawley در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم انتخاب و سپس به ٤ گروه تقسیم شدند. برای ایجاد نوروپاتی بر اساس مدل Bennett و Xie ابتدا ٤ گره شل به صورت یک طرفه روی عصب سیاتیک بسته شد. سپس جهت پیوند داخل نخاعی ۱ هفته بعد از ایجاد نوروپاتی در سطح مهره‌های L_1-L_2 نخاع لامینکتومی انجام شد و قطعاتی از مغز غده فوق کلیه که از حیوان دیگری گرفته شده بود با تقسیم به قطعه‌های ۰/۵ میلیمتری در لایه ساب‌دورا گذاشته شد. رفتارهای حسی و حرکتی قبل از ایجاد ضایعه (روز صفر به عنوان کنترل) و سپس در روزهای ۲، ٤، ۷، ۱۰، ۱٤، ۲۱، ۲۸، ٤۲و ٥٦ بعد از آسیب عصبی مورد بررسی قرار گرفت. همچنین رفتار حرکتی حیوان با مشاهده پاسخهای grasping و placing مطالعه شد. جهت بررسی رفتارهای حسی درد از تستهای مکانیکی، حرارتی، استون و مشاهده مستقیم حیوانات استفاده گردید. نتایج نشان داد که آسیب عصب سیاتیک باعث اختلال در رفتارهای طبیعی حرکتی و حسی حیوان می‌شود که ۲ روز پس از ایجاد ضایعه شروع و پس از ۱۰ روز به حداکثر می‌رسد. بر اساس این مطالعه پیوند سلولهای کرومافینی در نخاع می‌تواند باعث کاهش اختلالات حسی و حرکتی حاصل از آسیب عصب گردد.

کلیدواژه‌ها: ۱ – نوروپاتی محیطی ۲ – سلولهای کرومافینی ۳ – درد

مقدمه

درد نوروپاتیک به دردی اطلاق می‌شود که به دنبال آسیب به سیستم عصبی ایجاد می‌شود. اصطلاح درد نوروپاتیک هم در مورد آسیبهای محیطی و هم در مورد آسیبهای مرکزی سیستم عصبی به کار می‌رود، اما درد ایجاد شده به دلیل آسیب اعصاب محیطی شایعتر است.

در این نوع اسیبها فیبرهای عصبی حسی و حرکتی و همچنین میدان دریافتی فیبرها دچار اختلال می‌شود که از مهمترین علائم آن افزایش حس درد است(۱).

جهت بررسی علل این دردها و راههای درمان آن محققان مدلهای حیوانی متعددی را معرفی کرده‌اند که نشان دهنده علائم مشابه در انسان می‌باشد.

این مدلها در شناخت مکانیسمهای مربوط به ایجاد دردهای نوروپاتیک نقش موثری دارند و به کشف راههای مؤثر برای برطرف کردن درد کمک می‌کنند. یکی از معروفترین این مدلها ایجاد فشار روی قسمتی از عصب می‌باشد که به CCI(Chronic constriction injury)

این مقاله در کنگره درد در شهر استامبول ترکیه ارائه شده است، سال ۱۳۸۰.

I) استادیار گروه فیزیولوژی، مرکز علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران(*مولف مسؤول)

II) استادیار گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات و علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی، تهران.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-17]

معروف است. در این مدل با ایجاد فشار روی عصب سیاتیک علائمی شامل پاسخ دردناک نسبت به محرکهای غیر دردناک (allodynia)، افزایش حس درد نسبت به محرکهای آسیب رسان (hyperalgesia)، parasthesia، dysthesia و درد خودبخودی نیز مشاهده می‌شود(۱و ۲).

در کنار ابداع مدلهای مختلف دردهای نوروپاتیک راههای درمان متعددی نیز ارائه شده‌اند که اغلب آنها بر پایه استفاده از او پیوئیدها می‌باشد.

در این رابطه نشان داده شده است که پیوند بافت عصبی در مدلهای حیوانی منجر به برگرداندن رفتارهای عادی در حیوانات می‌شود(۳و ٤). از آنجائیکه قسمت مرکزی غده آدرنال را می‌توان جزئی از سیستم عصبی به حساب آورد و این سلولها قادر به ترشح مواد فعال کننده عصبی هستند(٥)، این فکر که پیوند این سلولها می‌تواند نقصهای ایجاد شده در سیستم عصبی را ترمیم نماید قوت گرفت. مطالعات هیستولوژیکی و ساختمانی نشان داده‌اند که قسمت مرکزی غده آدرنال در موشها دارای ۷۰% سلولهای آدرنرژیکی، ۲٥% سلولهای نورآدرنرژیکی و ٥-۱% سلولهای حاوی گرانولهای کوچک است که می‌توانند مقادیر اندکی دوپامین ترشح نمایند(٦و ۷).

دیده شده است که تزریق اوپیوئیدها و کاتکول آمینها به صورت داخل نخاعی باعث کاهش حس درد(۸، ۹و ۱۰) و همچنین کاهش میزان مورفین مصرفی(۱۱) و حتی عدم نیاز به مورفین در حیوانات می‌شود(۸).

براساس گزارشهای موجود در مدلهای نوروپاتی، تغییرات حسی مشاهده شده همراه با تغییرات ساختمانی در شاخ خلفی نخاع است(۱۲و ۱۳).

در این رابطه تغییرات مورفولوژیکی در شاخ قدامی نخاع نیز گزارش شده است که از جمله آن می‌توان کاهش تراکم رسپتورهای NMDA در نورونهای حرکتی را نام برد(۱٤). با توجه به اینکه گزارشهای کمی در رابطه با اثر پیوند سلولهای کرومافینی قسمت مرکزی غده آدرنال در ترمیم اختلالات حسی و حرکتی در مدلهای حیوانی در مورد نوروپاتی محیطی وجود دارد، در این تحقیق سعی شده است تا اثرات پیوند داخل نخاعی این سلولها روی رفتار حرکتی و حسی حیوانات بررسی گردد.

روش بررسی

در این آزمایش از موش صحرایی نر نژاد sprauge dawley) در محدوده وزنی ۲٥۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد که از مرکز پرورش حیوانات انستیتو پاستور تهیه شده بود. جهت آشنایی با محیط آزمایش ۲هفته قبل از انجام آزمایش حیوانات تحت شرایط آزمایشی با درجه حرارت ۲±۲۲ درجه سانتیگراد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند.

در تمام مدت آزمایش به اندازه کافی آب و غذا در اختیار حیوانات قرار گرفت. حیوانات به صورت تصادفی به ٤ گروه آزمایشی تقسیم شدند که در هر گروه از ۸ حیوان استفاده گردید.

گروههای آزمایش شامل گروههای LL(left ligation)، گروه sham LL، گروه LL+chromaffin و گروه LL+muscle بودند. در گروه LL عصب سیاتیک در پای چپ تحت فشار قرار گرفت و در گروه sham LL تمام اعمال جراحی صورت گرفت اما بعد از دیدن عصب بدون گره زدن آن مجدداً عضلات و پوست بخیه شد.

در گروه LL+muscle بعد از انجام عمل فشردن عصب، جهت بافت کنترل، پیوندی از عضله مخطط تهیه شد و این بافت در ساب‌دورا نخاع قرار داده شد. در گروه LL+chromaffin بعد از عمل فشردن عصب، سلولهای مغز غده فوق کلیه در ناحیه ساب‌دورا نخاع گذاشته شد.

از تمام حیوانات در روزهای صفر یعنی قبل از انجام عمل جراحی، تستهای رفتاری به عمل آمد که این روز به عنوان روز کنترل در نظر گرفته شد.

سپس در روزهای ۲، ٤، ۷، ۱۰، ۱٤، ۲۱، ۲۸، ٤۲و ٥٦ نیز این تستها تکرار شدند. قبل از انجام آزمایشها، حیوانات بطور دقیق وزن می‌شدند. ترتیب تستهای انجام شده در

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-17]

تمام روزهای آزمایش، مشابه یکدیگر بود و در تمام مراحل آزمایش اعم از جراحی یا بررسی تستهای رفتاری از روشهای استاندارد مربوط به قوانین اخلاقی انجمن بین‌المللی مطالعه درد (IASP) استفاده گردید.

روشهای جراحی: تمام اعمال جراحی در محیط استریل انجام شد.

ـ روش ایجاد نوروپاتی: جهت ایجاد فشردگی روی عصب سیاتیک ابتدا حیوانات با تزریق مخلوط کتامین و رومپان (به نسبت ۸ به ۱) براساس وزن بدن بیهوش شدند.

پس از اطمینان از بیهوشی کامل، موهای ناحیه ران حیوان در روی پای چپ تمیز شد و با اسکالپل ۱ شکافی به طول ۲ سانتیمتر روی پوست و عضله حیوان در ناحیه ران ایجاد گردید. پس از مشاهده عصب سیاتیک آن را از بافتهای اطراف جدا نموده و بر اساس مدل ارائه شده توسط Bennett و Xie(۲) قبل از ناحیه سه شاخه‌شدن، با استفاده از نخ ٤/٠ کرومیک، ٤ گره شل به فواصل ۱ میلیمتری روی عصب زده شد.

پس از دوختن عضله و پوشاندن آن با پماد تتراسایکلین پوست بخیه زده شد. سپس حیوان در قفس گذاشته شد و پس از بهوش آمدن به اتاق مخصوص نگهداری حیوانات منتقل گردید.

ـ روش جدا کردن سلول جهت پیوند: ابتدا حیوان دهنده با استفاده از مخلوط کتامین و رومپان بیهوش شد، سپس با ایجاد ۲ شکاف طولی در ۲ پهلوی حیوان هر دو غده فوق کلیه از بدن خارج و در محلول RPMI(Roswell Park Medical Institut) روی یخ گذاشته شد و به زیر هود منتقل گردید. سپس قسمت مرکزی غده از قسمت قشری آن جدا و پس از تقسیم به قطعه‌های ۰/۵ میلیمتری، با احتیاط به زیر سخت شامه در نخاع حیوان گیرنده منتقل گردید.

لازم به ذکر است که در حیوان گیرنده از هر دو غده حیوان دهنده استفاده شد زیرا براساس گزارشهای موجود، این میزان سلول حداقل میزان لازم جهت از بین بردن رفتارهای درد است. در حیواناتی که از سلول عضله به جای سلول کرومافینی جهت پیوند استفاده شده بود حجمی معادل حجم قسمت مرکزی غده فوق کلیه از عضله (thoracolumber fascia) از ناحیه پشت حیوان دهنده گرفته شد و پس از تقسیم به قطعه‌های ۰/۵ میلیمتری به زیر سخت شامه در نخاع حیوان گیرنده منتقل شد.

ـ روش پیوند سلول به داخل نخاع: یک هفته پس از ایجاد فشردگی روی عصب سیاتیک، حیوانات مجدداً با مخلوط کتامین و رومپان بیهوش شدند پس از اطمینان از بیهوشی کامل، موهای ناحیه پشت و اطراف ستون مهره‌ها تمیز و ۱ شکاف به طول ۳ سانتیمتر در ناحیه T_{10} تا L_2 روی ستون مهره‌ها ایجاد گردید. سپس با کنار زدن عضلات اطراف ستون مهره‌ها و دیدن سطح پشتی استخوان مهره با استفاده از ۱ قیچی بطوری که آسیبی به سخت شامه نرسد، سطح پشتی استخوان در مهره L_1 تا L_2 برداشته شد و با ایجاد ۱ شکاف کوچک در سخت شامه قطعه‌های سلولی به زیر آن منتقل گردید.

در خاتمه، استخوان سطح پشتی مهره‌ها در جای خود قرار داده شد و عضلات در ناحیه مذکور بخیه زده شدند و پس از استفاده از پماد تتراسایکلین پوست نیز بخیه زده شد. تستهایی که برای بررسی رفتار حسی و حرکتی مورد استفاده قرار گرفت در مورد تمام حیوانات به ترتیب زیر انجام شد:

ـ مشاهده مستقیم رفتار حیوان:

جهت بررسی رفتار حیوان و چگونگی استفاده از پای آسیب دیده در زمان راه رفتن، حیوان به مدت ۵ دقیقه در محفظه‌ای که از بیرون داخل آن قابل دیدن بود مورد مشاهده قرار گرفت و به صورت زیر درجه‌بندی گردید.

۰= قرار گرفتن کف پا به صورت عادی روی زمین. ۱= جمع شدگی انگشتان به سمت کف پا، ۲=قرار گرفتن پا از سمت داخل(Medial) روی زمین، ۳= جمع‌شدگی انگشتان و قرارگرفتن پا از سمت پاشنه روی زمین. ٤= بالا

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-17]

گرفتن پا، ۵= لیسیدن پا. سپس با استفاده از فرمول زیر درجه رفتار حیوان مورد محاسبه قرار گرفت.

+(مدت زمان رفتار ۲)×۲+(مدت زمان رفتار ۱)×۱= درجه رفتار حیوان
۳۰۰/(مدت زمان رفتار ۵)×۵+(مدت زمان رفتار ٤)×٤+(مدت زمان رفتار۳)×۳

ـ بررسی پاسخهای حرکتی: جهت بررسی پاسخ grasping، حیوان روی شبکه‌ای میله‌ای قرار داده شد و چگونگی گرفتن میله‌ها توسط پای آسیب دیده مشاهده گردید. این عمل ۵ بار تکرار شد و با هر پاسخ طبیعی یک علامت مثبت و با هر بار پاسخ غیر طبیعی ۱ علامت منفی درج می‌گردید.

جهت بررسی پاسخ placing، حیوان در بالای میز نگه داشته شده و بتدریج به سطح میز نزدیک می‌گردید. در شرایط طبیعی حیوان در هنگام نزدیک شدن به سطح میز، پای خون را باز می‌کند که در این حالت ۱ علامت مثبت در نظر گرفته می‌شد و در صورتی که حیوان نوروپاتیک باشد، پای خود را باز نمی‌کند که ۱ علامت منفی در نظر گرفته می‌شد.

ـ بررسی پاسخهای حسی: پاسخ نسبت به فشار ثابت: با استفاده از یک گیره که فشار ثابتی را وارد می‌کرد، کف پای حیوان در ناحیه میانی پا نیشگون گرفته می‌شد و پاسخ حیوان به شرح زیر درجه‌بندی می‌گردید.

۰= بدون پاسخ، ۱= با تأخیر پای خود را می‌کشد، ۲= بلافاصله پای خود را می‌کشد، ۳= پای خود را کشیده و لیس می‌زند، ٤= پای خود را کشیده، گاز می‌گیرد و جیغ می‌زند. پاسخ به حباب استون: حیوان را در یک محفظه شفاف روی یک شبکه میله‌ای قرار داده و توسط سرنگ یک حباب استون از سمت پاشنه پا با کف پا تماس داده می‌شد. در صورتی که استون ایجاد پاسخ می‌نمود علامت مثبت و در شرایطی که بدون پاسخ بود، علامت منفی می‌گرفت. این عمل ۵ بار تکرار می‌شد و تعداد دفعات پاسخ مثبت با توجه به فرمول زیر به صورت درصد بیان می‌گردید.

$$\frac{\text{تعداد پاسخ مثبت}}{\text{تعداد کل آزمایش}} \times ۱۰۰$$

ـ پاسخ نسبت به حرارت: کف پای حیوان در داخل ظرف آبی با حرارتهای ۱۰، ٤۰و ٤۲ درجه قرار می‌گرفت. فاصله زمانی بین وارد کردن پا به داخل آب و عقب کشیدن آن توسط یک کرنومتر اندازه‌گیری و برای هر درجه حرارت این عمل ۲ بار تکرار می‌شد. سپس تفاوت زمان پای آسیب دیده و پای سالم با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌گردید.

زمان مربوط به پای سالم ـ زمان مربوط به پای آسیب دیده=تفاوت زمانی بین ۲ پا

فاصله‌های بین دفعات آزمایش برای هر درجه حرارت حداقل ۵ دقیقه بود. میانگین ۲ زمان به دست آمده برای هر درجه حرارت نشان دهنده میزان تحمل حیوان بود.

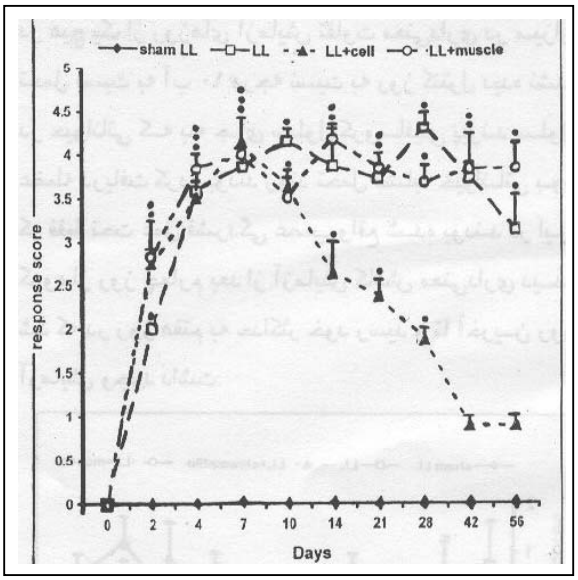
نتایج حاصل از تستهای رفتاری با استفاده از تست ANOVA یک طرفه بررسی شد و در صورتی که $P<۰/۰۵$ بود جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از تست Newman Keul استفاده می‌گردید. داده‌ها به صورت Mean + SEM گزارش شده است.

نتایج

ـ بررسی رفتار طبیعی حیوانی: نمودار شماره ۱ نتایج مربوط به بررسی رفتار طبیعی حیوانات را نشان می‌دهد. همان گونه که در شکل دیده می‌شود، در گروهی که عصب سیاتیک در پای چپ تحت فشار واقع شده بود از دومین روز پس از عمل جراحی افزایش معنی‌داری در Score رفتاری نسبت به روز صفر یعنی قبل از انجام عمل جراحی ایجاد شده بود. این افزایش درجه نشان دهنده حس درد خودبخودی در حیوان بود که تا روز آخر آزمایش یعنی روز ٥٦ بعد از عمل جراحی معنی‌دار باقی ماند. در گروه sham LL انجام عمل sham اثری روی رفتار طبیعی حیوانات نداشت و همگی تا آخرین روز آزمایش درجه صفر را در رفتار نشان دادند که نشان دهنده طبیعی بودن رفتار درد می‌باشد. در حیواناتی که ۱ هفته پس از فشردگی عصب در پای چپ سلولهای کرومافینی در داخل نخاع آنها گذاشته شده بود تا روز هفتم بعد از عمل فشردگی عصب،

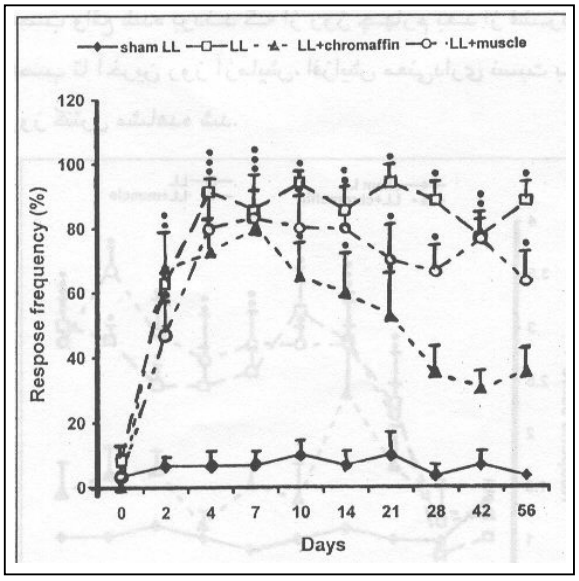
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-17]

یعنی قبل از انجام پیوند، افزایش score را در رفتار، مشابه حیوانات گروه LL، نشان دادند. اما با توجه به نمودار، پس از انجام عمل پیوند بتدریج درجه رفتار حیوان کاهش یافته بود. البته تا روز ۲۸، درجه رفتار حیوانات هنوز نسبت به روز کنترل به صورت معنی‌داری افزایش داشت که بتدریج پس از آن یعنی در ماه دوم درجه رفتار درد حیوان به قدری کاهش یافته بود که نتایج آماری، تفاوت معنی‌داری را نسبت به روز کنترل نشان نداد. در حیواناتی که به جای سلول کرومافینی سلول عضله مخطط در نخاع آنها گذاشته شده بود درجه رفتار طبیعی مشابه گروهی بود که فقط تحت عمل فشردگی عصب قرار گرفته بودند.



نمودار شماره ۱- تغییرات رفتار طبیعی حیوانات در گروههای آزمایشی مختلف در طول ٥٦ روز آزمایش. تفاوت معنی‌دار ($P<0/05$) نسبت به روز کنترل با علامت ● نشان داده شده است.

ـ پاسخ نسبت به حباب استون: در حیواناتی که تحت عمل فشردگی عصب در پای چپ قرار گرفته بودند از روز دوم بعد از عمل افزایش پاسخ نسبت به روز کنترل، مشاهده شد که این افزایش کاملاً معنی‌دار بود و تا آخرین روز آزمایش یعنی روز ٥٦ نیز وجود داشت. در حیوانات گروه sham LL که تحت عمل sham قرار گرفته بودند در هیچ یک از روزهای آزمایش پاسخ متفاوتی نسبت به روز کنترل در جواب به حباب استون وجود نداشت. در حیواناتی که ۱ هفته بعد از عمل فشردن عصب، سلول کرومافینی در داخل نخاع آنها گذاشته شده بود، الگوی افزایش درصد پاسخ تا روز هفتم بعد از جراحی مشابه گروه LL بود اما پس از آن بتدریج درصد پاسخ نسبت به حباب استون کاهش یافت و از روز ۲۸ به بعد پاسخ به حباب استون نسبت به روز صفر معنی‌دار نبود. در حیواناتی که به جای سلول کرومافینی پیوند سلول عضله مخطط را دریافت کرده بودند از روز دوم بعد از آزمایش افزایش معنی‌داری در پاسخ نسبت به حباب استون دیده شد که این افزایش تا آخرین روز آزمایش نسبت به روز کنترل به صورت معنی‌داری ادامه داشت(نمودار شماره ۲).



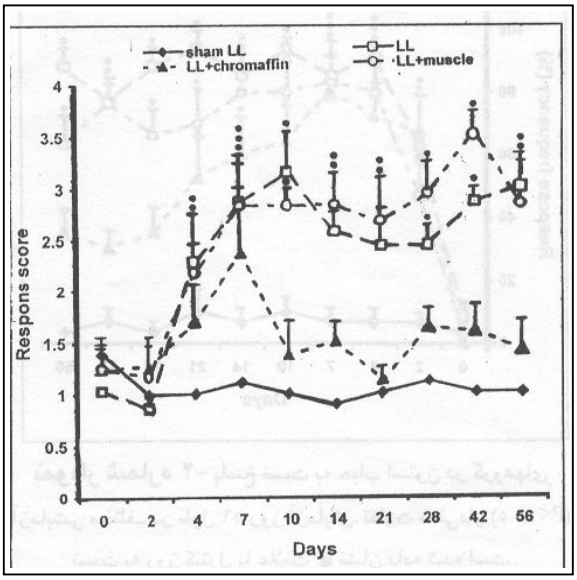
نمودار شماره ۲- پاسخ نسبت به حباب استون در گروههای آزمایشی مختلف در طول ٥٦ روز آزمایش. تفاوت معنی‌دار ($P<0/05$) نسبت به روز کنترل با علامت ● نشان داده شده است.

ـ بررسی پاسخ نسبت به فشار ثابت: نمودار شماره ۳ پاسخ حیوانات را نسبت به ۱ گیره که فشار ثابتی را به کف پا اعمال می‌کرد نشان می‌دهد. در حیواناتی که عصب سیاتیک در پای چپ آنها تحت فشار واقع شده بود، پاسخ در روز دوم بعد از عمل تفاوتی را نسبت به روز کنترل نشان نداد اما افزایش پاسخ از روز چهارم به بعد و تا

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-17]

آخرین روز آزمایش تفاوت معنی‌داری را نسبت به روز کنترل نشان داد. در حیوانات گروه sham LL که تحت عمل sham قرار گرفته بودند در روزهای آزمایش تغییر معنی‌داری نسبت به روز کنترل وجود نداشت. در حیواناتی که پیوند سلولهای کرومافینی را دریافت کرده بودند، در روز هفتم بعد از عمل فشردگی عصب، یعنی تا قبل از عمل پیوند، افزایش پاسخ نسبت به روز کنترل دیده شد.

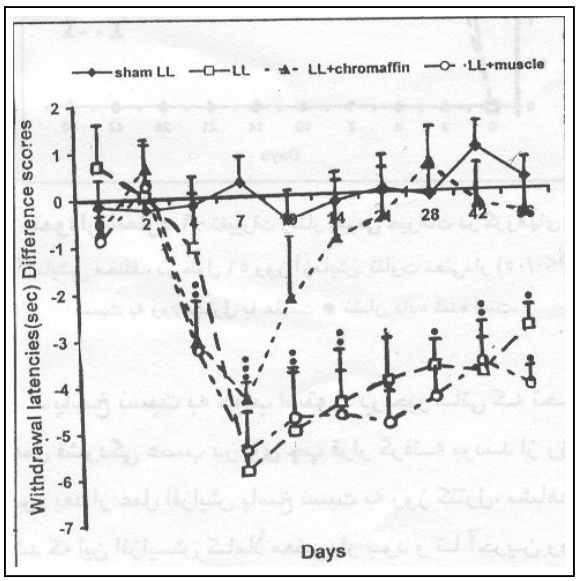
اما پس از انجام پیوند تا آخرین روز آزمایش، تفاوت معنی‌داری بین روزهای آزمایش با روز کنترل وجود نداشت. در گروهی که به جای سلول کرومافینی سلول عضله مخطط را دریافت کرده بودند روند پاسخ نسبت به فشار ثابت، مانند گروهی بود که فقط تحت عمل فشردگی عصب واقع شده بودند که از روز چهارم بعد از فشردن عصب تا آخرین روز آزمایش، افزایش معنی‌داری نسبت به روز کنترل مشاهده شد.



نمودار شماره ۳- پاسخ نسبت به فشار ثابت در گروههای آزمایشی مختلف در طول ٥٦ روز آزمایش. تفاوت معنی‌دار ($P<0/05$) نسبت به روز کنترل با علامت ● نشان داده شده است.

ـ پاسخ نسبت به آب ۱۰ درجه: نمودار شماره ٤ مدت زمان تحمل حیوان را در زمانی که پای آسیب دیده در آبی با درجه حرارت ۱۰ درجه سانتیگراد قرار گرفته بود نشان می‌دهد. همان گونه که در نمودار مشخص است در حیواناتی که عصب سیاتیک در پای چپ تحت فشار قرار داشت، از روز هفتم بعد از عمل کاهش معنی‌داری در زمان تحمل نسبت به آب ۱۰ درجه نسبت به روز کنترل مشاهده شد که این کاهش نشان دهنده وجود حس درد بود و تا آخرین روز آزمایش به طور معنی‌داری وجود داشت.

در حیوانات گروه sham LL در هیچ یک از روزهای آزمایش تغییر معنی‌داری نسبت به روز کنترل مشاهده نشد. در حیواناتی که ۱ هفته بعد از عمل فشردن عصب تحت عمل پیوند سلول کرومافینی قرار گرفته بودند فقط در روز هفتم کاهش تحمل نسبت به روز کنترل مشاهده شد و پس از آن در هیچ یک از روزهای آزمایش تفاوت معنی‌داری در میزان تحمل نسبت به آب ۱۰ درجه نسبت به روز کنترل دیده نشد. در حیواناتی که به جای سلول کرومافینی پیوند سلول عضله دریافت کرده بودند روند تحمل مشابه حیواناتی بود که فقط تحت عمل فشردگی عصب واقع شده بودند در این گروه از روز چهارم بعد از آزمایش کاهش معنی‌داری دیده شد که در روز هفتم به حداکثر خود رسید و تا آخرین روز آزمایش وجود داشت.



نمودار شماره ۴- پاسخ نسبت به آب ۱۰ درجه در گروههای آزمایشی مختلف در طول ٥٦ روز آزمایش. تفاوت معنی‌دار ($P<0/05$) نسبت به روز کنترل با علامت ● نشان داده شده است.

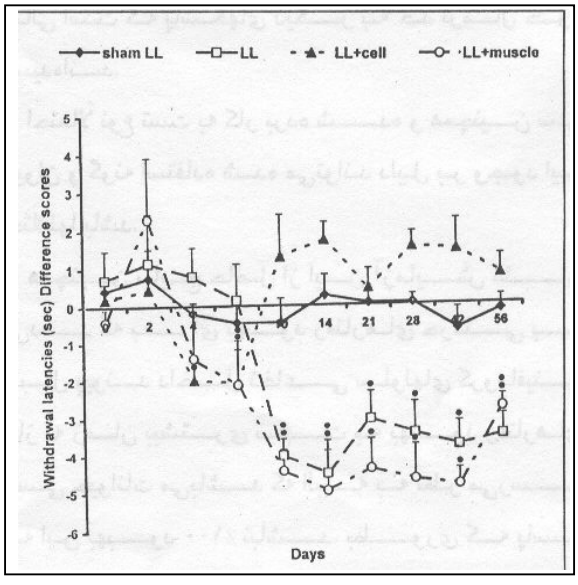
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-17]

ـ پاسخ نسبت به آب ۴۰ درجه: نمودار شماره ۵ نشان دهنده تفاوت زمان بین پای آسیب دیده و پای سالم در ٤ گروه مورد آزمایش می‌باشد.

بر اساس نمودار در حیواناتی که فقط تحت عمل فشردن عصب قرار گرفته بودند از روز دهم بعد از عمل و در حیواناتی که تحت پیوند سلول عضله قرار گرفته بودند از روز چهارم آزمایش، تفاوت معنی‌داری در میزان تحمل نسبت به آب ٤٠ درجه نسبت به روز کنترل دیده شد.

این تفاوت معنی‌دار تا آخرین روز آزمایش نیز وجود داشت که نشان دهنده حس درد در حیوان است. در حیوانات گروه sham LL تغییری در هیچ یک از روزهای آزمایش نسبت به روز کنترل مشاهده نشد.

در حیواناتی که عمل پیوند سلول کرومافینی صورت گرفته بود در روز چهارم و هفتم بعد از شروع آزمایش تفاوت معنی‌داری نسبت به روز کنترل دیده شد اما این تفاوت از روز دهم بعد از عمل از بین رفته و از روز دهم تا آخرین روز آزمایش در این گروه تفاوت معنی‌دار نسبت به روز کنترل وجود نداشت.



نمودار شماره ۵- پاسخ نسبت به آب ٤٠ درجه در گروههای آزمایشی مختلف در طول ٥٦ روز آزمایش. تفاوت معنی‌دار ($P<0/05$) نسبت به روز کنترل با علامت ● نشان داده شده است.

ـ پاسخ نسبت به آب ۴۲ درجه: تمام گروههای مورد آزمایش در کل روزهایی که تحت آزمایش بودند تفاوت معنی‌داری را نسبت به روز کنترل نشان ندادند.

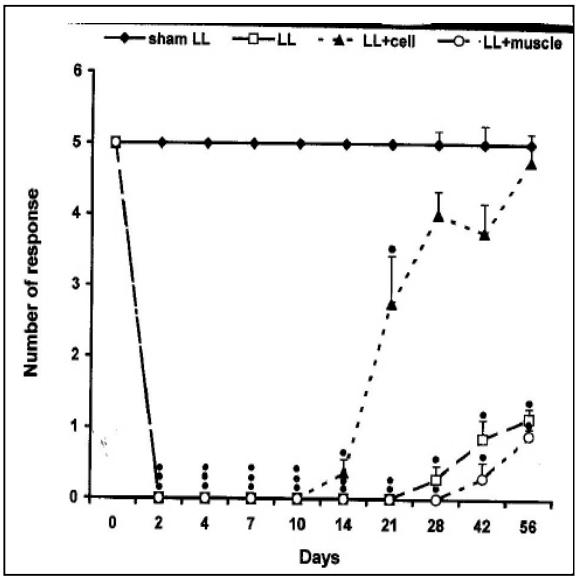
البته در گروهی که تحت عمل فشردن عصب و همچنین در گروهی که پیوند عضله دریافت کرده بودند از روز چهارم بعد از آزمایش کاهش تحمل دیده شد که تا آخرین روز آزمایش وجود داشت اما با تستهای آماری مورد استفاده، این کاهش در هیچ یک از روزهای آزمایش معنی‌دار نبود.

ـ بررسی پاسخهای حرکتی: پاسخ placing: در حیوانات گروه sham هیچ نوع اختلالی در این پاسخ دیده نشد در حالی که در گروه آزمایشی دیگر بعد از انجام عمل فشردگی عصب این پاسخ کاملا از بین رفته بود و در گروه LL و LL+muscle نیز تا آخرین روز آزمایش این پاسخ بهبود نیافته بود.

در گروهی که پیوند سلول کرومافینی دریافت کرده بودند، تا روز ۲۱ بعد از عمل تفاوت معنی‌داری نسبت به روز کنترل دیده شد اما این کاهش فقط تا روز ۲۱ ادامه داشت و از روز ۲۸ تا آخرین روز آزمایش تفاوت معنی‌داری نسبت به روز کنترل در این گروه دیده نشد.

پاسخ grasping: در گروه sham در تمام روزهای آزمایش تغییر معنی‌داری نسبت به روز کنترل مشاهده نشد اما در سایر گروهها تا آخرین روز آزمایش این پاسخ برنگشته بود و تفاوت معنی‌داری نسبت به روز کنترل وجود داشت که بیانگر پاسخ بهبود نیافته بود(نمودار شماره ٦).

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-17]



نمودار شماره ۶- تغییرات مربوط به رفلکس Placing در گروه‌های آزمایشی مختلف در طول ٥٦ روز آزمایش. تفاوت معنی‌دار $P<0/05$ نسبت به روز کنترل با علامت ● نشان داده شده است.

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که پس از آسیب عصبی ایجاد شده در مدل نوروپاتی ارائه شده، نه تنها رفتارهای حسی در حیوانات دچار اختلال می‌شود بلکه تغییراتی نیز در پاسخهای حرکتی ایجاد می‌گردد.

پیوند سلولهای کرومافینی در فضای زیر عنکبوتیه می‌تواند تغییرات رفتاری ایجاد شده به دنبال آسیب عصبی را بهبود بخشد که این نتایج مشابه نتایج به دست آمده توسط سایر محققان نیز می‌باشد(۲، ۹و ۱۵).

نتایج حاصل از بررسیهای رفتاری حسی حیوانات نشان داد که حداکثر درد در حیوانات نوروپاتیک در حدود روز دهم بعد از عمل فشردگی عصب سیاتیک ایجاد می‌شود.

محققان دیگر نیز حداکثر درد را در هفته دوم بعد از ایجاد این مدل نوروپاتی، گزارش نموده‌اند(۲، ۹، ١٦و ۱۷).

از آزمایشهای انجام شده می‌توان نتیجه گرفت که پیوند سلولهای کرومافینی از مغز غده فوق کلیه، منجر به برگرداندن تمام رفتارهای حسی به سطح نرمال می‌شود. زمان تأثیر این پیوند در آزمایشهای مختلف بررسی کننده حس درد، متفاوت می‌باشد.

به عنوان مثال در مورد پاسخ به حباب استون که نشان دهنده آلودینیا نسبت به سرما است، این بهبود دیرتر حاصل می‌شود در حالی که پاسخ نسبت به آب با درجات مختلف حرارتی و پاسخ نسبت به تست مکانیکی با سرعت بیشتری بهبود می‌یابد. بطوری که بهبودی در مورد تست مکانیکی ۳ روز پس از پیوند سلول قابل مشاهده است که البته این مطلب با گزارشهای ارائه شده توسط Yu و همکارانش تفاوت دارد(۱۸).

بر اساس گزارش این محققان بهبود پاسخ در تستهای مکانیکی با تأخیر انجام می‌شود و تا ۱ هفته پس از پیوند هنوز تأثیری در کاهش رفتار درد حیوان نسبت به تستهای مکانیکی ایجاد نشده است و این در حالی است که پاسخهای دیگر به حد نرمال خود رسیده‌اند.

احتمالاً نوع تست به کار برده شده و همچنین سن حیوان و گونه استفاده شده می‌تواند دلیل بر وجود این اختلافها باشد.

همچنین نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که برای بهبود رفتارهای حرکتی به دنبال پیوند داخل نخاعی سلولهای کرومافینی نیاز به زمان بیشتری نسبت به بهبود رفتارهای حسی حیوانات می‌باشد که البته به نظر می‌رسد که این بهبود ۱۰۰% نباشد. بطوری که پاسخ placing که به دنبال ایجاد فشردگی در عصب دچار اختلال گردیده بود در هفته سوم پس از پیوند به حالت طبیعی برگشته بود اما هیچ نوع بهبودی در مورد اختلال ایجاد شده پس از عمل فشردگی

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-17]

عصب به دنبال پیوند این سلولها در پاسخ grasping مشاهده نشد.

براساس گزارش Sagen و همکارانش ۱ هفته بعد از پیوند، اثرات بهبود در هر دو پاسخ حرکتی دیده می‌شود. البته براساس نتایج ارائه شده توسط وی در هفته اول پس از پیوند هنوز تفاوت معنی‌داری بین تعداد دفعات پاسخ طبیعی در حیوانات نوروپاتی شده نسبت به حیوانات سالم دیده می‌شود(۹).

علت تفاوت اثر پیوند این سلولها بر پاسخ placing و grasping در این آزمایش را می‌توان این گونه تفسیر کرد که پاسخ placing پاسخ ساده‌تری بوده و تعداد فیبرهای عصبی کمتری در آن دخالت دارند، در حالی که پاسخ grasping دقیقتر بوده و تعداد فیبرهای عصبی بیشتری درگیر آن می‌باشند.

این احتمال وجود دارد که طبیعی شدن این پاسخ بعد از پیوند نیاز به زمان طولانی‌تری داشته باشد.

با توجه به اینکه در ایجاد پاسخها، اغلب عضلات زیر زانو یعنی بطور عمده عضلات tibialis antrior و gastrocnemius/soleus دخالت دارند(۲) و پاسخهای مربوط به عضلات بالای زانو مثل پاسخ کشیدن پا نسبت به محرکهای دردناک و غیر دردناک سالم باقی مانده است، به نظر می‌رسد که بیشترین آسیبها مربوط به تخریب آکسونهای Aα باشد که عصب‌گیری عضلات زیر زانو مربوط به آنها است(۱۹و ۲۰).

مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که سلولهای کرومافینی می‌توانند نورواکتیوها(۶، ۱۰، ۲۱و ۲۲) و مواد متعدد دیگری را ترشح نمایند که بعضی از آنها اثرات ضد دردی دارند که از بین آنها می‌توان به کاتکول آمینها و اوپیوئیدها اشاره نمود. با استفاده از آنتاگونیستهای این ۲ ماده می‌توان اثرات ضد درد ایجاد شده به دنبال پیوند این سلولها را از بین برد(۲۳).

علاوه بر این، افزایش این ۲ ماده در CSF حیوانات پیوند شده گزارش شده است(۲۴).

با توجه به اینکه راههای کاتکول آمینژیک پایین رو از ساقه مغز در تسهیل اعمال حرکتی در حیوانات دخالت دارند(۲۵و ۲۶)، به نظر می‌رسد پیوند سلولهای کرومافینی در نخاع از طریق آزاد کردن کاتکول آمینها بتواند بهبودی در اعمال حرکتی را تسهیل نماید. البته این احتمال وجود دارد که نورترانسمیترهای دیگری مثل گلوتامات نیز در این پدیده دخالت داشته باشند(۲۵).

بطور خلاصه نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که پیوند سلولهای کرومافینی در فضای زیر عنکبوتیه می‌تواند اختلال حسی ایجاد شده به دنبال آسیب عصبی را بهبود بخشد و تا حدودی پاسخهای حرکتی را برگرداند که این عمل احتمالاً به دلیل آزاد شدن مواد مختلف توسط این سلولها می‌باشد.

منابع

1- Wall PD., Melzack R., Textbook of pain. 4th edition. London, Churchill livingstong, 1999, PP: 176, 365-366.

2- Bennett GJ., Xie YKA., peripheral monoeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in men., Pain, 1988: 33: 87-107.

3- Bjorklund A., Stenevi U., Neural grafting in mammalian CNS., Amesterdam Elsevier, first edition, 1985, PP: 709.

4- Das GD., Wallace RB., Neural transplantation and regeneration, New York springes, first edition, 1986, PP: 330.

5- Wilson SP., Chang KJ., Viveros OH., Proportional secretion of opioid peptides and catecholamines from adrenal chroma ffin cell in culture, J. Neurosci., 1982., 2: 1150-1156.

6- Livett BG., Dean DM., Whelan LG., et al., Co-release of enkephalin and catecholamines from cultured adrenal chromaffin cells, Nature, 1981, 289: 317-319.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-17]

7- viverson GH., Wilson SP., Chaing KJ., Regulation of synthesis and secretion of enkephalins and related peptides in adrenomedullary chromaffin cells and human pheochromocytoma, In: costa and E, Trabucchi M., regulatory peptides: From Molecular Biology to function, NewYork, Raven press: secound edition, 1982, PP: 217-224.

8- Pappas GD., Lasorthes Y., bes JC., et al., Relief of intractable cancer pain by human chromaffin cell transplants. Experience at two medical centers, Neurol, Res, 1997, 19: 71-77.

9- Siegan JB., Sagen J., Adrenal Medullary transplants attenuate sensorimotor dysfunction in rats with peripheral Neuropathy, pharma. Biochem. Beha, 1998, 59: 97-104.

10- Lazorphes Y., Sagen J., Sallerin B., et al., Human chromaffin cell graft into the CSF for cancer pain management, pain 2000, 87: 19-32.

11- Sagen J., Wang H., Adrenal medullary grafts suppress c-fos induction in spinal neurons of arthritic rats, Neurosci. Lett, 1995, 192: 1-4.

12- Hama a., Pappas GD., Sagen J., Adrenal medullary implants reduce transsynaptic degeneration in the spinal cord of rats following chronic constriction nerve injury, Exp, Neurol, 1996: 137: 81-93.

13- Ibuki T., Hama A., Wang X-T., et al., Loss of GABA-immunoreactivity in the spinal dorsal horn of rats with peripheral nerve injury and promotion of recovery by adrenal medullary graft, Neurosci, 1997, 76: 845-58.

14- Hama AT., Unnerstall JR., Siegan JB., et al., Modulation of NMDA receptor expression in the rat spinal cord by peripheral nerve injury and adrenal medullary grafting. Brain Res, 1995: 687: 103-113.

15- Kingery WS., Lu JD., Roffers JA., et al., The resolution of neuropathic hyperalgesia following motor and sensory functional recovery in sciatic axonotmetic mononeuropathies, Pain: 1994, 58: 157-168.

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

17- Shimisu T., Shibata M., Wakisaka S., et al., Intrathecal lithium reduces neuropathic pain responses in a rat model of peripheral neuropathy, pain, 2000, 85: 59-64.

18- IIUO W., YU JX., Saydoff XJ., et al., Long-term alleviation of allodynia like behaviors by intrathecal implantation of bovin chromaffin cells in rat with spinal cord injury pain, 1998, 34: 115-122.

19- Ro LS., Jacobs JM., The role of the saphenous nerve in experimental sciatic nerve mononeuropathy produced by loose ligature, A behavioral study, pain 1993, 52: 359-369.

20- Munger BL., Benneth GJ., Kajander KC., An experimental painful peripheral neuropathy due to nerve constriction. I. Axonal pathology in the sciatic nerve. Exp. Neurol, 1992, 118: 204-214.

21- Forander P., Hoffer b., Stromberg I., Nerve fiber formation and catecholamine content in adult rat adrenal medullary transplants after treatment with NGF., NT-3, NT-4/5, bFGF, CNTF and GDNF. Cell tissue Res, 1998, 292: 503-512.

22- Date I., Ohmoto T., Neural transplantation and trophic factors in parkinsons disease: special reference to chromaffin cell grafting NGF support from pretransected peripheral Nerve and encapsulted dopamine-secreting cell grafting, Exp. Neurol, 1996, 137: 333-344.

23- Sgen J., Wang H., Tresco P., Aeboscjer P., Transplants of immunologically isolated xenogeneic chromaffin cells provide along-term source of pain reducing neuroactive substances, J, Neurosci, 1993, 13: 2415-2423.

24- Sagen J., Kenler JE., Wang H., Adrenal medullary transplants increase spinal cord cerebrospinal fluid catecholmine levels and reduce pain sensitivity, J. Neurochem, 1991, 56: 623-627.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-17]

25- Fung SJ., Chan JY., Manzoni D., et al., Co transmitter-mediated locus coeruleus action on motor neurons, Brain Res. Bull, 1994, 35: 423-432.

26- Fung SJ., Manzoni D., Chan YY., et al., Locus coeruleus control of spinal motor output, Prog. Brain Res, 1991, 88: 395-409.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-17]

SENSORY AND MOTOR BEHAVIORS OF NEUROPATHIC RATS FOLLOWING SPINAL TRANSPLANTATION OF CHROMAFFIN CELLS

*F. Nasiri Nejad, Ph.D [I] H. Manaheji, Ph.D [II]

ABSTRACT

It has been reported that chromaffin cells secrete some neuroactive substances particularly opioid peptides and catecholamines which reduce pain. Adrenal medullary implant, have been used in other injury models to provide an endogenous source of catecholamines. The goal of the present study was to determine whether adrenal medullary implants in the spinal space could repair sensory and motor function following peripheral nerve injury. For this reason 32 male Sprague Dawley rats weighing 250-300 g were allocated to 4 groups. Unilateral chronic constriction nerve injury inuced by 4 loose ligature around sciatic nerve according to Bennett and Xie model. One week after nerve surgery some animals were implanted with either adrenal medullary tissue or control tissue. Implanted tissue were obtained from adult male rats. For implantation laminectomy at L1-L2 level has been done and graft tissue was implanted under dura. Behavioral test for sensory and motor function were done prior to nerve injury (day 0) as control and 2, 4, 7, 10, 14, 21, 28, 42, 56 days after injury. Motor function was assessed using grasping and placing reflexes. Sensory behavior was determined by passive observation of animal, mechanical, paw immersion and acetone tests. Results of this study demonstrated that chronic constriction injury produce disturbance of sensory and motor function which begins after 2 days and reaches to maximum after 10 days and adrenal medullary implants into the spinal subarachnoid space can attenuate motor and sensory dysfunction in rats with peripheral neve injury.

Key Words: 1) Peripheral neuropathy 2) Chromaffin cells 3) Pain

This article presented in congress of pain in Estambol (Turkish), 2001.

I) *Ph.D, Assistant professor of physiology, center of Basic sciences, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran(*Corresponding author)*

II) *Ph.D, Assistant professor of physiology, Reserch center of neurology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-17]