



١٣. ٨٧٩ - ٢٠٠٩ ٣٢



دانشگاه تربیت مدرس  
دانشکده علوم پزشکی

رساله دوره دکتری تخصصی PhD

در رشته فیزیولوژی انسانی

بررسی اثر تزریق اورکسین A به داخل ماده خاکستری دور قناتی و قسمت  
سری میانی - شکمی بصل النخاع موش صحرایی بر رفتارهای دردی و پاسخ  
الکتروفیزیولوژیک به محرک دردناک

نگارش

حسن اژدری زرمهری

استاد راهنما

دکتر سعید سمنانیان

استاتید مشاور

دکتر یعقوب فتح‌الهی

دکتر محمد تقی طریحی

تابستان ۱۳۸۸

۱۳۸۸/۱۱/۶

کتابخانه تخصصی  
فیزیولوژی

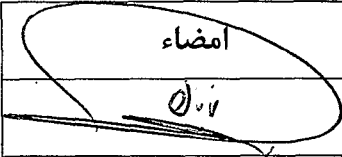
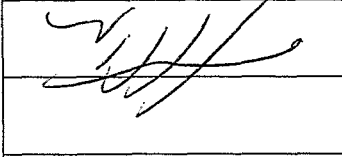
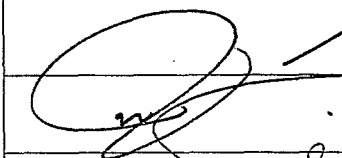

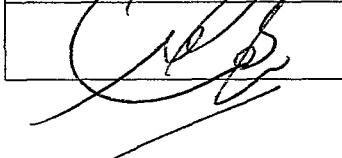



۱۳۰۸۷۹



بسمه تعالیٰ

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

آقای حسن اژدری رشته فیزیولوژی رساله دکتری واحدی خود را با عنوان: " بررسی اثر تزریق اورکسین A به داخل ماده خاکستری دور قناتی و قسمت سری میانی - شکمی بصل النخاع موش صحرائی بر رفتارهای دردی و پاسخ الکتروفیزیولوژیک به محرک دردناک " در تاریخ ۸۸/۶/۲۳ ارائه کردند. اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده است و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می کنند.

امضاء	نام و نام خانوادگی	اعضای هیات داوران
	دکتر سعید سمنانیان	۱- استاد راهنما
	دکتر تقی طریحی	۲- استاد مشاور
	دکتر یعقوب فتح اللهی	۳- استاد مشاور
	دکتر محمد جوان	۴- استاد ناظر
	دکتر سهراب حاجی زاده	۵- استاد ناظر
	دکتر نیما نادری	۶- استاد ناظر
	دکتر افسانه الیاسی	۷- استاد ناظر
	دکتر سیدجواد میرنجفی زاده	۸- نماینده تحصیلات تکمیلی

# آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی

## دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان‌نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

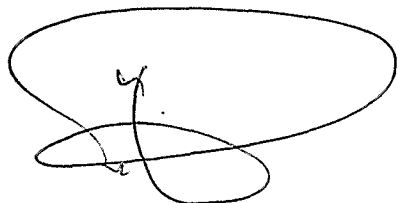
ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان‌نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.



## آیین نامه پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت های علمی پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

"کتاب حاضر، حاصل رساله دکتری نگارنده در رشته فیزیولوژی است که در سال ۱۳۸۸ در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی دکتر سعید سمنانیان، مشاوره دکتر یعقوب فتح الهی از آن دفاع شده است."

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۷۵٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب حسن اژدری زرمهری دانشجوی رشته فیزیولوژی مقطع دکتری تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

حسن اژدری زرمهری  
تاریخ امضا

## بسم الله الرحمن الرحيم

خداوند را سپاس می‌گوییم که مسیر زندگی مرا مسیر علمنی قرار داد و توفیقات او موجب دستیابیم به این درجه گردید. لازم میدانم این نوشتار کم ارزش را به صاحبان حقیقی آن تقدیم نمایم.

تقدیم به:

روح بلند امام خمینی (ره) و شهدای انقلاب اسلامی، وارثان اصلی انقلاب

روح برادرانم؛ دانشجوی شهید «مهدی» و مرحوم «علی اکبر»

پدر و مادر بزرگوارم؛ که هیچ سپاسی شایسته تقدیر از مقام والایشان نیست، آنان که با

صبر و گذشت برای ترقی و تعالی ام در تمام طول زندگی از هیچ کوششی فروگذار نکردند و تمام موفقیتهای

خود را دیدن و عاقلانه و زحمات آنها می‌دانم، امیدوارم خداوند به آنها پاداشی بزرگ عنایت کند.

همسر عزیزم، که همواره یار و یاور من در مسیر زندگی می‌باشد و فرزندم محمد مهدی که لبخندش...

برادران خواهران که همواره دیدن محبت‌های آنها، ستم.

و همه معلمان، محققان، اساتید و اندیشمندان سرزمین پهناور ایران.

## تقدیر و تشکر:

اکنون که این تحقیق، در سایه الطاف بیکران الهی پایان پذیرفت، وظیفه خود می دانم از عزیزانی که مراد این خصوص یاری کرده اند، تقدیر و تشکر

نمایم. بویژه:

- استاد که تقدیر جناب آقای دکتر سعید سمنیان که مسوولیت راهنمایی این پایان نامه را عهده دار بودند.
- زحمات جناب آقای دکتر مصوب فتح الهی استاد مشاور راجح نهاده و از مشاورهای ارزشمند ایشان در تمام مراحل پایان نامه و زندگی کم کمال انتنان را دارم.
- از زحمات اساتید محترم جناب آقای دکتر سهراب حاجی زاده، آقای دکتر محمد جوان، دکتر علیرضا منافی و مدیر محترم گروه فیزیولوژی جناب آقای دکتر سید جواد میرمنجی زاده کمال تشکر را دارم.
- از زحمات و کمک های فراوان و دلسوزی های بی دریغ استاد دوست ارجمند جناب آقای دکتر حسین عزیزی، دکتر کاظمی زاده و دکتر که زحمات زیادی در انجام پایان نامه متحمل شدند کمال تشکر و انتنان را دارم.
- از زحمات دوستان و همکلاسی های عزیزم جناب آقایان دکتر صفری، دکتر کوروزی و سرکار خانم دکتر حسین مردی، دکتر جانگامی و دکتر کیانی تشکر می نمایم.
- از کمک ها و راهنمایی های دوستان و دانشجویان عزیز: آقایان دکتر محموداله داوی، خانم با: دکتر ایران کوروزی، مرده نوید حمیدی، و دانشجویان گروه فیزیولوژی کمال تشکر را دارم.
- کادران محترم آموزش و پژوهش دانشکده علوم پزشکی بویژه آقای نعمتی و خانم با: پهلوان و پهلوان که زحمات زیادی در بهسازی کارهای آموزشی و پژوهشی کشیده اند کمال تشکر را دارم.
- در نهایت سپاسگزارم از آنانکه در حیاتم و دلدار و شرمزنده آنانم: خانواده ام که با تلاش و از خودگذشتگی در همه مراحل زندگی بریاریم هست بخارند.

## چکیده:

علی‌رغم علاقه زیاد به نقش اورکسین در بی‌دردی و وجود انشعابات زیاد به ساقه مغز، مکانی که این اثر را در ساقه مغز وساطت می‌کند مشخص نیست. در این مطالعه اثرات تزریق اورکسین A (۱-۲۰ نانومول، ۰/۵ میکرولیتر) به درون ماده خاکستری دور کاریز مغزی ((Periaqueductal gray (PAG) و بخش سری شکمی میانی پیاز مغز ((rostral ventromedial medulla (RVM) (شامل هسته مگنوس بزرگ (Neucleus raphe magnus (NRM) و هسته ژینگانتوسلولاریس (Gi)) بر پاسخ رفتاری به درد با مدل درد آزمون فرمالین و بر پاسخ‌های الکتروفیزیولوژیک نورون‌های NRM توسط ثبت تک‌واحدی برون سلولی و Whole-cell patch clamp بررسی شد. تزریق اورکسین A به درون PAG سبب کاهش رفتارهای درد در مرحله اینترفاز و فاز دوم آزمون فرمالین شد؛ اما روی مرحله نخست اثری نداشت که نشان‌دهنده نقش بی‌دردی اورکسین A در PAG می‌باشد. تزریق درون PAG مرفین، رفتارهای درد را در فاز نخست، اینترفاز و فاز دوم آزمون فرمالین شدیداً کاهش داد. تزریق اورکسین A (۱۰ نانومول) به درون NRM سبب کاهش رفتارهای درد در فاز نخست و دوم آزمون فرمالین شد که این اثر توسط پیش‌تیمار با آنتاگونیست گیرنده ۱ اورکسین (SB-334867) بلوک گردید؛ در حالی که تزریق آن در هسته Gi چنین اثری نداشت. به وسیله ارتباط بین فعالیت نورونی در ثبت تک واحدی خارج سلولی و تحریک دردناک به دم حیوان سه گروه سلول در NRM قابل شناسایی بود: Off-، On- و Neutral-cell ها. تزریق اورکسین A سبب کاهش فعالیت On-Cell ها و تغییر فعالیت Off-Cell ها شد؛ بعلاوه پاسخ‌های مرتبط با کشیدن دم در On-cell ها نیز کاهش یافت. بر اساس ویژگی‌های غیرفعال و پتانسیل عمل غشاء در تکنیک Whole-cell patch clamp سه نوع نورون قابل شناسایی بود. اورکسین A سبب مهار ۶۰ درصد از نورون‌های سروتونرژیک نوع ۱ (مشابه On-Cell ها) شد در حالی که اثر اورکسین روی نورون‌های سروتونرژیک نوع ۲ (مشابه Off-Cell ها) تحریکی بود. نتیجه‌گیری می‌شود که احتمالاً ورودی اورکسینرژیک از هیپوتالاموس به هسته NRM نقش در تعدیل درد داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: اورکسین A، بی‌دردی، بخش سری شکمی میانی پیاز مغز PAG، آزمون فرمالین،

ثبت تک‌واحدی برون سلولی و Whole-cell patch clamp



## فهرست مطالب

### فصل اول: مقدمه و هدف

۱-۱. مقدمه و هدف..... ۲

### فصل دوم: مروری بر مقالات گذشته

۱-۲. درد..... ۸

۱-۱-۲. تعریف درد..... ۸

۲-۱-۲. کنترل درد..... ۸

۱-۲-۱-۲. سیستم تعدیل درد PAG و RVM..... ۹

۱-۱-۲-۱-۲. مشخصات عملکردی سیستم تعدیل درد PAG و RVM..... ۱۲

۲-۱-۲-۱-۲. تعدیل درد بنام بخشی از پاسخهای سازشی به چالش‌های

فیزیولوژیکی و رفتاری..... ۱۳

۳-۱-۲-۱-۲. ماده خاکستری دور کاریز مغزی..... ۱۵

۱-۳-۱-۲-۱-۲. PAG و تسهیل درد..... ۱۵

۲-۳-۱-۲-۱-۲. ورودیهای ماده خاکستری دور کاریز مغزی..... ۱۶

۳-۳-۱-۲-۱-۲. وابرانه‌های ماده خاکستری دور کاریز مغزی..... ۱۷

۴-۳-۱-۲-۱-۲. مدار داخلی و نورترانسپترهای ماده خاکستری دور کاریز مغزی..... ۱۷

۱-۴-۳-۱-۲-۱-۲. اپیوئیدهای درون زاد..... ۱۷

۴-۱-۲-۱-۲. RVM..... ۱۸

۱-۴-۱-۲-۱-۲. ارتباطات RVM..... ۱۸

۲-۴-۱-۲-۱-۲. RVM و تسهیل درد..... ۱۹

۳-۴-۱-۲-۱-۲. پایه عصبی برای کنترل دو جانبه RVM..... ۲۰

۱-۲-۱-۲-۳-۱. گروه بندی فیزیولوژیکی نورون های RVM بر پایه

- ۲۰ ..... فعالیت مرتبط با رفلکس درد
- ۲۳ ..... نقش Off- و On-cell در تعدیل درد. ۱-۱-۳-۴-۱-۲-۱-۲
- ۲۴ ..... نقش سلولهای خنثی. ۲-۱-۳-۴-۱-۲-۱-۲
- ..... تقسیم بندی نورون ها RVM در ۳-۱-۳-۴-۱-۲-۱-۲
- ۲۵ ..... Whole-cell patch clamp پژوهش
- ۲۶ ..... فارماکولوژی تعدیل درد در RVM. ۴-۴-۱-۲-۱-۲
- ۲۶ ..... گلوتامات و گابا. ۱-۴-۴-۱-۲-۱-۲
- ۲۷ ..... عمل اپیوئیدها در RVM. ۲-۴-۴-۱-۲-۱-۲
- ۲۹ ..... گیرنده های اپیوئیدی دلتا و کاپا. ۱-۱-۴-۴-۱-۲-۱-۲
- ۲۹ ..... نوروتنسنین. ۳-۴-۴-۱-۲-۱-۲
- ۲۹ ..... کله سیستوکینین. ۴-۴-۴-۱-۲-۱-۲
- ۳۰ ..... فعالیت فیزیولوژیکی نورنهای تعدیل کننده درد در RVM. ۵-۴-۱-۲-۱-۲
- ۳۰ ..... پاسخ نورون های RVM به تحریک دردناک. ۱-۵-۴-۱-۲-۱-۲
- ۳۱ ..... هیپوتالاموس پهلویی. ۲-۲-۱-۲
- ۳۲ ..... کشف اورکسین. ۱-۲-۲-۱-۲
- ۳۲ ..... جداسازی کلون های cDNA. ۲-۲-۲-۱-۲
- ۳۵ ..... ساختار mRNA / پروتئین. ۳-۲-۲-۱-۲
- ۳۶ ..... گیرنده های اورکسین. ۴-۲-۲-۱-۲
- فصل سوم مواد و روش ها
- ۳۹ ..... روش انجام تحقیق. ۱-۳
- ۳۹ ..... مواد و وسایل پژوهش. ۱-۱-۳
- ۳۹ ..... حیوانات مورد آزمایش. ۱-۱-۱-۳
- ۴۰ ..... قفس های نگهداری حیوانات. ۲-۱-۱-۳

- ۳-۱-۱-۳. تجهیزات ..... ۴۰
- ۲-۳. روش‌های استفاده شده در پژوهش ..... ۴۳
- ۱-۲-۳. آزمایش نخست مطالعه رفتاری ..... ۴۳
- ۱-۱-۲-۳. آزمون فرمالین ..... ۴۳
- ۲-۱-۲-۳. جراحی و کانول گذاری ..... ۴۴
- ۲-۲-۳. ثبت خارج سلولی تک واحدی با میکروالکتروود ..... ۴۵
- ۱-۲-۲-۳. روش اخذ داده‌های ثبت‌های الکتروفیزیولوژیک و استفاده همزمان از محرک دردناک ..... ۴۶
- ۳-۲-۲-۳. روش آماده کردن اورکسین-A جهت تزریق ..... ۵۲
- ۴-۲-۲-۳. پرفیوژن و ثابت نمودن بافت ..... ۵۲
- ۵-۲-۲-۳. جداکردن مغز ..... ۵۳
- ۳-۲-۳. مطالعات الکتروفیزیولوژی Whole-cell patch clamp recording ..... ۵۴
- ۱-۳-۲-۳. تهیه مقاطع زنده از هسته رافه ..... ۵۴
- ۳-۳-۲-۳. خلاصه مراحل انجام Whole-cell patch به شرح ذیل می‌باشد ..... ۵۴
- ۴-۳-۲-۳. اکتساب و آنالیز داده‌ها ..... ۵۶
- ۳-۳. گروه‌های مورد آزمایش به تفکیک تکنیک ..... ۵۹
- فصل چهارم: نتایج
- ۱-۴. یافته‌های نتایج آزمایشات آزمون فرمالین ..... ۶۴
- ۱-۱-۴. اثرات تزریق داخل ماده خاکستری دور کاریز مغزی اورکسین A بر رفتارهای درد در مدل آزمون فرمالین ..... ۶۵
- ۱-۱-۱-۴. اثر تزریق حلال در داخل هسته ماده خاکستری دور کاریز مغزی روی رفتارهای دردی آزمون فرمالین ..... ۶۵
- ۲-۱-۱-۴. مقایسه نتایج آزمون فرمالین میان دوزهای گوناگون تزریق اورکسین-A داخل ماده خاکستری دور کاریز مغزی ..... ۶۶

- ۳-۱-۱-۴. مقایسه تزریق داخل ماده خاکستری دور کاریز مغزی
- اورکسین-A و مرفین روی رفتارهای دردی آزمون فرمالین..... ۶۸
- ۲-۱-۴. اثرات تزریق داخل NRM اورکسین A بر رفتارهای درد در مدل..... ۶۹
- ۱-۲-۱-۴. اثر تزریق حلال در داخل NRM روی رفتارهای دردی آزمون فرمالین..... ۶۹
- ۲-۲-۱-۴. اثر تزریق اورکسین-A به داخل NRM در دوز ۱۰ نانومول روی رفتارهای دردی آزمون فرمالین..... ۷۰
- ۱-۲-۱-۴. اثر تزریق اورکسین-A به داخل Gi در دوز ۱۰ نانومول روی رفتارهای دردی آزمون فرمالین..... ۷۱
- ۳-۱-۴. مقایسه اثر تزریق اورکسین-A به داخل NRM, Gi و ماده خاکستری دور کاریز مغزی در دوز ۱۰ نانومول روی رفتارهای دردی آزمون فرمالین..... ۷۲
- ۴-۲-۱-۴. اثر تزریق آنتاگونیست اورکسین A (SB-334867) قبل از تزریق اورکسین A به درون NRM روی رفتارهای دردی آزمون فرمالین..... ۷۳
- ۲-۴. نتایج آزمایشات ثبت تک واحدی خارج سلولی..... ۷۵
- ۱-۲-۴. گروه بندی الکتروفیزیولوژیکی نورون‌های RVM بر پایه فعالیت مرتبط با رفلکس درد..... ۷۵
- ۲-۲-۴. بررسی اثر اورکسین-A به داخل بطن جانبی روی فعالیت پایه و پاسخ برانگیخته به وسیله محرک دردناک در نورون‌های RVM با استفاده از تکنیک ثبت تک واحدی خارج سلولی..... ۷۶
- ۱-۲-۲-۲-۴. بررسی اثر اورکسین-A به داخل بطن جانبی روی فعالیت پایه و پاسخ برانگیخته به وسیله محرک دردناک روی On-cellها..... ۷۷
- ۲-۲-۲-۲-۴. بررسی اثر اورکسین-A به داخل بطن جانبی روی فعالیت پایه و پاسخ برانگیخته به وسیله محرک دردناک روی Off-cellها..... ۷۹

۳-۲-۲-۲-۴. بررسی اثر اورکسین-A به داخل بطن جانبی روی فعالیت پایه و پاسخ برانگیخته به

۸۰ ..... وسیله محرک دردناک روی Neutral-cell ها

۸۱ ..... ۳-۲-۲-۲-۴. تغییر در فعالیت مرتبط با رفلکس درد On- و Off-cell ها

۸۳ ..... ۳-۴. نتایج آزمایشات Whole-cell patch clamp

۸۳ ..... ۱-۳-۴. تقسیم‌بندی نورون‌ها RVM در پژوهش Whole-cell patch clamp

۸۴ ..... ۲-۳-۴. ویژگی‌های غیرفعال غشا و پتانسیل عمل در مد voltage-clamp

۳-۳-۴. نامتجانس بودن پاسخ نورون‌های NRM به اورکسین A با تکنیک Whole-cell patch

۸۷ ..... clamp

۴-۳-۴. استفاده آنتاگونیست اورکسین A (SB-334867) قبل از اورکسین A روی نورن‌های نوع ۲

۹۴ .....

فصل پنجم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادات

۱۰۱ ..... ۱-۵. آزمایشات رفتاری آزمون فرمالین

۱-۱-۵. تزریق داخل ماده خاکستری دور کاریز مغزی اورکسین-A

۱۰۱ ..... روی رفتارهای دردی آزمون فرمالین

۱۰۴ ..... ۲-۱-۵. تزریق داخل Gi و NRM اورکسین-A روی رفتارهای دردی آزمون فرمالین

۱۰۷ ..... ۲-۵. نقش اورکسین A در تعدیل پرکاری عصبی در نورن‌های RVM

۱۱۰ ..... ۱-۲-۵. تغییر در فعالیت مرتبط با رفلکس درد On- و Off-cell ها

۱۱۳ ..... ۳-۵. تقسیم‌بندی نورون‌ها RVM در پژوهش Whole-cell patch clamp

۱-۳-۵. تمیز نورون‌های سروتونرژیک و غیرسروتونرژیک NRM با

۱۱۵ ..... ویژگی‌های غیرفعال و پتانسیل عمل

۱۱۷ ..... ۲-۳-۵. نامتجانس بودن نورون‌های RVM در پاسخ به اورکسین

۱۱۱ ..... ۴-۵. خطاهای تکنیکی

۱۲۱ ..... فهرست منابع و مأخذ



## فهرست شکل‌ها

- شکل ۱-۲. پایه نخستین فرضیه کنترل پنجره‌ای..... ۹
- شکل ۲-۲. سیستم تعدیل درد PAG و RVM..... ۱۰
- شکل ۳-۲. دو کلاس نورون در RVM موش صحرایی در طی بی‌هوشی سبک..... ۲۱
- شکل ۴-۲. نمایش شماتیک از عملکرد On- و Off-cellها در سه حالت طبیعی، بی‌دردی و پردردی..... ۲۳
- شکل ۵-۲. نمونه‌هایی از ۳ نوع نورون مورد پژوهش..... ۲۵
- شکل ۶-۲. شیفت در حالت تعدیل درد در طی بی‌دردی با مرفین..... ۲۷
- شکل ۷-۲. نگاه اجمالی به سیستم اورکسین..... ۳۲
- شکل ۸-۲. تصویر رای‌گیری دموکراسی در انجمن علوم عصاب..... ۳۳
- شکل ۹-۲. تصویر شماتیک از برش سازیتال از مغز موش صحرایی..... ۳۴
- شکل ۱۰-۲. بالغ شدن پریرواورکسین: بعد از برداشتن پپتید سیگنال..... ۳۵
- شکل ۱۱-۲. ترتیب تسلسل اسیدهای آمینه اورکسین A و B..... ۳۵
- شکل ۱۲-۲. گیرنده‌های اورکسین-A جفت شونده با پروتئین G..... ۳۶
- شکل ۱-۳: A. جهت جریان‌های یونی در سلول ستاره‌ای شکل..... ۴۷
- شکل ۲-۳. بساط تحقیقاتی استفاده شده برای ثبت‌های الکتروفیزیولوژیک..... ۴۹
- شکل ۳-۳. شمایی از روش اخذ داده‌های ثبت‌های الکتروفیزیولوژیک..... ۵۰
- شکل ۴-۳. پاسخ‌های متفاوت test pulse current در هنگام انجام whole-cell patch..... ۵۶
- شکل ۵-۳. نحوه اندازه‌گیری ویژگی‌های پتانسیل عمل..... ۵۸
- شکل ۱-۴. مقایسه نمره آزمون فرمالین میان گروه کنترل و گروه حلال..... ۶۴
- شکل ۲-۴. مقایسه نمره آزمون فرمالین میان گروه حلال و اورکسین-A..... ۶۵
- شکل ۳-۴. منحنی دوز- پاسخ دوزهای گوناگون تزریق اورکسین-A..... ۶۶
- شکل ۴-۴. مقایسه تزریق داخل ماده خاکستری دور کاریز مغزی اورکسین-A..... ۶۷
- شکل ۵-۴. مقایسه نمره آزمون فرمالین میان گروه کنترل و گروه حلال..... ۶۸

- شکل ۴-۶. مقایسه نمره آزمون فرمالین میان گروه حلال و اورکسین-A در..... ۶۹
- شکل ۴-۷. مقایسه نمره آزمون فرمالین میان گروه حلال و اورکسین-A ..... ۷۰
- شکل ۴-۸. مقایسه نمره آزمون فرمالین میان گروه حلال و اورکسین-A به داخل Gi, NRM و PAG ..... ۷۱
- شکل ۴-۹. مقایسه نمره آزمون فرمالین میان گروه حلال و SB-334867 ..... ۷۲
- شکل ۴-۱۰. مقایسه نمره آزمون فرمالین میان گروه حلال + اورکسین-A و گروه SB-334867 + اورکسین-A ..... ۷۳
- شکل ۴-۱۱. نمایش ثبت نوروهای RVM با استفاده از تکنیک ثبت تکواحدهی خارج سلولی همزمان ..... ۷۴
- شکل ۴-۱۲. فعالیت پایه و پرکاری On-Cell مرتبط با کشیدن دم به وسیله محرک دردناک قبل و ..... ۷۵
- شکل ۴-۱۳. فعالیت On-Cell مرتبط با کشیدن دم به وسیله محرک دردناک قبل و بعد از تزریق ..... ۷۶
- شکل ۴-۱۴. فعالیت Off-Cellها مرتبط با کشیدن دم به وسیله محرک دردناک قبل و بعد از تزریق ..... ۷۷
- شکل ۴-۱۵. نمونه‌ای از Neutral-cell و فعالیت مرتبط با کشیدن دم به وسیله محرک دردناک قبل و ..... ۷۹
- شکل ۴-۱۶. Ongoing Activity یا فعالیت نوروئی ۳۰ ثانیه قبل از کشیدن دم در On-, Off- ..... ۷۰
- شکل ۴-۱۷. نمونه‌هایی از ۳ نوع نوروئ مورد پژوهش قرار گرفته به تفکیک سروتونرژیک و غیر ..... ۸۲
- شکل ۴-۱۸. نمونه‌هایی از نوروئ نوع ۱ مورد پژوهش قرار گرفته به تفکیک سروتونرژیک و غیر سروتونرژیک ..... ۸۳



شکل ۴-۱۹. نمونه‌هایی از نورون نوع ۲ مورد پژوهش قرار گرفته به تفکیک سروتونرژیک و غیر

۸۴ .....

شکل ۴-۲۰. نمونه‌هایی از نورون نوع ۳ مورد پژوهش قرار گرفته به تفکیک سروتونرژیک و

غیر..... ۸۵ .....

شکل ۴-۲۱. اثر مهاری اورکسین A روی نمونه‌ای از نورون نوع ۱ سروتونرژیک..... ۸۹ .....

شکل ۴-۲۲. اثر تحریکی اورکسین A روی نمونه‌ای از نورون نوع ۱ غیرسروتونرژیک ..... ۹۰ .....

شکل ۴-۲۳. اثر تحریکی اورکسین A روی نمونه‌ای از نورون نوع ۲ سروتونرژیک. .... ۹۱ .....

شکل ۴-۲۴. اثر تحریکی اورکسین A روی نمونه‌ای از نورون نوع ۲ غیرسروتونرژیک..... ۹۲ .....

شکل ۴-۲۵. اثر تحریکی اورکسین A روی نمونه‌ای هیستوگرام از نورون نوع ۳ سروتونرژیک

۹۴ .....

شکل ۴-۲۶. جلوگیری از اثر تحریکی اورکسین A روی نمونه‌ای از نورون نوع ۲ سروتونرژیک

۹۵ .....

شکل ۴-۲۷. جلوگیری از اثر تحریکی اورکسین A روی نمونه‌ای از نورون نوع ۲

غیرسروتونرژیک..... ۹۶ .....

# فصل اول

## مقدمه و هدف

## ۱-۱. مقدمه

انجمن جهانی مطالعه درد<sup>۱</sup> (IASP)، درد را چنین تعریف می‌کند: "درد یک احساس ناخوشایند و یک تجربه عاطفی است که همراه با یک آسیب بافتی بالفعل و یا نهفته می‌باشد و یا به نام یک تخریب بافتی قلمداد می‌شود". دردی که بیشتر از ۳ ماه به درازا بکشد به عنوان درد مزمن نام برده می‌شود و یکی از بزرگترین مشکلات سلامتی در کشورهای توسعه‌یافته است [۱]. در حالی که درمان درد حاد مطلوب است نیاز افراد رنجور از درد مزمن حل نشده است و این امر بار سنگین مالی و هیجانی برای افراد رنجور از درد مزمن، وابستگان و اجتماع دارد. هزینه درمان درد مزمن در اروپا ۲۰۰ میلیارد یورو و در آمریکا ۱۵۰ میلیارد دلار در سال تخمین زده می‌شود [۲]. توانایی در بهبود روش‌های تشخیصی درد مزمن و توسعه روش‌های درمانی جدید امری ضروری است، اما برای رسیدن به آن ما نیاز به بازخوانی تجارب کم و بیش ذهنی داریم. در این میان فهم مکانیسم‌هایی که در تولید، ماندگاری و تعدیل درد مزمن نقش دارد امری ضروری می‌باشد. مطالعه روی درد و نقش مراکز عصبی گوناگون در انتقال، پردازش و تعدیل درد از دیرباز مورد نگرش پژوهشگران بوده است. درد الزاما رابطه خطی با ورودی‌های درد ندارد و فقط در جهت حفظ عملکرد حیاتی هم نیست. از ۳۰ سال پیش این مفهوم که اطلاعات دردی از پوست، احشاء و دیگر بافت‌ها به شاخ پشته نخاع (DH) می‌رسند، دست

<sup>۱</sup> International Association for the Study of Pain

نخورده به مناطق بالاتر انتقال پیدا نمی‌کنند به نام مهار پنجره‌ای درد شناخته شده است [۳]. از این منظر مهار درد بنام یک جزء از اجزاء رفتارهای سازمان بندی شده پیچیده می‌باشد که موجود زنده میان نیازهای درونی و بیگانه و رفتارهای دردزا حق تقدم قائل می‌شود. افزون بر رفتارهای بی‌دردی، اجزاء حرکتی، غدد درون ریز و خودکار شرکت می‌کنند. اگر چه نقش سیستم ماده خاکستری دور کاریز مغزی و قسمت سری شکمی میانی پیاز مغز در پاسخ به تهدید و خطر بطور کامل مشخص نشده است ولی ورودیهایی از آمیگدال و هیپوتالاموس به این مناطق مهم می‌باشند [4] ساقه مغز نقش محوری و اساسی در تنظیم دروازه انتقال درد دارد، همچنان که تجربه درد متناسب برای موقعیت خاص افراد می‌باشد. اطلاعات درد به ساقه مغز از مسیرهای نخاعی-مشبکی و نخاعی-مزانسفالیک می‌باشد. این مسیرها بسته به لایه‌ای که در نخاع منشأ گرفته‌اند و به محلی که ختم می‌شوند اهداف متفاوت دارند. انشعابات درد به ساقه مغز برای جامعیت دادن اطلاعات دردی با وضعیت هوموستاز، سطح هیجانی و هوشیاری و پردازش‌های خودکار مهم است و مسیری را فراهم می‌کند که به صورت غیرمستقیم اطلاعات درد بعد از پردازش در ساقه مغز به مغز جلویی انتقال پیدا می‌کند. ظرفیت این انشعابات به ساقه مغز که مستقیم فعالیت مغز جلوی و ساقه مغز را تحت تاثیر قرار می‌دهد به طور شفاف پیشنهاد می‌کند که این مسیر درد نقش اساسی در متاثر کردن تجربه درد دارد. که شواهد پژوهش‌های حیوانی و انسانی این را نشان می‌دهند.

چندین سیستم تعدیل درد در سیستم اعصاب مرکزی (CNS)، پاسخ به تحریک دردزا را تعدیل می‌کنند. تحریک LH از راه رله اطلاعات به PAG سبب بی‌دردی می‌شود و LH قسمتی از سیستم پایین رو به شاخ پشتی نخاع است و در تعدیل درد درگیر می‌باشد [۵-۷]. از زمانی که تئوری مهار پنجره‌ای درد توسط وال و ملزاک ارائه شد القای بی‌دردی شدید با تحریک الکتریکی یا تزریق مرفین به درون PAG نیز کشف شده است، به دنبال این کشف خیلی سریع مشخص شد که پرکار شدن گیرنده‌های اپیوئیدی رخ می‌دهد و اپیوئیدهای درون‌زاد شناسایی شدند. PAG ورودی‌های فراوانی از هیپوتالاموس، مناطق قشری و سیستم لیمبیک دریافت می‌کند. تزریق مرفین و تحریک الکتریکی