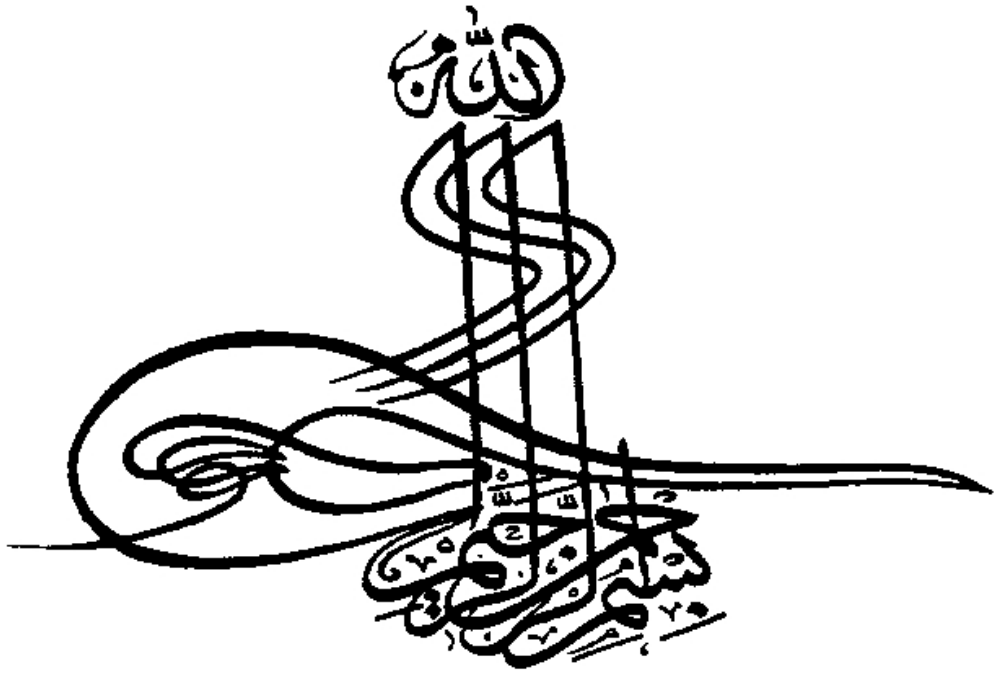


پایان‌نامه کارشناسی ارشد

عنوان :

بررسی اثر بیهوشی های مکرر توسط پروپوفول در دوره نوزادی بر تشنجی پذیری و میزان پاسخ به درد در دوره بلوغ

تهیه و تنظیم :سیده رباب رحیمی

استاد راهنما:

جناب دکتر علی مقیمی

استاد مشاور:

جناب دکتر مسعود فریدونی

دی ماه ۸۹

تقدیم به

بارگاه ملکوتی حضرت علی بن موسی الرضا(ع)

تقدیم به دو گوهر گران بهای زندگیم

پدر عزیز و خوبم و مادر مهربانم

که اولین و بهترین آموزگاران زندگیم بودند.

تقدیم به گران بها

خواهران خوبم

با تشکر از زحمات :

جناب آقای دکتر علی مقیمی

که راهنمایی این پایان نامه را به عهده داشتند و بدون زحمات ایشان انجام این پروژه امکان پذیر نبود.

با تشکر از زحمات :

جناب آقای دکتر مسعود فریدونی

که مشاوره این پایان نامه بودند.

چکیده

بیهوشی با آگونیست گیرنده های$GABA_A$ (پروپوفول، باربیتورات ها، بنزودیازپین ها) می تواند منجر به بروز عوارض جانبی همچون تحلیل سلول های نورونی در حال رشد جوندگان نابالغ شود، پروپوفول در هوشبری انسان کاربرد وسیعی دارد. هدف از این پژوهش بررسی اثر بیهوشی مکرر نوزادان رت توسط پروپوفول بر حساسیت درد و تشنج در دوران بلوغ می باشد.

در این تحقیق از ۲۸ سر موش صحرایی نر نوزاد (در ۲ گروه شم و تجربی) استفاده شد. گروه تجربی روزانه از ۱۰ تا ۲۰ روزگی با پروپوفول (۵۰mg/kg i.p) بیهوش و طی زمان بیهوشی علائم رفتاری ثبت گردید. پس از بلوغ (در ۲/۵ ماهگی) به دو گروه تقسیم شدند. به یک گروه به منظور تشنج شیمیایی پنتیلن تترازول به صورت درون صفاقی (۴۵ mg/kg) تزریق شد و سپس به مدت نیم ساعت پس از تزریق مشخصات رفتاری آنها ثبت گردید. در گروه دوم برای انجام آزمون درد، ابتدا آزمون درد حرارتی به وسیله دستگاه Tail flick انجام شد و سپس برای انجام آزمون درد شیمیایی با تجویز فرمالین (۰|۰۵cc و۲/۵٪) به صورت زیر جلدی در کف پا میزان بروز درد تا یک ساعت پس از تزریق اندازه گیری و بین دو گروه مقایسه گردید.

داده ها نشان دادند که میزان تشنج پذیری در رت های تجربی نسبت به گروه شم تغییری نکرده است ($P>0.05$). لذا تجویز پروپوفول نوزادی احتمال بروز حملات صرعی برانگیخته با PTZ را پس از بلوغ افزایش یا کاهش نمی دهد و همچنین میزان درد در آزمون درد حرارتی و شیمیایی در هر دو فاز نوروژنیک و التهابی درد در آزمون فرمالین در موش های صحرایی تیمار شده با پروپوفول نوزادی نسبت به گروه کنترل تغییری نکرده است. لذا تجویز پروپوفول نوزادی احتمال بروز رفتار تشنجی و درد حرارتی و درد شمیایی ناشی از فرمالین را پس از بلوغ کاهش نمی دهد ($P>0.05$).

بیهوشی های مکرر دوران نوزادی رت علی رغم طولانی بودن مدت بیهوشی، نتوانست بر رفتار تشنجی ناشی ازPTZ و درد حرارتی ودرد شیمیایی ناشی از فرمالین در دوران بلوغ تاثیری بگذارد. بنابر این ممکن است که بیهوشی های مکرر توسط پروپوفول باعث تغییراتی گذرا حداقل در سیستم های تحریکی –مهاری مربوط به درد شده که تا بلوغ جبران شده باشند لذا به تحقیقات ساختاری و رفتاری بیشتری نیاز مند است.

فهرست مطالب

بیان مسئله ۱۰

تاریخچه بیهوشی ۴

عمق بی هوشی ۶

بیهوشی ۷

بیهوشی و اثر آن بر تحلیل نورونی در مغز نوزادان : ۷

مکانیسم های عمومی بی هوش کنندهای عمومی ۹

۱-کانال های یونی وابسته به لیگاند: ۹

۳- کانال های پتاسیمی: ۱۲

پیامد های اصلی بیهوشی ۱۳

۱-از دست دادن حافظه: ۱۳

۲- عدم آگاهی: ۱۳

۳- بی دردی ۱۵

۴- بی حرکتی ۱۵

انواع داروهای هوشبر: ۱۶

پروپوفول: ۱۷

مکانیسم فعالیت پروپوفول ۱۹

۱-گیرنده های $GABA_A$: ۱۹

۲-مونوآمین ها: ۱۹

۳-گلوتامات: ۲۰

۴- استیل کولین ۲۱

اثرات هوشبری پروپوفول: ۲۱

۱-پروپوفول و بی دردی: ۲۱

۲- پروپوفول و فراموشی: ۲۲

۳-پروپوفول و بی حرکتی ۲۲

اثرات غیر بیهوشی پروپوفول ۲۲

۱- اثرات ضد تهوع پروپوفول: ۲۳

۲-پروپوفول و ایمنی: ۲۳

۳- اثرات پروپوفول بر تجمع پلاکت های خونی: ۲۴
سندرم های بعد از تزریق پروپوفول ۲۵
تزریق پروپوفول و فعالیت ضد دردی منیزیوم ۲۵
تعریف صرع: ۲۷
تاریخچه صرع: ۲۸
انواع صرع: ۲۸
۱- تشنج پارشیال: ۲۹
تشنج پارشیال ساده: ۲۹
۲- تشنج ژنرالیزه: ۳۱
۳-تشنج های دسته بندی نشده: ۳۳
علل تشنج و صرع ۳۳
۲-نارسایی در سیستم مهاری: ۳۶
پروپوفول و صرع: ۳۶
کیندلینگ شیمیایی: ۳۷
درد و مسیر های عصبی: ۳۸
تعریف درد: ۳۸
انواع گیرنده های درد: ۳۸
مکانیسم انتقال درد: ۳۹
مواد ۴۳
وسایل ۴۳
دستگاه ها ۴۳
حیوانات آزمایشگاهی ۴۴
روش ها ۴۵
۱-تهیه محلول پنتیلن تترازول: ۴۵
۲-روش ایجاد تشنج شیمیایی: ۴۵
۳-آزمون های درد: ۴۶
گروه بندی حیوانات: ۴۶
۱-گروه اول: ۴۶

۲-گروه دوم: ۴۶
مراحل آزمایشات ۴۷
آزمون ها: ۴۷
۱- آزمون تشنج : ۴۷
۲-آزمون Tail flick ۴۸
۳-آزمون فرمالین ۴۸
فصل سوم ۵۰
نتایج ۵۰
۱- بررسی اثر تزریق پروپوفول دوره نوزادی بر تشنج در دوره بلوغ ۵۱
۲-آزمون Tail flick: ۵۴
۳- آزمون فرمالین ۵۵
پیشنهادات ۶۲
منابع فارسی ۶۳

بیان مسئله

مکانیسم های عصبی که با استفاده از داروهای هوشبرایجاد می شود شامل تغییرات رفتاری از قبیل از دست دادن آگاهی، حافظه و بی دردی است. بی هوشی عمومی نوروآپوپتوزیس را در سراسر ساختار های مغز جلویی در رت های نوزاد القاء می کند. مکانیسم عمل آسیب تا کنون نا شناخته است با وجود این که فرضیه رایج این است که مهار فعالیت سیناپس ها در طول دوره سیناپس زایی منجر به کاهش در راه اندازی انتقال پیام رشد سلول عصبی و مرگ سلولی آپوپتوتیک را القاء می کند. بنابراین اندازه توزیع آسیب در سیستم عصبی مرکزی تا کنون ناشناخته است. وقتی نوزادان موش صحرایی در معرض داروهای بی هوشی قرار گیرند تحلیل نورونی را در مغز نوزادان موش صحرایی القاء می کنند. مرگ برنامه ریزی شده سلول عصبی هم چنین در طناب نخاعی اتفاق می افتد یک هدف مهم برای داروهای بی هوش کننده و بی درد کننده شناخته شده است.

پروپوفول یا Diprovan یک داروی هوشبراست که به صرت داخل وریدی تجویز می شود. مطالعات در انسا ن و حیوانات نشان داده است که پروپوفول دارای خواص ضد صرعی است. گیرنده های $GABA_A$ به عنوان تنها اهداف مهم برای هوشبر پروپوفول محسوب می شوند، چگونگی اثر این گیرنده ها که از دست دادن آگاهی را تفسیر می کنند تا کنون یک راز باقی مانده است. هم چنین این دارو به عنوان آنتاگونیست گیرنده های گلوتاماتی NMDA می باشد. تحقیقات نشان داده است دوز تزریقی پروپوفول برای القاء بی هوشی در نوزادان موش mg/kg ۲۰۰ است. دوزهای بالاتر از mg/kg ۵۰ یک پاسخ مرگ نورونی معنی داری را القاء می کند. پروپوفول دارای اثرات حفاظت نرونی در هیپوکامپ است و این نتایج نشان دهنده اثرات ضد صرعی پروپوفول است.

کیندلینگ به عنوان یک مدل حیوانی تجربی برای آنالیز صرع پذیرفته شده است و تاثیر داروهای ضد صرع را تعیین می کند. این مدل ها آستانه صرع را کاهش می دهند. پنتیلن تترازول[۲] یا PTZ یک برانگیزنده یا محرک سستم عصبی است. کیندلینگ تحریک شده با PTZ اثرات صرعی را در جوندگان ایجاد می کند، گرچه مکانیسم دقیق کیندلینگ ایجاد شده با PTZ ناشناخته است. پنتیلن تترازول یک آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده های $GABA_A$است مدل کیندلینگ القاء شده با PTZ برای صرع عموماً برای مطالعه مکانیسم پاتولوژیک صرع استفاده می شود.

هدف از این تحقیق بررسی اثر تزریق مکرر پروپوفول در دوره نوزادی بر تشنج ناشی از پنتیلن تترازول و میزان پاسخ به درد حرارتی و درد شیمیایی ناشی از فرمالین در دوره بلوغ درموش های صحرایی نژاد ویستار بوده است.

فصل اول

کلیات

تاریخچه بیهوشی

انسان همیشه با درد دست در گریبان بوده است و گریز از آن قرن هاست که ذهن آدمی را به خود مشغول کرده است. کیمیاگران در قرن ۱۲ و۱۳ میلادی از اسفنج های آغشته به حشیش و تریاک و سایر آروماتیک ها استفاده می کردند. خشخاش محبوب ترین گیاه بیهوشی[1] بود. این گیاه ۳۲۰۰ سال پیش از میلاد توسط سومری ها کشف شد (۱). رشد علم بیهوشی در اواخر قرن ۱۸ و با کشف نیتروز اکساید توسط Joseph Priestly صورت گرفت. مهمترین آزمایشات در این زمینه در سال ۱۸۴۴توسط Colton و Wells در حین جراحی دندان عقل صورت گرفت. لازم به ذکر است در سال ۱۸۴۲ دندانپزشک دیگری به نام Clarce از دی اتیل اتر استفاده کرد. یکی از محقین به نام تاریخ بیهوشی، Morton بعدها در ۳۰ سپتامبر ۱۸۴۶ اتر را برای جراحی تومور در ناحیه گردن به کار برد. در همین زمان Simpson کلروفرم را بررسی کرد. در نوامبر ۱۸۴۶ Simpson در اثر استنشاق کلروفرم در اتاق کار خود بیهوش شد. در دهه ۱۸۸۰ Carl Koller کوکائین را برای بی حسی موضعی به کار برد و در اواخر قرن، Auguot Bier روش Spinal Anesthesia را ابداع کرد. واقعه مهم قرن ۱۹ که در سیر تکامل بیهوشی نقش به سزایی داشت، ابداع intubation توسط Willam Maceen جراح اسکاتلندی در سال ۱۸۷۸ بود. در قرن ۲۰ دارو های بسیاری کشف شدند که خاصیت بیهوش کننده داشتند. به نحوی که امروزه طی یک بیهوشی گازهای چون هالوتان، Isofluran, Enfluran خواب آورهایی مثل , Propofol Thiopental, Methohexital و شل کننده هایی مثل Recoronium, Vecoronium و اپیوئید هایی مثل Diamorphine و غیره استفاده می شوند (۶،۵).

مراحل بی هوشی که شامل چهار مرحله به شرح زیر است: (جدول۱)(۷)

[1]-Anesthesia

Stages of Anaesthesia Guedel (1937)

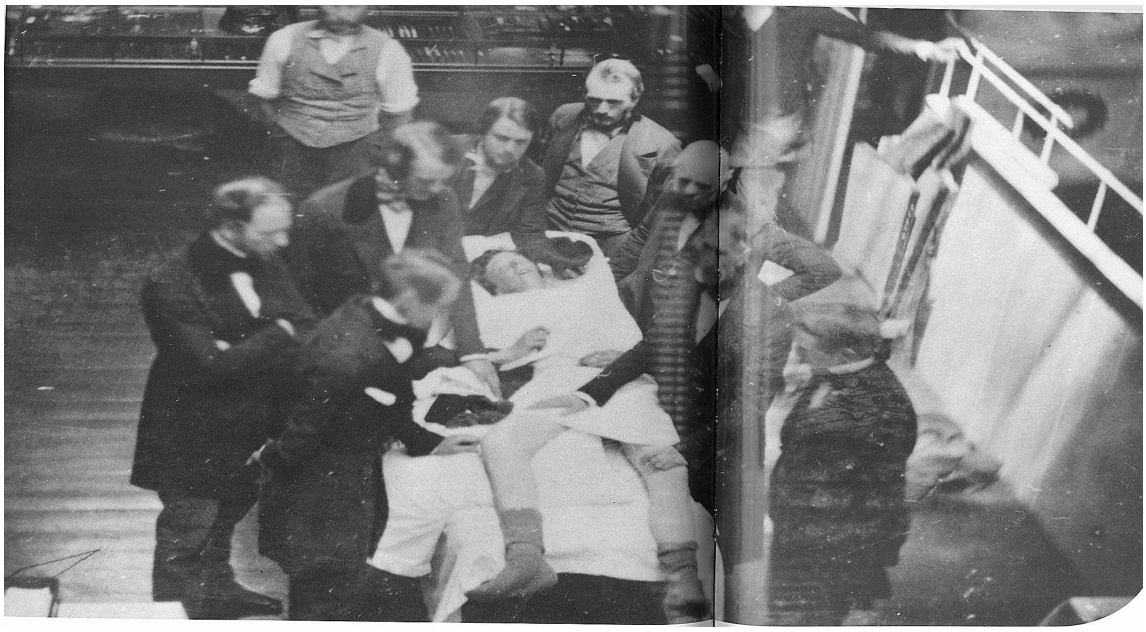
stageI	Stage II	StageIII	Stage IV
Analgesia	Lossof consciousness to rhythmical respiration	Plane 1 = cessation of eye movemen	Apnoea
		Plane 2 = respiratory paresis	
		Plane 3 = respiratory paralysis	
		Plane 4 = diaphragmatic paresis and paralysis	

مرحله اول: بی دردی

مرحله دوم: از دست دادن آگاهی با ریتم های تنفسی

مرحله سوم: توقف حرکت چشم ها، فلجی ناقص عضلات تنفسی، فلجی کامل تنفسی

مرحله چهارم: قطع تنفس (۷).



(۷)

عمق بی هوشی

جان اسنو در سال۱۸۴۷میلادی مهم ترین کاربرد دارو های بی هوشی را که تعیین مقدار کاملاً مناسب آنها برای تزریق بود، را مشخص کرد. بزرگترین مسئله ای که هوشبران همواره با آن مواجه هستند مشخص کردن عمق مناسب بی هوشی است. به طوری که نه چندان سبک باشد که امکان تحریکات ناگهانی در حین عمل جراحی وجود داشته باشد و نه خیلی عمیق باشد که خطر مرگ ایجاد شود (۸).

بیهوشی

بیش از ۱۶۰ سال پیش بیهوشی عمومی به عنوان یکی از مهمترین پیشرفت‌ها در علم پزشکی بود (۹،۱۰) و داروهای هوشبر برای جراحی در علم پزشکی بسیار ضروری هستند (۱۱). با وجود استفاده گسترده آنها، هنوز این سوال اساسی که دارو های هوشبر چگونه و در چه مناطقی از سیستم عصبی فعالیت می کنند بی جواب است (۱۲). در ابتدا تصور می کردند که داروهای هوشبر داروهای فاقد گیرنده هستند، اما با تحقیقات بیشتر این نظریه مردود اعلام شد (۱۰). در دهه گذشته بیشتر تحقیقات برای فعالیت این داروها در سطح سلولی و مولکولی تمرکز داشت. در سطح میکروسکوپیک دلایل نشان می دهند که هوشبر ها بر روی چندین پروتئین غشای عصبی که به عنوان کانال های یونی وگیرنده میانجی های عصبی هستند، فعالیت می کنند، (۹) بیش از یک قرن از توجه روی خواص هیدروفوب داروهای هوشبر و اثرات بالقوه آن روی خواص فیزیکی غشای سلول می گذرد که منجر به پذیرش گسترده خاصیت nonspecific داروهای هوشبر شده است.(۱۰،۱۱) اما بعد از دهه ۱۹۸۰ کانال های کلری گابا آمینو بوتیریک اسید به طور ویژه ای به عنوان یکی از اهداف مهم دارو های هوشبر مطرح شد. در سطوح بالاتر، ساختارهای مغزی را تحت تاثیر قرار می دهند اما هنوز اثر متقابل داروهای هوشبر با ساختار های عصبی کاملاً شناخته نشده است. در کل پیامدهای اصلی دارو های هوشبر (بی حرکتی، بی دردی، ضعف حافظه و عدم آگاهی) مکانیسم فعالیت آنرا پیچیده می کند (۱۲).

بیهوشی و اثر آن بر تحلیل نورونی در مغز نوزادان :

بی هوشی عمومی مرگ برنامه ریزی شده سلول های نورونی را در سراسر ساختار های مغز جلویی در نوزادان موش صحرایی القاء می کند. مکانیسم عمل آسیب تا کنون نا شناخته است

با این وجود پیشنهاد می شود که مهار فعالیت سیناپس ها در طول دوره سیناپس زایی[۱] منجر به کاهش در راه اندازی انتقال پیام رشد سلول عصبی شده و مرگ سلولی آپوپتوتیک را القاء می کند. در معرض قرار گرفتن با داروهای بی هوشی، تحلیل نورونی[۲] را در مغز نوزادان موش صحرایی راه اندازی می کند. مرگ برنامه ریزی شده[۳] سلول های عصبی هم چنین در طناب نخاعی اتفاق می افتد طناب نخاعی به عنوان یکی از اهداف مهم برای داروهای بی هوش کننده و بی درد کننده است (۱۳،۱۴). مرگ برنامه ریزی شده سلول به طور فیزیولوژیک در مغز پستانداران در طول دوره بحرانی رشد اتفاق می افتد، که در انسان از ۳ ماهگی شروع می شود و در ۳ سالگی پایان می یابد. فاکتورهای محیطی می توانند با مکانیسم های مرگ برنامه ریزی شده سلول واکنش دهند. تحقیقات نشان می دهد ترکیباتی که به عنوان مسکن ها، هوش برها و ضد صرع ها، در پزشکی استفاده می شود تحلیل سلول های عصبی را در کل مغز در حال رشد جوندگان نابالغ مورد هدف قرار می دهند. چنین ترکیباتی از قبیل آنتاگونیست گیرنده NMDA (کتامین) و آگونیست گیرنده های $GABA_A$ (باربیتورات ها[۴]، بنزودیازپین[۵] و پروپوفول[۶]) و بلوکر کننده های کانال های سدیمی (فنیتوئن، والپرآت) می باشند. جوندگان در دو هفته اول پس از تولد نسبت به داروهای هوشبر آسیب پذیرند، دوره های قابل مقایسه در انسان از ۳ ماهگی دوران حاملگی تا چندین سال بعد از تولد طول می کشد (۱۵). گزارشات مسمومیت عصبی ناشی از بیهوشی در مدلهای حیوانی نابالغ سوالات زیادی درباره ایمنی بیهوشی ایجاد می کند. شواهد نشان می دهد که نوزادان موش های صحرایی که هم پنتوباربیتال ۵ تا ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم و هم فنوباربیتال ۴۰ تا ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم

1-Synaptogenesis
2-Neurodegeneration
3-Apoptosis
4-Barbiturat
5 -Benzodiazepine
6 -Propofol

دریافت کردند مسمومیت عصبی[1] و مرگ برنامه ریزی شده سلول های عصبی را نشان دادند (۱۶). داروهای مسکن و ضد صرع در مغز در حال رشد، علت مرگ برنامه ریزی شده سلول هستند (۱۷). بی هوشی عمومی اثر متقابل با اهداف در سطح سلولی و مولکولی دارند، آنها ظرفیت القاء تغییرات را در بدن دارند (۱۸). دوز بالا یا در معرض قرار گیری طولانی مدت با دارو های هوشبر، مرگ برنامه ریزی شده سلول های نورونی را در نوزادان تحریک می کند. برای مثال افزایش در اتانول خون به میزان mg/dl ۵۰برای مدت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه برای راه اندازی مرگ برنامه ریزی شده سلول های عصبی[2] در مغز موش نوزاد کافی است (۱۹،۲۰).

مکانیسم های عمومی بی هوش کنندهای عمومی

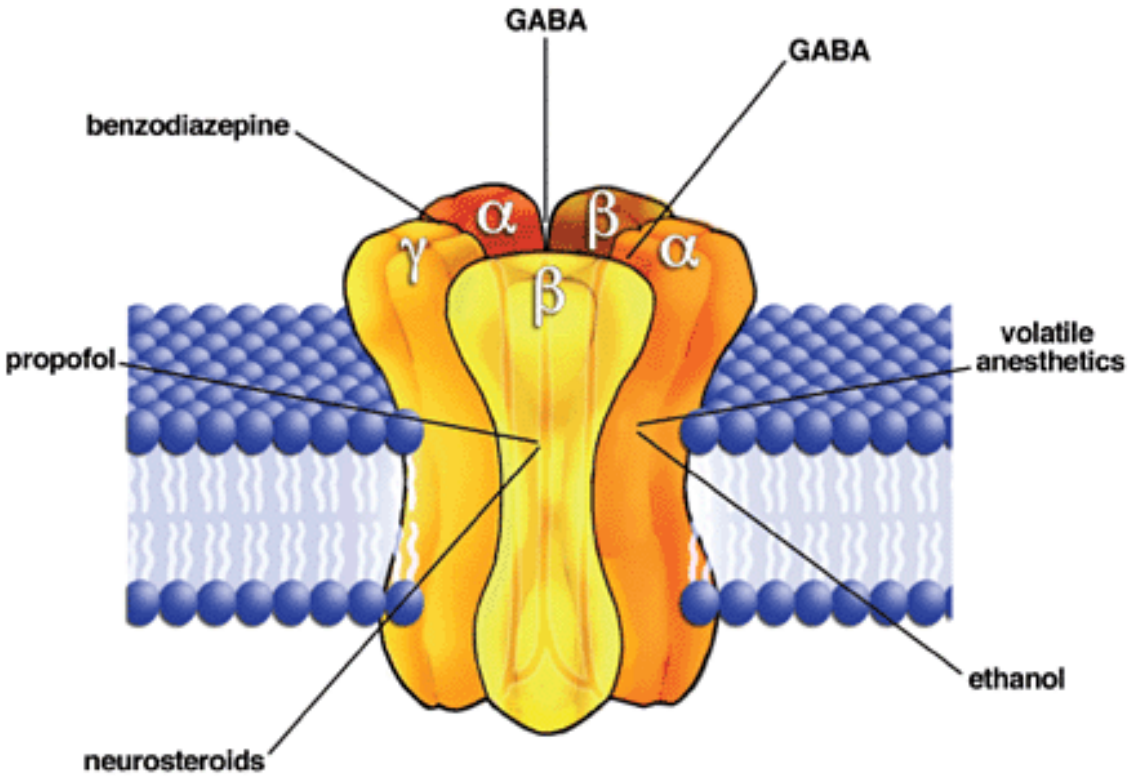
بی هوش کننده های عمومی به عنوان داروهای ضروری در پزشکی هستند. در طول دهه اخیر پیشرفت مهمی در درک ما از مکانیسم های فعالیت بی هوش کننده های عمومی در سطح مولکولی، سلولی و عصبی حاصل شده است. هم سیناپس ها و مکان های پیرامون یا به دور از سیناپس ها[3] و علاوه بر آن کانال های یونی و گیرنده ها به عنوان اهداف مهم برای بی هوش کننده های عمومی شناخته شده اند (۲۱).

۱-کانال های یونی وابسته به لیگاند:

بیشتر تحقیقات در دهه اخیر بر روی کانال های یونی وابسته به لیگاند که به عنوان اهداف بی هوش کننده های عمومی هستند، تمرکز می کند. بعد از دهه ۱۹۸۰ ، کانال های کلری گاما آمینو بوتیریک اسید[4] یا گابا به طور ویژه ای به عنوان اهداف مولکولی بی هوش کننده های عمومی پدیدار شدند. گیرنده های $GABA_A$ به عنوان تنظیم کننده اضطراب، حافظه، تانسیون ماهیچه و بیداری شناخته شده اند (شکل ۱). نورون های گاباارژیک عامل تعدیل نورونی در

[1] -Neurotoxic
[2]-Neuroapoptosis
[3] -Extrasynaptic
[4] -γ_amino-butyric acid subtype A ($GABA_A$)

ساختار های عصبی بزرگ، هم چون هیپوکامپ، تالاموس، نخاع و قشر مخ می باشد. این گیرنده ها به دلیل اینکه احتمالاً نقش مهمی در سیستم عصبی مرکزی دارند، با بیشتر بی هوش کننده ها همراه می شوند. داروهای هوشبر بر نورون‌ها در شاخ خلفی نخاع نیز اثر دارند و این نورون ها نسبت به غلظت پایین داروی بیهوشی بیشتر حساس‌اند و انتقال حس را در مسیرنخاعی – تالاموسی قطع کرده و عامل عدم انتقال محرک های دردناک هستند. بیشتر بی هوش کننده های استنشاقی ارسال میانجی تحریکی را کاهش می دهند. کتامین اثر خود را از طریق تسهیل عملکرد گیرنده $GABA_A$ ایجاد نمی‌کنند، بلکه از طریق عمل آنتاگونیستی بر گیرنده NMDA عمل می‌کنند در حالی که پروپوفول و باربیتورات ها هم به عنوان آنتاگونیست گیرنده های NMDA می باشند (۲۱).



شکل۱- محل اثر هوشبر پروپوفول بر گیرنده $GABA_A$(۲۱)

۲-گیرنده های جفت شده با G- پروتیئن ها:

یک خانواده بزرگ از گیرنده های جفت شده با G-Pr (GPCRs) اهداف مهم دیگر بی هوش کننده های عمومی هستند (شکل ۲) و برای تنظیم بیشتر انتقال پیام ها در سیستم عصبی مرکزی شناخته می شوند. مخصوصاً خانواده ردوپسین GPCRs میانجی بسیاری از گیرنده های عصبی شامل استیل کولین، موسکارین، نورآدرنالین، دوپامین، آدنوزین و گیرنده های اپیوییدی می باشد. مطالعات اخیر نشان می دهد که بی هوش کننده های عمومی می توانند در انتقال پیام های GPCRs در*invivo* مداخله کنند و پیشنهاد می شود که اثرات مستقیمی برGPCRs دارند. مسیر های انتقال پیام های این گروه از پروتئین ها در سیستم هایی از قبیل سیستم تنفس، قلبی و عروقی مهم هستند و بی هوش کننده های عمومی این مسیرها را مهار می کنند. دلایل اتصال مستقیم هوشبر ها با این پروتئین ها به همراه یافته های فارماکولوژیک پیشنهاد می کند که خصوصیات کلیدی بی هوش کننده های عمومی از قبیل از دست دادن آگاهی و بی دردی می تواند یک طیف وسیعی از نقش های پیام های GPCRs را در سیستم عصبی مرکزی نشان دهد. (۲۱).