بررسی تغییرات ساختمانی نورونهای هسته رافه ماگنوس در موش صحرایی نر، پس از القای درد تونیک فرمالین و تخریب اختصاصی مسیر شکمی ـ جانبی PAG به هسته رافه ماگنوس توسط نوروتوکسین ایبوتنیک اسید

فرناز نیکبخت M.Sc.[☆♦]، ژیلا بهزادی Ph.D.[☆]

☆ دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

♦ آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی ۳۵۵-۱۹۸۳۵، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

* **هدف:** بررسی تغییرات ایجاد شده در برخی پارامترهای بافتی (تجمع اجسام مخروطی، قطر طولی سلول و اجسام میله‌ای هسته) در نورونهای هسته رافه ماگنوس در غیاب آورانهای تحریکی آن از ناحیهٔ شکمی جانبی ماده خاکستری قنات مغزی VL PAG (Ventro Lateral part of Periaqueductal Gray) به‌تنهایی یا همراه با درد القا شده توسط فرمالین

* **مواد و روشها:** در این تحقیق از موشهای صحرایی نر در ۴ گروه استفاده شد: ۱ـ گروه شاهد (n=4)، ۲ـ گروه تزریق فرمالین در پنجه پای راست حیوان (n=4)، ۳ـ گروه تخریب شیمیایی ناحیه راست PAG با دوزهای ۰/۲ و ۰/۵ میکرولیتر نوروتوکسین بدون آزمون فرمالین (n=6)، ۴ـ گروه تخریب شیمیایی ناحیه راست PAG با دوز ۰/۲ میکرولیتر با آزمون فرمالین (n=4) برای بررسی بافت‌شناسی پس از گذشت یک هفته از تزریق فرمالین یا تخریب PAG حیوانات پرفیوز شده و بلوکهایی به ضخامت ۵-۳ میلی‌متر از ناحیه ساقه مغز آنها که حاوی هسته رافه ماگنوس بود تهیه شد. بلوکها رنگ‌آمیزی تیونین شده و مقاطع پارافینی ۸-۵ میکرومتری مطالعه میکروسکوپی شدند.

* **یافته‌ها:** نتایج نشان می‌دهند سه مورفولوژی نورونی دوکی شکل، مثلثی و چند قطبی در هسته رافه ماگنوس وجود دارند. همچنین به‌دنبال تخریب ناحیه VL PAG یا القای درد توسط فرمالین، در برخی پارامترهای سیتولوژیک سلول (قطر طولی سلول و اجسام مخروطی سیتوپلاسمی) تغییرات معنی داری ایجاد شده است.

* **نتیجه‌گیری:** در مجموع چنین نتیجه گرفته شد که مسیر VL PAG به هسته رافه ماگنوس در سیستم کنترل درد تونیک دخالت دارد و نورونهای هسته رافه ماگنوس می‌توانند با تغییر ساختار سلولی خود نسبت به محرک دردزا از خود عکس‌العمل نشان دهند.

گل واژگان: هسته رافه ماگنوس، ماده خاکستری قنات مغزی، درد مزمن، تغییرات سیتولوژیک، تخریب شیمیایی

مقدمه

فرضیه وجود یک سیستم مرکزی تعدیل درد در بدن، نخستین بار حدود ۳۰ سال قبل با تسکین درد جراحی در حیوانات توسط تحریک الکتریکی ماده خاکستری اطراف قنات مغزی (PAG) مطرح شد (۱۵). با آن که تحریک الکتریکی PAG می‌تواند بی‌دردی عمیق ایجاد کند (۱)، ولی از آن جایی که ارتباط مستقیم PAG با نخاع کم است (۲)، این مرکز می‌بایست اثرات بی‌دردی خود را از طریق ارتباط نورونی با هسته‌های دیگر تنه مغزی اعمال کند. هسته رافه ماگنوس در تنه مغزی به عنوان مهمترین مرکز واسطه بین PAG و شاخ خلفی نخاع شناخته شده است (۵، ۸). شواهد آناتومیک و الکتروفیزیولوژیک فراوانی وجود ارتباط مستقیم و تک سیناپسی (۸) را بین قسمت شکمی ـ جانبی PAG با هسته رافه ماگنوس تأیید می‌کنند (۳). همچنین مشخص شده است نورونهای حاوی اسیدهای آمینه تحریکی پایانه های خود را به هسته رافه ماگنوس می‌فرستند (۱۵). از ناقلین شیمیایی موجود در سیستم نزولی تعدیل درد، اسیدهای آمینه تحریکی بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند زیرا از طریق گیرنده NMDA[1] خود قادر هستند تغییرات پایداری را در سیستم اعصاب مرکزی به دنبال القای درد، به وجود آورند. این تغییرات تحت عنوان پلاستیسیته عصبی یا نوروپلاستیسیته نامیده می‌شوند. درد تونیک القاء شده توسط فرمالین با افزایش فعالیت گیرنده‌های NMDA می‌تواند سبب تغییرات سلولی جهت مقابله با درد شود (۳).

با توجه به مطالب فوق و نقش مهم مسیر تحریکی VL PAG به هسته رافه ماگنوس در سیستم نزولی تعدیل درد، در این تحقیق بر آن شدیم پرسشهای زیر را بررسی کنیم:

۱) آیا درد القا شده توسط فرمالین، می‌تواند سبب ایجاد تغییراتی در شاخصهای سیتولوژیک نورونهای هسته رافه ماگنوس به‌عنوان یک مرکز مهم واسطه در سیستم نزولی کنترل درد شود؟

۲) تخریب مسیر تحریکی VL PAG-NRM[2] با استفاده از نوروتوکسین ایبوتنیک اسید که آنالوگ اسیدهای آمینه تحریکی است، چه آثاری را بر شاخصهای سیتولوژیک نورونهای هسته رافه ماگنوس خواهد گذاشت؟

۳) چنانچه تخریب مسیر VL PAG-NRM با القای درد توسط فرمالین همراه شود، تغییرات شاخصهای سیتولوژیک نورونهای این هسته چگونه خواهد بود؟

مواد و روشها

در این تحقیق از موشهای صحرائی نر نژاد Sprague Dawley با میانگین وزنی بین ۲۰۰ الی ۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در قفسهای ۶ تایی در شرایط طبیعی ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند و آب و غذا به‌طور معمول در دسترس آنها قرار گرفت. برای مطالعه سیتولوژیک نورونهای هسته رافه‌ماگنوس، روش رنگ‌آمیزی متفاوت فیبری ـ سلولی (نیونین) بر روی این هسته در ۴ گروه زیر انجام شد:

۱) گروه کنترل بافتی: در این گروه پس از طی مراحل پرفیوژن و رنگ‌آمیزی، نورونهای هسته رافه‌ماگنوس مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند (n=4).

۲) گروه آزمون فرمالین: یک هفته پس از القای درد توسط فرمالین مراحل پرفیوز و رنگ‌آمیزی انجام شده و تغییرات ایجاد شده در نورونهای هسته رافه‌ماگنوس به‌دنبال القای درد مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفت (n=4).

۳) گروه تزریق نوروتوکسین در ناحیه شکمی ـ جانبی PAG بدون آزمون فرمالین: در این گروه تغییرات سلولی ایجاد شده در نورونهای هسته رافه‌ماگنوس پس از گذشت یک هفته از تخریب یک طرفه آوران تحریکی آن از VL-PAG با دوزهای ۰/۲ میکرولیتر و (n=4) و ۰/۵ (n=2) میکرولیتر مادهٔ ایبوتنیک اسید بررسی شد.

۴) گروه تزریق نوروتوکسین در ناحیه شکمی ـ جانبی PAG همراه با آزمون فرمالین: در این گروه نیز مادهٔ ایبوتنیک اسید به میزان ۰/۲ میکرولیتر در سمت راست ناحیه شکمی - جانبی PAG تزریق شد (n=4). پس از یک هفته روی حیوانات تست رفتاری درد انجام شد و برای انجام مراحل پرفیوژن و رنگ‌آمیزی، یک هفته دیگر زنده ماندند.

برای سنجش آستانه درد از آزمون فرمالین استفاده شد. به این منظور ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۱۰ درصد زیر پوست پنجهٔ پای حیوان تزریق شد.

برای تزریق ماده ایبوتنیک اسید به بخش شکمی ـ جانبی PAG ابتدا حیوان با تزریق داخل صفاقی مخلوط (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) کتامین و رامپون بیهوش شده و در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شد. مختصات محل تزریق نسبت به خط میانی گوش چنین است (۷، ۱۲):

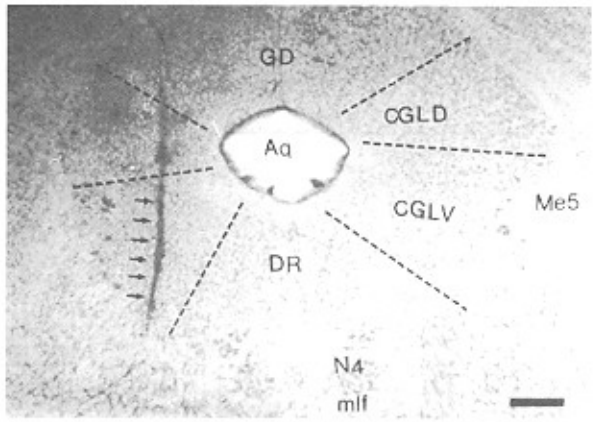
AP: ۱/۲ ،L: ۰/۲ و V: ۵/۲

سپس با استفاده از مته دندانپزشکی سوراخی در ناحیه تزریق ایجاد شد و مادهٔ ایبوتنات (سیگما) که در حلال خود بافر فسفات سدیم PBS[3] حل شده بود توسط سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتر با دو غلظت نهایی ۲ میکروگرم در ۰/۲ میکرولیتر و ۵ میکروگرم در ۰/۵ میکرولیتر در سمت راست ناحیه شکمی ـ جانبی PAG به‌آرامی تزریق شد (به‌میزان ۰/۱ میکرولیتر در دقیقه). برای جلوگیری از پخش شدن ماده، سرنگ به‌مدت ۱۵ دقیقه در محل تزریق باقی ماند. در کلیه موشهایی که ناحیه PAG آنها تحت تزریق ماده قرار گرفته بودند محل تزریق کنترل هیستولوژیک شد. بدین منظور، ابتدا قفسهٔ سینه حیوان بیهوش باز شده و کانولی از طریق نوک قلب در آئورت صعودی حیوان قرار داده شد. سپس عروق خونی مغز ابتدا با ۱۵۰سی‌سی سرم فیزیولوژی و به‌دنبال آن با ۵۰۰سی‌سی تثبیت‌کننده حاوی فرم آلدئید ۱۰ درصد در بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۴) شستشو داده شدند. از ناحیه مزانسفال مغز با استفاده از ویبراتوم برشهای ۸۰ میکرونی تهیه شد.

نمونه‌ها با کرزیل ویوله ۰/۱ درصد رنگ آمیزی شدند و صحت محل تزریق با مطالعه میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفت.

1. N-Methyl-D-aspartate
2. VL PAG-Nucleus Raphe Magnus
3. Phosphate Buffer Salin

شکل ۱ محل تزریق نوروتوکسین را در ناحیه VL PAG نشان می‌دهد. برای بررسی نورونهای هسته رافه ماگنوس ابتدا بلوکهای 2-5 میلی‌متری از ناحیه ساقه مغز تهیه شده و پس از طی مراحل رنگ‌آمیزی نیسل با استفاده از میکروتوم روتاری برشهای ۸-۵ میکرونی از آنها تهیه شد. برشها از ناحیه دمی به سری هسته رافه‌ماگنوس تهیه شدند و هسته رافه ماگنوس را بر اساس اطلس پاکسینوز و واتسون به دوبخش دمی: برگما ۱۱/۶۰- الی ۱۰/۵۲- میلی‌متر و سری: برگما ۱۰/۵۲- الی ۹/۸۰- میلی‌متر تقسیم کردند (۱۲).



شکل ۱: محل تزریق ماده نوروتوکسین در ناحیه شکمی جانبی ماده خاکستری قنات مغزی (CGLV): رنگ‌آمیزی کرزیل ویوله. (بزرگنمایی ۲۲۲ میکرون)

از هر سطح ۱۰ برش انتخاب شده و مورد مطالعه نهایی میکروسکوپی قرار گرفتند. بنابراین در نهایت از هر موش ۲۰ برش منتخب از ناحیه هسته رافه ماگنوس تحت بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. نورونهای هسته رافه ماگنوس با استفاده از میکروسکوپ مجهز به کامرا لوسیدا رسم شده و توسط میکروسکوپ Ziess عکسبرداری شدند هم چنین تعداد نورونها و قطر طولی آنها در نورونهای ترسیم شده محاسبه شدند. برای شمارش سلولها در هستهٔ رافه ماگنوس مربعی به مساحت ۹۰۰۰۰ میلی‌متر مربع در نظر گرفته شد و بررسی نهایی فقط بر روی نورونهایی که در این محدوده قرار گرفته بودند انجام گرفت.

داده‌های تجربی از نظر آماری با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) و Student t-test تجزیه و تحلیل شدند. نتایج در همه موارد به‌صورت Mean±SEM بیان شد.

یافته‌ها

بررسیهای انجام شده در این تحقیق بر روی تعیین مورفولوژی نورونهای هسته رافه ماگنوس و تحولات شاخصهای سیتولوژیک آن شامل اندازه قطر طولی جسم سلولی[1]، تعداد اجسام میله‌ای هسته[2] و اجسام مخروطی سیتوپلاسمی[3] متمرکز شده است.

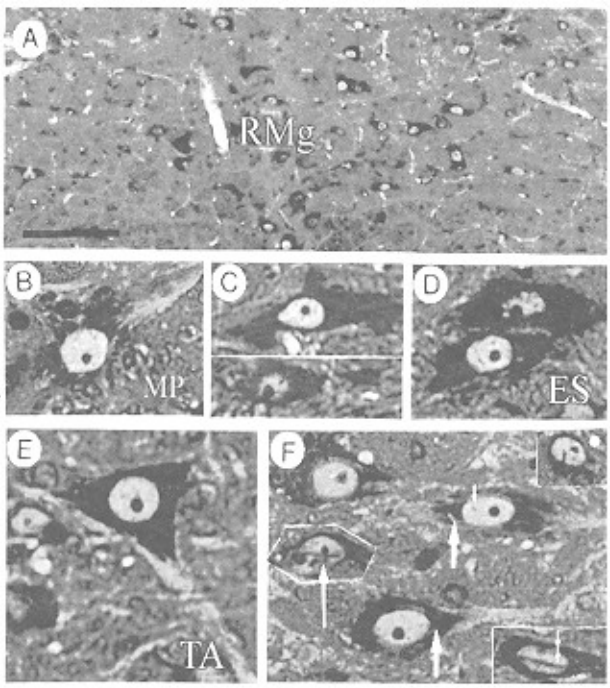
در بررسی میکروسکوپی سه نوع نورون از نظر مورفولوژیک در هسته رافه ماگنوس تشخیص داده شد:

۱) دوکی شکل (FS)[4]، ۲) مثلثی (TA)[5]، ۳) چند قطبی (MP)[6] شکل ۲ عکس میکروسکوپی انواع مورفولوژی نورونهای هسته رافه ماگنوس همراه با شاخصهای سیتولوژیک اجسام مخروطی و اجسام میله‌ای هسته را نشان می‌دهد. درصد فراوانی نورونها برحسب مورفولوژی آنها و تعداد شمارش شده در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: مورفولوژی، تعداد شمارش شده و درصد فراوانی نورونهای موجود در NRM

نوع نورون	FS	TA	MP
تعدادکل‌نورون‌شمارشده n=۷۰۰	۲۸۵	۲۲۳	۹۱
درصدفراوانی	۵۵	۳۲	۱۳

شاخص سیتولوژیک قطر طویل جسم سلولی در بین گروههای مورد مطالعه تنها در گروه آزمون فرمالین از خود تغییرات معنی‌داری را نشان می‌دهد (۱۰ درصد افزایش برای سلولهای دوکی شکل $P<0.05$ و ۱۲ درصد افزایش برای سلولهای مثلثی شکل $P<0.01$).



شکل ۲: عکس میکروسکوپی تهیه شده از انواع مورفولوژی نورونهای هسته رافه ماگنوس ((A-E) همراه با شاخصهای سیتولوژیک اجسام مخروطی و اجسام میله‌ای هسته (F) در رنگ‌آمیزی نیسل

در قسمت F سه نورون دوکی شکل دارای اجسام مخروطی با پیکان ضخیم نشان داده شده‌اند علامت دو پیکان جسم میله‌ای هسته را نشان می‌دهد و پیکان بلند نشانگر Folding است.

بزرگنمایی برای بخش (A) ۲cm معادل ۱۲۵ میکرون؛ بزرگنمایی برای بخشهای (B) تا (F) ۲cm معادل ۲۵ میکرون

جدول ۲ اندازه قطر طویل جسم سلولی و مقایسه تغییرات آن بین گروه شاهد و آزمون فرمالین را در سه گروه نورونی هسته رافه ماگنوس نشان می‌دهد.

1. Long axis
2. Intra nuclear rods
3. Cones
4. Fusiform
5. Triangle
6. Multipolar

جدول ۲: مقایسه قطر طویل سلولی نورونهای NRM در گروه شاهد و آزمون فرمالین

	میانگین قطر طویل سلولی (mm)		
	FS	TA	MP
گروه شاهد	۳۱/۲۷±۰/۶	۲۸/۶۲±۰/۷۸	۲۸/۷۵±۰/۸۵
گروه آزمون فرمالین	۲۳/۶۸±۱/۲۲	۲۲/۵۵±۰/۲۸	۲۹/۹۹±۱/۲۹

در مورد شاخص سیتولوژیک اجسام مخروطی که همان تجمع اجسام نیسل هستند، نتایج نشان می‌دهند میانگین تعداد این شاخص در گروه فرمالین نسبت به گروه شاهد به‌میزان ۵۸ درصد افزایش پیدا کرده است ($P<0.01$).

جدول ۳، میانگین تعداد اجسام مخروطی را در گروههای کنترل، آزمون فرمالین، تزریق نوروتوکسین به‌تنهایی و تزریق نوروتوکسین همراه با آزمون فرمالین با یکدیگر مقایسه کرده است. جدول ۳ همچنین نشان می‌دهد که نوروتوکسین ایبوتنیک اسید با هر دو دوز خود توانسته است سبب افزایش معنی‌دار در تعداد اجسام مخروطی نسبت به گروه کنترل شود (۵۲ درصد، $P<0.05$) این شاخص در گروه نوروتوکسین همراه با آزمون فرمالین در مقایسه با گروه آزمون فرمالین نیز از خود کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد (۴۲ درصد، $P<0.05$). براساس نتایج، شاخص سیتولوژیک اجسام میله‌ای هسته در هیچ‌یک از گروههای مورد مطالعه تغییر معنی‌داری پیدا نکرده است.

جدول ۳: مقایسه میانگین تعداد اجسام مخروطی و اجسام میله‌ای هسته در گروههای مورد مطالعه

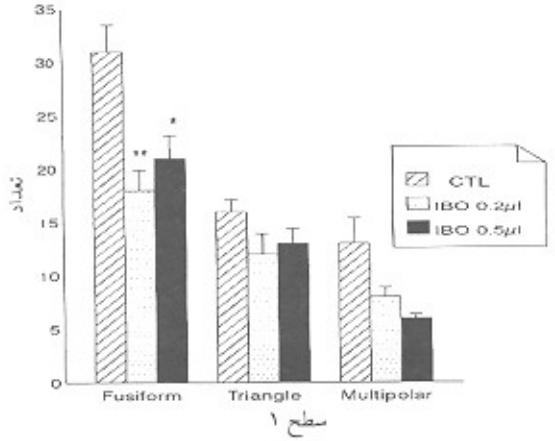
نام گروه	میانگین تعداد اجسام مخروطی		میانگین تعداد اجسام میله‌ای هسته
شاهد	۱۱±۲/۳۷		۸±۲/۲۲
آزمون فرمالین	۲۶±۲/۴۰	**P<۰/۰۱	۹±۲/۱۶
نوروتوکسین 0.2µl	۲۲±۲/۳۰	*P<۰/۰۵	۱۰±۱/۹۸
نوروتوکسین 0.5µl	۲۲±۲/۲۲	*P<۰/۰۵	۱۰±۱/۹۰
نوروتوکسین+فرمالین	۱۵±۲/۱۵	#P<۰/۰۵	۱۰±۲/۰۹

*Vs control group #Vs formalin group

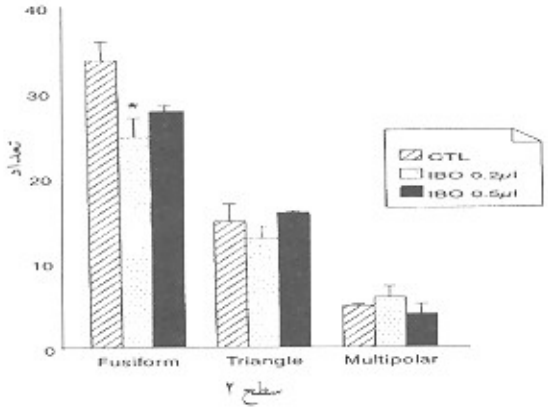
تغییرات ایجاد شده در تعداد سلولهای هسته رافه ماگنوس در دو سطح ۱ (دمی) و ۲ (سری) این هسته و بر روی سه گروه نورونی آن (دوکی، مثلثی، چند قطبی) به‌صورت جداگانه بررسی شد. نتایج نشان می‌دهند گرچه تعداد کلیه گروههای نورونی هسته رافه ماگنوس به‌دنبال تزریق نوروتوکسین در ناحیه VL PAG کاهش یافته است ولی این کاهش تنها برای نورونهای دوکی شکل معنی‌دار بوده و میزان کاهش در دوز 0.2 میکرولیتر بیشتر از دوز 0.5 میکرولیتر بوده است.

نمودارهای ۱ و ۲ تغییرات تعداد نورونها را بین گروههای شاهد و تزریق نوروتوکسین با دوزهای ۰/۲ میکرولیتر و ۰/۵ میکرولیتر در دو سطح دمی و سری نشان می‌دهند.

قابل ذکر است که بین دو قسمت هسته رافه ماگنوس (سمت موافق و مخالف ناحیه تزریق نوروتوکسین در VL PAG) تفاوت معنی‌داری از نظر کاهش نورونی وجود نداشته است.



نمودار ۱: مقایسه تغییرات تعداد سلولهای هسته رافه ماگنوس پس از تزریق دوز نوروتوکسین در سطح ۱ (دمی) نسبت به گروه شاهد



نمودار ۲: مقایسه تغییرات تعداد سلولهای هسته رافه ماگنوس پس از تزریق دو دوز نوروتوکسین در سطح ۲ (سری) این هسته نسبت به گروه شاهد

بحث

نتایج نشان می‌دهند از نظر مورفولوژی، سه گروه نورونی دوکی شکل ۵۵ درصد، مثلثی ۳۲ درصد و چند قطبی ۱۳ درصد در هسته رافه ماگنوس دیده می‌شوند. براساس مطالعات ایمنوراکتیو سروتونین انجام شده بر روی این هسته، نشان داده شده که نورونهای سروتونرژیک آن به اشکال دوکی یا بیضوی وجود دارند (۲). در حالی که مطالعات دیگر انجام شده به همین روش، مرفولوژی نورونهای سروتونرژیک این هسته را در دو گروه دوکی و مثلثی تقسیم‌بندی کرده است (۶). به‌علاوه استفاده از تکنیک WGA-HRP[1] به صورت رتروگراد نشان داده است که نورونهای هسته رافه ماگنوس از نظر مورفولوژی در سه گروه دوکی ـ مثلثی و چندقطبی طبقه‌بندی می‌شوند (۹).

یافته‌ها نشان می‌دهند القای درد تونیک و التهابی ناشی از فرمالین، سبب تغییراتی در برخی شاخصهای سیتولوژیک نورونهای هسته رافه ماگنوس شده است؛ از جمله افزایش معنی‌دار در قطر طویل سلولی

1. Wheat Germ Agglutinin Horseradish Peroxidase

نورونهای دوکی و مثلثی شکل و افزایش تعداد اجسام مخروطی به‌میزان ۵۸ درصد، در صورتی‌که تفاوت چندانی در تعداد اجسام میله‌ای هسته پس از القای درد، در نورونهای رافه ماگنوس ایجاد نشده است.

تحقیقات نشان می‌دهند پدیده‌هایی مانند agingکه باکاهش فعالیت سلولی همراه هستند نیز می‌توانند سبب کاهش اندازه سلول شوند (۱۰). هم‌چنین پدیده‌هایی که سبب افزایش فعالیت سلول می‌شوند قادرند با افزایش ارگانلهای سلولی بر روی قطر طویل آن اثر بگذارند. بنابراین افزایش قطر سلولهای دوکی و مثلثی پس از القای درد، نشان‌دهندهٔ افزایش فعالیت این نورونها است. مطالعات انجام شده نشان می‌دهند این نوع نورونها اکثراً سروتونرژیک هستند پس می‌توان احتمال داد درد القا شده توسط فرمالین سبب فعال شدن بیشتر نورونهای سروتونرژیک نسبت به نورونهای غیر سروتونرژیک این هسته شده است.

براساس مطالعات انجام شده توسط میکروسکوپ الکترونی، اجسام نیسل که شکل خاص تجمع آنها در سیتوپلاسم و قطبهای دندریتی، اجسام مخروطی نامیده می‌شود، همان شبکه اندوپلاسمیک خشن هستند که در پروتئین‌سازی دخالت دارند و تغییر در اندازه و شکل آنها، بیانگر تغییر در فعالیت متابولیک سلول است (۱۱، ۱۳).

با توجه به شواهد موجود، افزایش در تعداد این شاخص سیتولوژیک، نشانگر افزایش فعالیت متابولیک و پروتئین‌سازی در این نورونها یک هفته پس از القای درد است.

مطالعات انجام شده با میکروسکوپ الکترونی وجود اجسام میله‌ای هسته را درکنار هسته و در امتداد قطر طویل سلول نشان می‌دهند. تعداد این اجسام که ساختمان توبولی و پروتئینی داشته و حاوی مقدار کمی لیپید نیز هستند، پس از برخی بیماریهای ویروسی یا پس از تحریک نورون، افزایش می‌یابد (۱۳). در این تحقیق، تغییری در تعداد این اجسام در هسته نورونهای هیچ‌یک از گروههای آزمایش دیده نشد. قطع آوران تحریکی از PAG به هسته رافه ماگنوس سبب کاهش نورونهای این هسته شد همچنین تعداد اجسام مخروطی را در نورونهای باقی مانده به میزان ۵۲ درصد افزایش داد.

مطالعات قبلی که بر روی استریاتوم انجام شده نشان می‌دهد تزریق ماده ایبوتنیک اسید در استریاتوم در جهت آنتروگراد سبب کاهش شدید نورونهای بافت هدف در ناحیه مشبک جسم سیاه می‌شود، درصورتی‌که همین تزریق در جهت رتروگراد، بر روی تعداد نورونهای ناحیه متراکم جسم سیاه، بی‌تأثیر است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که نورونهای بافت هدف به آورانهای خود از بافت مبدأ وابسته هستند، ولی عکس آن در بافت عصبی تکامل یافته صادق نیست (۱۱).

نتایج نشان می‌دهند که کاهش تعداد نورونها در دوز ۰/۲ میکرولیتر نوروتوکسین بیش از دوز ۰/۵ میکرولیتر آن بوده است. از آن جایی که این نوروتوکسین با واسطه گیرنده NMDA اثر می‌کند، پدیده عدم حساسیت نورونها سبب شده که با افزایش بیشتر نوروتوکسین، نورونها با ورود بیشتر نوروتوکسین مقابله کرده و کمتر در معرض تخریب قرار گیرند (۱۶).

بر طبق نتایج، کاهش نورونها پس از تزریق نوروتوکسین فقط برای نورونهای دوکی شکل معنی‌دار بوده و از آن جاکه تعداد این نورونها بیش از سایر نورونهای این هسته است، احتمالاً آوران بیشتری را نیز از PAG دریافت می‌کنند و در نتیجه پس از تخریب، عکس‌العمل قابل توجه‌تری از خود نشان می‌دهند. افزایش تعداد اجسام مخروطی در نورونهای باقی‌مانده هسته رافه ماگنوس می‌تواند نشان دهنده افزایش فعالیت نورونهای باقی مانده این هسته برای جبران فقدان تعدادی از نورونها باشد. مطالعات انجام شده نشان می‌دهند که دو هفته پس از تخریب مسیرهای نزولی سروتونرژیک، آستانه درد در حیوان به حد طبیعی برگشته و نورونهای باقی مانده با افزایش فعالیت خود، کمبود فعالیت نورونهای تخریب شده را جبران می‌کنند (۴).

نتایج آخرین گروه (نوروتوکسین همراه با فرمالین) نشان می‌دهند که اجسام مخروطی در این گروه نسبت به گروه القای درد فرمالینی کاهش محسوس ۴۲ درصد را از خود نشان می‌دهد و تعدادشان با وضعیت طبیعی بافت تشابه دارد.

احتمالاً در عدم حضور آورانهای تحریکی، نورونهای رافه ماگنوس در مقابل ایجاد محرک دردزا توان نوروپلاستیسیتی ساختاری را از خود نشان نداده‌اند.

در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که تحریکات دردزا سبب تغییرات ساختاری در نورونهای هسته رافه ماگنوس به‌عنوان مهمترین مرکز واسطه در سیستم نزولی تعدیل درد می‌شوند. این تغییرات بیان کننده ارتباط بین عملکرد سلولها در مقابل محرکهای مختلف از جمله محرکهای درد زا است.

References

1. Beitz AJ, Mullet MA, Weiner LL: The periaqueductal gray projections to the rat spinal trigeminal, raphe magnus, gigantocellularparsalpha and paragigantocellular nuclei arise from separate neurons. Brain Res 1983; 288: 307-314

2. Chazal G, Ma W: An ultrastructural analysis of serotenergic neurons in the nucleus raphe magnus of the rat. Neuroscience 1989; 33(2): 301-310

3. Coderre TJ, Vaccarino AL, Melzack R: Central nervous plasticity in the tonic pain response to subcutaneous formalin injection. Brain Res 1990; 535: 155-158

4. Fasmer OB, Berge OG, Hole K: Changes in nociception after lesions of descending serotonergic pathways induced with 5-6 Dihydroxytryptamine Neuropharmacology 1985; 24(8): 729-734

5. Jacquet YF: The NMDA receptor: central role in pain inhibition in rat periaqueductal gray. Eur J Pharmac 1988; 271-276

6. Jones SL, Light AR: Serotonergic medullary

raphespinal projection to the lumbar spinal cord in the rat:a retrograde immunohistochemical study. J Comp neurol 1992; 322: 599-610
7. Kamei J, Aoki T, Kasuya Y: Periaqueductal gray matter stimulation produced analgesia in diabetic rats. Neurosci. lett 1992; 142: 13-16
8. Lakos S, Basbaum AI: An ultrastructural study of the projections from the midbrain periaqeuductal gray to spinally projecting, serotonin-immunoreactive neurons of the medullary nucleus raphe magnus in the rat. Brain Res 1988; 443: 383-388
9. Li YQ, Shinonaga Y, Takada M, Mizuno N: Demonstration of axon terminals of projection fibers from the periaqueductal gray onto neurons in the nucleus raphe magnus which send their axons to the trigeminal sensory nuclei. Brain Res 1993; 608: 138-140
10. Liu RII, Yamug J, Engelhardt JK, Xi MC, Morales FR, Chase MH: Cell size and geometry of spinal cord motoneurons in the adult cat following the intramuscular injection of adrimycin, comparison with data from aged cats. Brain Res 1996; 731(1): 121-130
11. Lundberg C, Wictorin KBA: Retrograde degenerative changes in the substantia nigra pars compacta following an excitotoxic lesion of the striatum Brain Res 1994; 644: 205-212
12. Paxinos G, Watson C: The rat brain in the stereotaxic coordinations. 2ed, Academic press, 1986
13. Peters A, Palay SL, Webster Hdef: The fine structure of the nervous system. Oxford, 1991
14. Poirier LJ, Giguere M, Marchand R: Comparative morphology of the substantia nigra and ventral tegmental area in the monkey, cat and rat. Brain Res. Bull 1983; 11: 371-397
15. Wiklund L, Behzadi G, Kalen P, Headley PM, Nicolopoulos LS, Parsons CG, West D.C: Autoradiographic and electrophysiological evidence for excitatory amino acid transmission in the periaqueductal gray projection to nucleus raphe magnus in the rat. Neurosci. lett 1988; 93: 158-163
16. Yeomans DC, Proudfit Hk: Antinociception induced by microinjection of substance P into the A7 catecholamine cell group in the rat. Neuroscience 1992; 49(3): 681-691