



تأثیرات حاصل از بیهوشی کوتاه مدت و بلند مدت کتامین بر رفتار تعادلی و تغییرات

بافت‌شناسی مخچه در موش‌های صحرایی

بهروز یحیایی^{۱*}، لیلا خجسته^۲، مرضیه سعیدمهر^۳

۱- استادیار علوم تشریحی، گروه پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهرود، شاهرود، ایران

۲- استادیار بیهوشی، گروه پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهرود، شاهرود، ایران

۳- دکتری حرفه‌ای پزشکی، گروه پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهرود، شاهرود، ایران

چکیده	مقاله مورد شاهدهی
مقدمه با توجه به ضرورت بیهوشی در جراحی و شیوع بالای مصرف داروی کتامین به عنوان ماده بیهوش کننده، این تحقیق با هدف مطالعه تأثیرات بیهوشی کوتاه مدت مکرر و بلند مدت توسط کتامین بر مخچه در موش‌های صحرایی انجام شد. مواد و روش‌ها تعداد ۳۰ عدد موش صحرایی نر و ماده با وزن تقریبی ۱۹۰ گرم و سن حدود ۸-۱۲ هفته به ۶ گروه تقسیم شدند. ابتدا از همه گروه‌ها تست تعادل گرفته شد. سپس به مدت یک ماه، بیهوشی القا گردید. گروه‌های مطالعه شامل دو گروه کنترل ماده و نر که تحت بیهوشی قرار نگرفتند، دو گروه بیهوشی کوتاه مدت مکرر نر و ماده که ۳ بار در هفته با دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند و دو گروه بیهوشی بلند مدت نر و ماده که یک بار در هفته با دوز ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند. سپس در پایان دوره یک ماهه مجدد تست تعادل از تمامی گروه‌ها گرفته شد و موش‌های صحرایی تحت نمونه‌گیری بافتی از مخچه قرار گرفته و لام‌های بافت‌شناسی بررسی شدند. یافته‌ها در بررسی بافت‌شناسی، تغییرات خفیف تا متوسط در برخی لایه‌های مخچه مشاهده شد. به لحاظ تعادلی تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود نداشت. نتیجه‌گیری نتایج نشان داد که داروی کتامین اثرات خفیفی بر روی بافت مخچه داشته است که این تغییرات بین گروه‌های بیهوشی کوتاه مدت مکرر با دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم و بلند مدت با دوز ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری نداشتند. کلیدواژه‌ها کتامین، مخچه، بافت‌شناسی، تعادل، موش صحرایی	تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۷/۴/۱۰ *نویسنده مسئول: بهروز یحیایی، گروه پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهرود، شاهرود، ایران تلفن: پست الکترونیک: Behroozyahyaei@yahoo.com



مقدمه

بیهوشی عمومی به عنوان یکی از مهم‌ترین پیشرفت‌ها در علم پزشکی مدرن معرفی شده که امروز برای میلیون‌ها بیماری که تحت جراحی و دیگر تکنیک‌های پزشکی قرار می‌گیرند استفاده می‌شود. بیهوشی عمومی مرگ برنامه‌ریزی شده سلول‌های نورونی را در سراسر ساختارهای مغز در نوزادان موش‌های صحرایی القا می‌کند. مکانیسم عمومی این پدیده به طور کامل شفاف نیست. با این وجود مهار فعالیت سیناپس‌ها در دوره سیناپس‌زایی منجر به کاهش در راه‌اندازی انتقال پیام رشد سلول عصبی شده و مرگ سلولی آپوپتیک را القا می‌کند. لذا داروهای بیهوشی تحلیل نورونی را در مغز نوزادان موش‌های صحرایی راه‌اندازی می‌کند. یکی از داروهای بیهوشی داخل وریدی کتامین است (۱).

کتامین بسیار لیپوفیل است و به سرعت در ارگان‌های با خون‌رسانی بالا از جمله مغز توزیع می‌گردد و به دنبال آن در بافت‌های کم خون تر مجدداً انتشار پیدا می‌کند و بطور همزمان تحت متابولیسم کبدی و دفع ادراری و صفراوی قرار می‌گیرد (۱).

کتامین مشتق فن سیکلیدین و تا حدودی محلول در آب و بسیار محلول در چربی است. در سال ۱۹۶۵ میلادی برای مصرف بالینی معرفی شد و به خاطر ایجاد اثر ضد درد قابل توجه، از اکثر هوشبرهای داخل وریدی دیگر متفاوت است (۲).

اگرچه یونانی‌های باستان از معجون‌های بی‌حاصل و عصاره خشخاش برای از بین بردن درد جراحی استفاده می‌کردند، اما خاستگاه بیهوشی امروز به اواخر قرن ۱۸ بر می‌گردد (۲). بیهوشی عمومی یک کمای القا شده مطابق قاعده طبی و از دست دادن رفلکس‌های محافظتی در نتیجه تجویز یک یا

تعداد بیشتری عامل بیهوشی است (۳). اخیراً نشان داده شده که مواجهه مغز در حال تکامل در طول دوره‌ای از سیناپتوژنز با داروهایی که رسپتورهای گلوتامات NMDA یا داروهایی که گیرنده‌های GABA را تحریک می‌کند، می‌تواند نورودژنره شدن اپوپتوتیک گسترده را القا کند. همه عوامل بیهوشی معمولاً هر یک از دو خاصیت بلوک کننده رسپتور NMDA یا افزایش دهنده رسپتور GABA را دارند (۴). کتامین عمدتاً در سه وضعیت بالینی بی‌دردی حین اعمال جراحی، بی‌دردی حین بی‌حسی موضعی و در درمان درد در مراقبت‌های پس از بیهوشی، جهت بی‌دردی مورد مطالعه قرار گرفته است (۵و۶).

جهت استفاده از کتامین به صورت بی‌دردی کنترل شده توسط بیمار مطالعات انجام شده محدود می‌باشد و نیاز به مطالعات بیشتری است (۷-۵).

کتامین از معدود داروهای بیهوشی می‌باشد که هر سه جز مورد نیاز بیهوشی مطلوب (بی‌دردی، بی‌حرکتی و فراموشی) را فراهم می‌سازد. کتامین پاسخ مرکزی به افزایش دی اکسید کربن را سرکوب نمی‌کند، رفلکس‌های حلقی-حنجره‌ای را معمولاً حفظ کرده و موجب برونکودیلاتسیون می‌شود. در بیهوشی با کتامین تون عضلات اسکلتی و ترشحات مجاری هوایی افزایش می‌یابد (۵و۸).

اثرات کتامین وابسته به دوز می‌باشد. در غلظت‌های پایین سرمی اثرات ضد درد و در غلظت‌های بالاتر اثرات بیهوشی آن ظاهر می‌شود (۵و۹).

به طور مثال بر گیرنده‌های اوپیویدی در مغز، نخاع و اعصاب محیطی متصل می‌شود و حداقل بخشی از اثرات ضد درد آن را منتسب به این امر می‌دانند. کتامین همچنین بر



گیرنده‌های غیر NMDA گلوتمات کولینرژیک نیکوتینی و موسکارینی نیز تاثیر می‌گذارد (۷ و ۱۰).

استفاده از آنتاگونیست‌های NMDA به تنهایی یا همراه با آگونیست‌های GABA منجر به نورودژنراسیون در مغز در حال تکامل نوزادان موش صحرایی هفت روزه می‌شود. اگر چه تجویز تک دوز MKM1 به عنوان دیگر آنتاگونیست گیرنده NMDA باعث نورودژنراسیون مغزی می‌شود اما استفاده از دوزهای مختلف کتامین منجر به نوروتوکسیسیته می‌گردد (۱۱).

تحریک گیرنده NMDA فاکتور اساسی در بقای نورونی در طول تکامل است و مهار فعالیت آن منجر به مسمومیت می‌شود (۱۲).

یافته‌های اخیر نشان می‌دهد تجویز این دارو در طول دوران سیناپتوژنز آپوپتوزیس نورونی گسترده در مغز موش‌های صحرایی نابالغ را به دنبال دارد (۱۳).

نورودژنراسیون القا شده توسط کتامین ممکن است به دلیل افزایش بیان گیرنده‌های NMDA و در نتیجه تحریک سیستم گلوتماترژیک باشد و یا متابولیت‌های کتامین باعث افزایش ترشح هیدروکوئینون سمی شده باشد (۱۴).

در دوزهای بالا و قبل از بیهوشی کامل، کتامین حس انفکاک شدید از دنیای اطراف ایجاد می‌کند که به کاف-چاله (k-hole) معروف است (۱۵).

شایع‌ترین عارضه جانبی کتامین پدیده اورژانس^۱ می‌باشد (۹ و ۱۰). این پدیده در ۱۵ درصد بیماران رخ می‌دهد و تقریباً همیشه خفیف است. بیماران با رویاهای واضح ناخوشایند یا توهم بیدار می‌شوند.

تجویز آهسته دارو با سرعت ۵/۰ میلی گرم بر کیلوگرم در دقیقه می‌تواند از شیوع این عوارض بکاهد (۹). کتامین

موجب افزایش ترشحات تراشه‌ای-برونشی و بزاقی می‌شود. در کودکان کم سن و بیمارانی که تحت معاینه راه هوایی قرار می‌گیرند (مثلاً لارنگوسکوپی فیبراپتیک) پیش درمانی با داروهای آنتی کولینرژیک ۱۰ دقیقه قبل از تجویز کتامین می‌تواند سودمند باشد (۹ و ۱۶). تهوع و استفراغ پس از به هوش آمدن نیز به طور شایع دیده می‌شود؛ ولی عموماً کوتاه مدت است و به خوبی به داروهای ضد استفراغ جواب می‌دهد (۹).

مخچه به عنوان بخشی از دستگاه عصبی بوده (۱۷) و اساساً نقش اصلی را در زمان‌بندی فعالیت‌های حرکتی و پیشرفت سریع و نرم حرکت عضلانی از یک عضله به عضله دیگر ایفا می‌کند. همچنین هنگامی که بار وارد شده به عضله تغییر می‌کند، به کنترل شدت انقباض عضلانی نیز کمک می‌نماید. ضمناً مخچه تقابل لحظه‌ای بین دسته عضلات موافق و مخالف را نیز کنترل می‌کند. مخچه از دیرباز به عنوان ناحیه خاموش مغز نامیده می‌شده است، عمدتاً به این دلیل که تحریک الکتریکی مخچه باعث ایجاد هیچگونه احساس آگاهانه نمی‌شود و به ندرت موجب حرکت می‌شود، اما برداشتن مخچه باعث اختلال شدیدی در حرکات می‌گردد. نقش مخچه به خصوص در طی فعالیت‌های عضلانی سریع همچون دویدن، ماشین نویسی، نواختن پیانو و حتی صحبت کردن حیاتی است. از دست دادن این ناحیه از مغز علی‌رغم اینکه باعث فلج هیچ عضله‌ای نمی‌شود، اما باعث ناهماهنگی تقریباً کامل این فعالیت‌ها می‌گردد. مخچه به توالی فعالیت‌های حرکتی کمک کرده و در ضمن اجرا، این فعالیت‌ها را کنترل کرده و در مورد آن‌ها دست به تنظیمات تصحیح کننده می‌زند به گونه‌ای که این فعالیت‌ها خود را با سیگنال‌های حرکتی صادره از قشر حرکتی مغز و سایر قسمت‌های مغز هماهنگ می‌کنند (۱۸).

^۱ Emergent Phenomenon



قشر مخچه که در هماهنگی فعالیت عضلات بدن نقش دارد نیز سازمان دهی لایه‌ای دارد. لایه خارجی مولکولار (molecular) لایه مرکزی از سلول‌های بزرگ به نام سلول‌های پورکنز (purkinj) و لایه دانه‌دار داخلی (granular layer) تشکیل شده است (۱۷). در زیر این لایه‌های قشری و در مرکز توده مخچه، هسته‌های عمقی مخچه قرار دارند که پیام‌های خروجی را به سایر قسمت‌های سیستم عصبی می‌فرستند (۱۸).

عملکرد مخچه در جلوگیری از حرکات بیش از حد و زوال حرکات:

تقریباً تمام حرکات بدن، «پاندولی» هستند. برای مثال، با حرکات بازو، اندازه حرکتی ایجاد می‌شود که باید برای متوقف کردن حرکت، بر آن غلبه کرد. به خاطر اندازه حرکت، تمام حرکات پاندولی تمایل به حرکات بیش از حد دارند. اگر حرکت بیش از حد در شخصی که مخچه اش تخریب شده است روی دهد، در نهایت مراکز خود آگاه مغز آن را شناسایی کرده و در تلاش برای بازگرداندن بازو به وضعیت مورد نظر، حرکتی را در جهت معکوس شروع می‌کنند. اما بازو به خاطر اندازه حرکتش، یکبار دیگر در جهت مخالف حرکت بیش از حد پیدا می‌کند و مجدداً نیاز است پیام‌های اصلاح کننده مناسب ارسال گردند. بدین ترتیب بازو قبل از اینکه در نهایت بر روی نقطه مورد نظر ثابت شود، چندین بار در جهت جلو و عقب نقطه مورد نظر حرکت می‌کند. به این اثر «لرزش حین فعالیت» یا لرزش ارادی می‌گویند (۱۸). مخچه وزنی معادل ۱۵۰ گرم دارد (مردان بزرگسالان) در بالغین وزن مخچه یک هشتم و در اطفال یک بیستم وزن مغز را تشکیل می‌دهد (۱۹).

با توجه به استفاده روزافزون داروی کتامین در دوزهای درمانی و بیهوشی و لزوم شناخت عوارض احتمالی ناشی از آن، و با عنایت بر آنکه تعداد دفعات بیهوشی در یک بازه زمانی و نیز دوزهای استفاده از داروی بیهوشی در هر بار مصرف بطور فرضیه‌ای محتمل است که دارای اثرات تعادلی و بافتی باشد، لذا تحقیق حاضر با هدف مطالعه تاثیرات حاصل از بیهوشی کوتاه مدت مکرر و بلند مدت توسط کتامین بر رفتار تعادلی و تغییرات بافت شناسی مخچه در موش‌های صحرایی نژاد ویستار پایه‌گذاری گردید.

مواد و روش‌ها

جامعه آماری و روش نمونه‌گیری

جامعه آماری موش‌های صحرایی نر و ماده نژاد ویستار بودند که از میان آنها تعداد ۳۰ سر موش صحرایی با تعداد یکسان از نر و ماده و میانگین وزن مشابه با سن ۸-۱۲ هفته به عنوان نمونه آماری بصورت تصادفی انتخاب شدند. نمونه آماری این تحقیق، به روش نمونه‌گیری انتخابی هدفدار با توجه به شرایط وزنی، سنی و جنسیت انجام شد. سپس بصورت تصادفی در ۶ گروه تقسیم شدند. پژوهش حاضر مطالعه‌ای تجربی و کاملاً تصادفی است. روش مناسب برای انجام این مطالعه روش آزمایشگاهی و تجربی بوده که با این روش امکان کنترل عوامل تاثیرگذار بر نتایج میسر باشد، که در کل دوره آزمایش تمام شرایط اخلاقی در مورد کار با حیوانات مورد استفاده، رعایت گردید.

شرایط نمونه‌ها

به منظور بررسی اثر کتامین بر بافت شناسی مخچه و تعادل موش‌های صحرایی آزمایشی، ۳۰ سر موش صحرایی با سن ۸-۱۲ هفته و میانگین وزن مشابه، از دانشگاه علمی کاربردی دامغان خریداری و به مدت یک هفته شرایط تطابق



بعد از گروه‌بندی بر اساس مداخله‌ها تزریق کتامین/زایلازین به صورت درون صفاقی انجام شد (۲۴). طول دوره آزمایشی ۴ هفته بوده که گروه نر و ماده سالم هیچ داروی بیهوشی دریافت نکردند (۲۴). به موش‌های صحرایی نر و ماده در گروه بیهوشی بلند مدت، کتامین با دوز ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم بصورت هفتگی (۲۴) و به موش‌های گروه بیهوشی کوتاه مدت و مکرر، کتامین با دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم به تعداد سه بار در هفته تزریق گردید (۲۴).

از تمامی موش‌ها در گروه‌های مختلف ابتدا تست رفتاری تعادل گرفته شد و در پایان ماه این تست مجدد در مورد تمامی گروه‌های تحت آزمایش و گروه سالم تکرار شد. به عبارت دیگر در کل دوره یک ماهه تمامی موش‌ها دو بار تحت آزمون رفتاری تعادل قرار گرفتند.

تست رفتاری تعادل با استفاده از روشی به نام Beam Test گرفته شد. این روش با استفاده از دستگاه ایرانی با مشخصات متشکل از یک قطعه چوب با طول ۱/۵ متر و ارتفاع ۹۰ سانتی متر از سطح و قطر یک سانتی متر انجام گردید. موش‌های صحرایی در هر بار تست از ابتدای مسیر گذاشته می‌شدند و در انتهای این قطعه چوب، محفظه تاریکی قرار داشت که مدت زمان ورود این موش‌های صحرایی به این محفظه ثبت می‌شد. همچنین علاوه بر مدت زمان، تعداد دفعات لغزش از چوب تا رسیدن به محفظه، تعداد دفعات ادرار و مدفوع در کل مسیر نیز ثبت می‌شدند. برای بار اول حیوانات بصورت آزمایشی و جهت یادگیری آنها بر روی Beam Test قرار گرفتند، سپس مجدد جهت آزمون روی این دستگاه گذاشته شدند و تمامی معیارهای تست از موش‌های صحرایی ثبت شد.

بیهوشی و نمونه‌گیری

اعمال شد تا موش‌های صحرایی با شرایط محیط جدید عادت کنند. سپس وزن کشی و به طور تصادفی انتخاب و گروه‌بندی و نگهداری شدند. حیوانات در گروه‌های مورد بررسی در قفس‌های استاندارد مخصوص از جنس PVC، هر قفس ۲ موش، با درپوش توری فلزی که کف آن‌ها با تراشه‌های تمیز چوب پوشانده شده بود، نگهداری شدند.

در طی دوره آزمایش از خوراک مخصوص و فشرده جوندگان از شرکت مینو صباح (جدول ۱-۳) (۲۵gr به ازای هر ۱۰۰gr وزن بدن) و آب سالم شهری (روزانه ۵۰ میلی لیتر)، در ظرف آب خوری از جنس PVC برای تغذیه آنها استفاده شد و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری و میزان رطوبت محیط ۴۰-۶۰ درصد و دما ۲۰-۲۵ درجه بود. موش‌ها به صورت هفتگی وزن کشی شده و غلظت کتامین با توجه به وزن جدید تنظیم گردید. این مطالعه بر طبق راهنمای استفاده و مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی اجرا گردید.

جهت تقسیم‌بندی تصادفی، ابتدا ۳۰ سر موش نژاد ویستار وزن‌گیری و میانگین وزنی آنها محاسبه شد، به گونه‌ای که گروه‌ها علاوه بر جداسازی از نظر نر و ماده، بر اساس میانگین وزن تقسیم‌بندی شدند. در هر گروه میانگین وزن ۱۹۰gr بود.

گروه‌بندی موش‌های صحرایی به صورت زیر انجام گردید:

- ۱) گروه نر سالم بدون دریافت بیهوشی ($n=4$)
- ۲) گروه ماده سالم بدون دریافت بیهوشی ($n=4$)
- ۳) گروه نر تحت بیهوشی بلند مدت با کتامین ($n=6$)
- ۴) گروه ماده تحت بیهوشی بلند مدت با کتامین ($n=6$)
- ۵) گروه نر تحت بیهوشی کوتاه مدت و مکرر با کتامین ($n=5$)
- ۶) گروه ماده تحت بیهوشی کوتاه مدت و مکرر با کتامین ($n=5$)



در آخر دوره موش‌ها مجدد وزن كشي شدند و به منظور نمونه‌گيري بافتي، قرباني شده و نمونه‌گيري از بافت مخچه انجام شد.

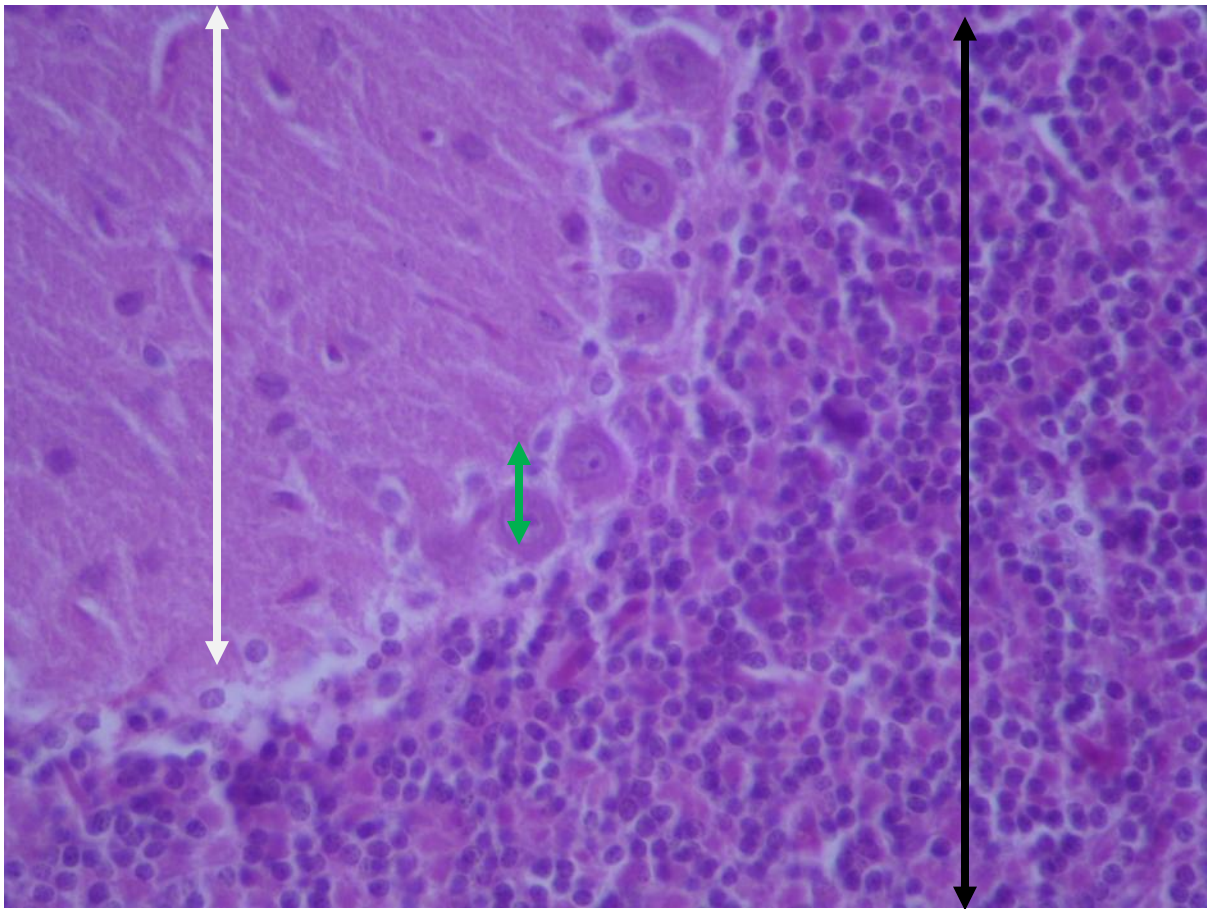
سپس نمونه‌هاي جدا شده از تمامي موش‌ها، بلافاصله درون ظروف حاوي محلول فرمالين ۰/۱۰ جهت ثبوت بافت قرار داده شده و پس از ۲۴ ساعت محلول فرمالين تعويض گرديد و نمونه‌هاي اخذ شده جهت تهيه مقاطع هيستولوژيك به آزمايشگاه بافت شناسي ارسال گرديد.

پس از آماده سازي، مقاطع تهيه شده به لحاظ متغيرهاي كه به طور معمول و قرار دادي جهت بررسي روند تغييرات هيستوپاتولوژيكي بافت مخچه مطالعه مي‌شوند، به كمك ميكروسكوپ نوري مورد ارزيابي بافت شناختي قرار گرفتند. با توجه به كيفيت و كميت داده‌ها، نوع آمار مورد استفاده متغير خواهد بود. ابتدا از آمار توصيفي جهت نشان دادن توزيع داده‌ها استفاده مي‌شود. در داده‌هاي پارامتريك ابتدا بعد از تعيين همگن بودن جامعه و واريانس‌ها توسط آزمون كلوموگروف-اسميرنوف (K-S)، براي تعيين اختلاف بين گروه‌ها از آزمون آناليز واريانس يك طرفه و آزمون تعقيبي Tukey استفاده مي‌شود. در كليۀ مراحل چنانچه $P < 0.05$

<value باشد تفاوت‌هاي موجود معني‌دار در نظر گرفته خواهند شد.

يافته‌ها

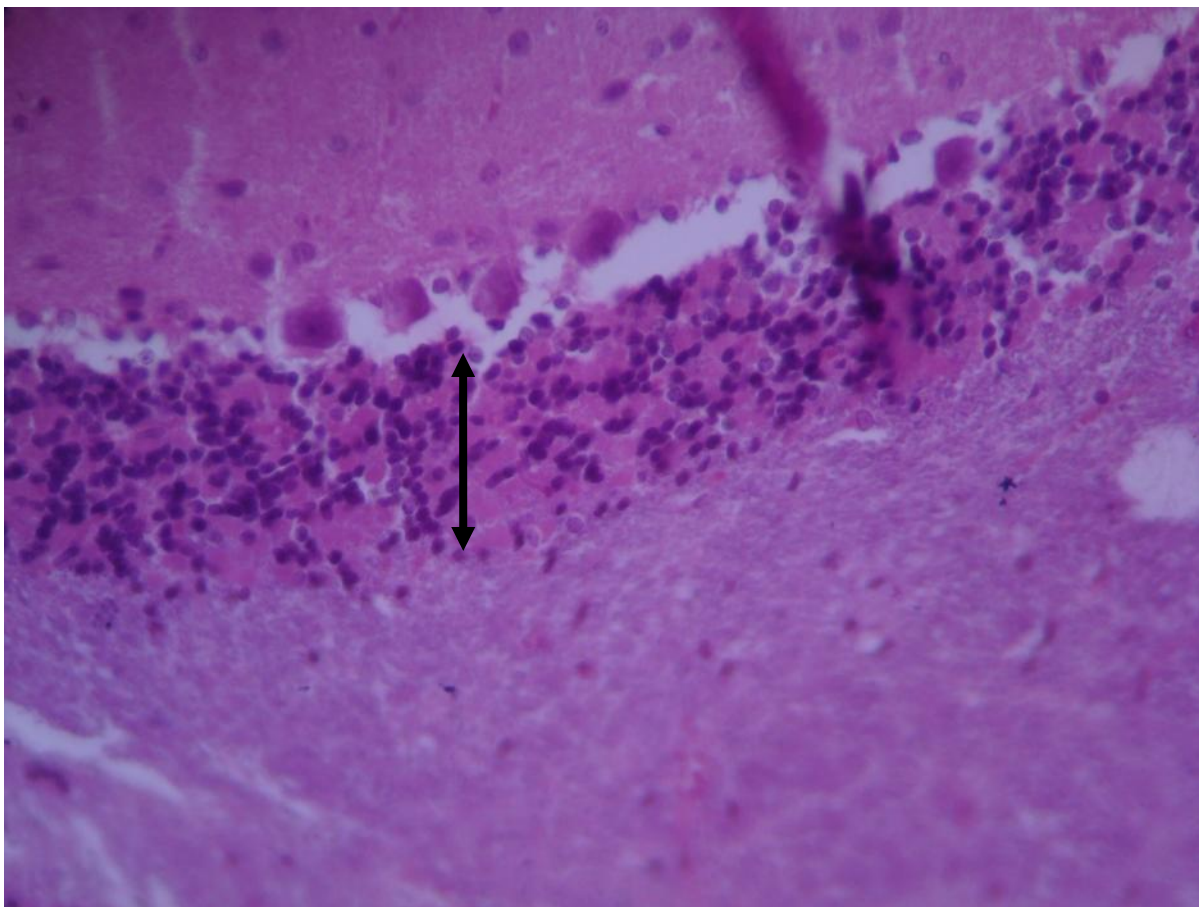
نتايج بدست آمده از بررسي ميكروسكوپيك بافت مخچه در گروه كنترل نر و ماده نشان داد كه بافت مخچه داراي مشخصات نرمال و مناسب با معيارهاي تيبيك هيستولوژيكي مي‌باشد. آرايش درختي بافتي در مخچه با مشخصات نرمال شامل ماده خاكستري در زير نرم شامه و ماده سفيد در زير ماده خاكستري مي‌باشد كه ماده خاكستري خود از سه لايه تشكيل گرديده است. لايه اول كه درست در زير نرم شامه ديده مي‌شود لايه مولكولار است كه داراي تعداد اندكي سلول عصبي بوده و بيشتر از رشته‌هاي عصبي تشكيل شده است. لايه مياني تنها از يك ردیف سلول بزرگ و گلابي شكل كه پوركنژ ناميده مي‌شود تشكيل شده و در حقيقت تك لايه است و اين سلول‌ها با بقيه سلول‌هاي مخچه به لحاظ مورفولوژيك و اندازه تفاوت دارند. سومين لايه كه گرانولار (دانه‌دار) ناميده مي‌شود داراي بيش از ۱۰ ردیف سلول بسيار كوچك با هسته‌هاي تيره هست. زير لايه مذكور ماده سفيد قرار دارد كه فاقد جسم سلولي هست (شكل ۱).



شکل ۱- مقطع بافت شناسی مخچه موش صحرایی گروه کنترل نر. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین $\times 400$) لایه مولکولار (فلش سفید)، لایه پورکنز (فلش سبز) و لایه گرانولار (فلش سیاه).

سیتوپلاسم آنها پررنگ و هسته نیز کوچک است. همچنین اندازه سومین لایه یعنی گرانولار نیز کاهش یافته و سلول‌های موجود در این لایه کمتر از حد طبیعی هستند (شکل ۲).

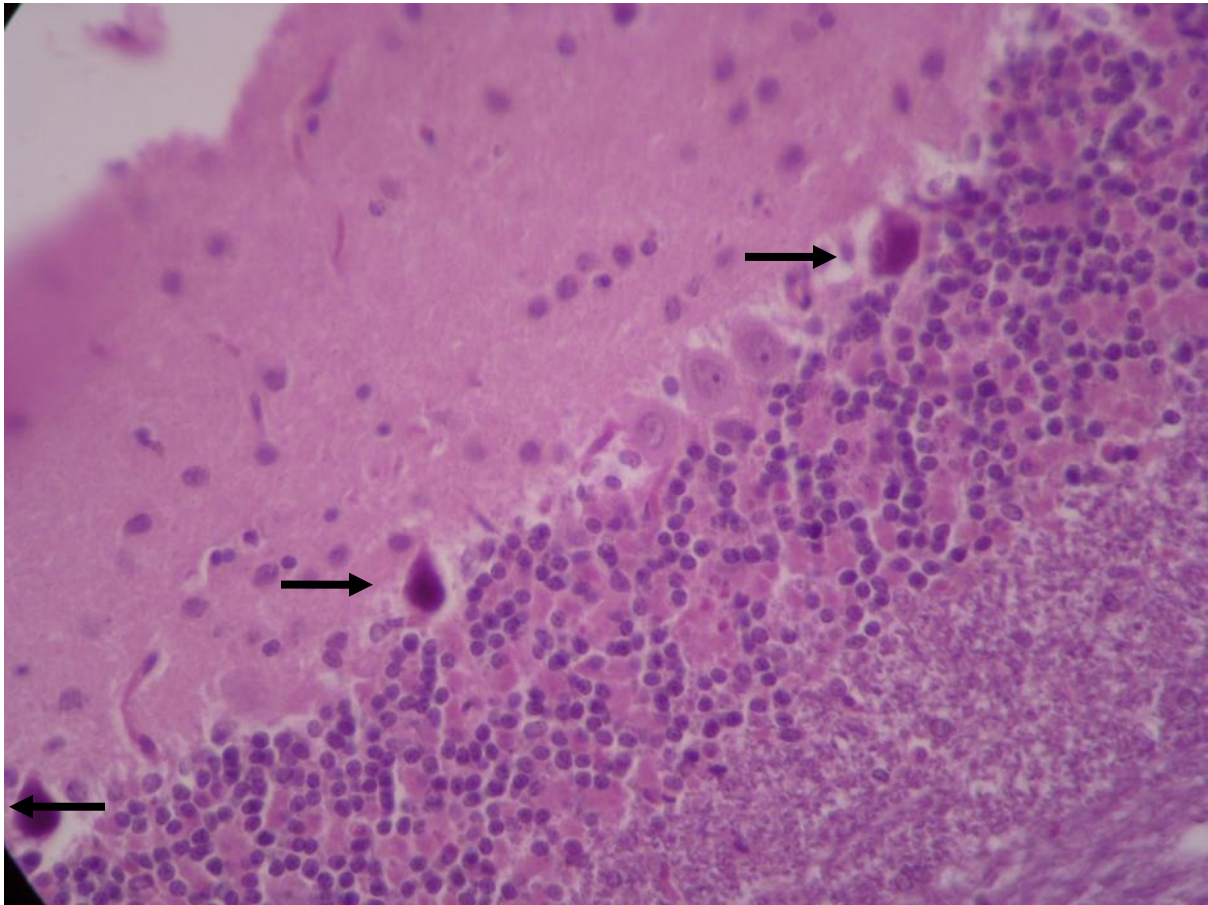
در تصاویر میکروسکوپی گروه کوتاه مدت نر در بافت مخچه و در فواصل بین لایه‌ای مقداری از هم گسیختگی و بی‌نظمی دیده می‌شود. سلول‌های پورکنز دارای مقداری کوچک شدگی بوده اندازه آنها با یکدیگر متفاوت شده و



شکل ۲- مقطع بافت شناسی مخچه موش صحرایی گروه کوتاه مدت نر. لایه گرانولار (فلش سیاه). (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین $\times 400$)

در تصاویر میکروسکوپی بدست آمده از گروه کوتاه مدت ماده تغییرات تا حد زیادی همانند گروه کوتاه مدت نر می‌باشد. بطوریکه در این تصاویر نیز تعداد و اندازه سلول‌های پورکنز کمتر شده و اندازه و لایه‌های سلولی موجود در لایه گرانولار نیز کاهش دیده می‌شود. بی‌نظمی بافتی و آرایش نامنظم کمتر در بین لایه‌ها دیده می‌شود.

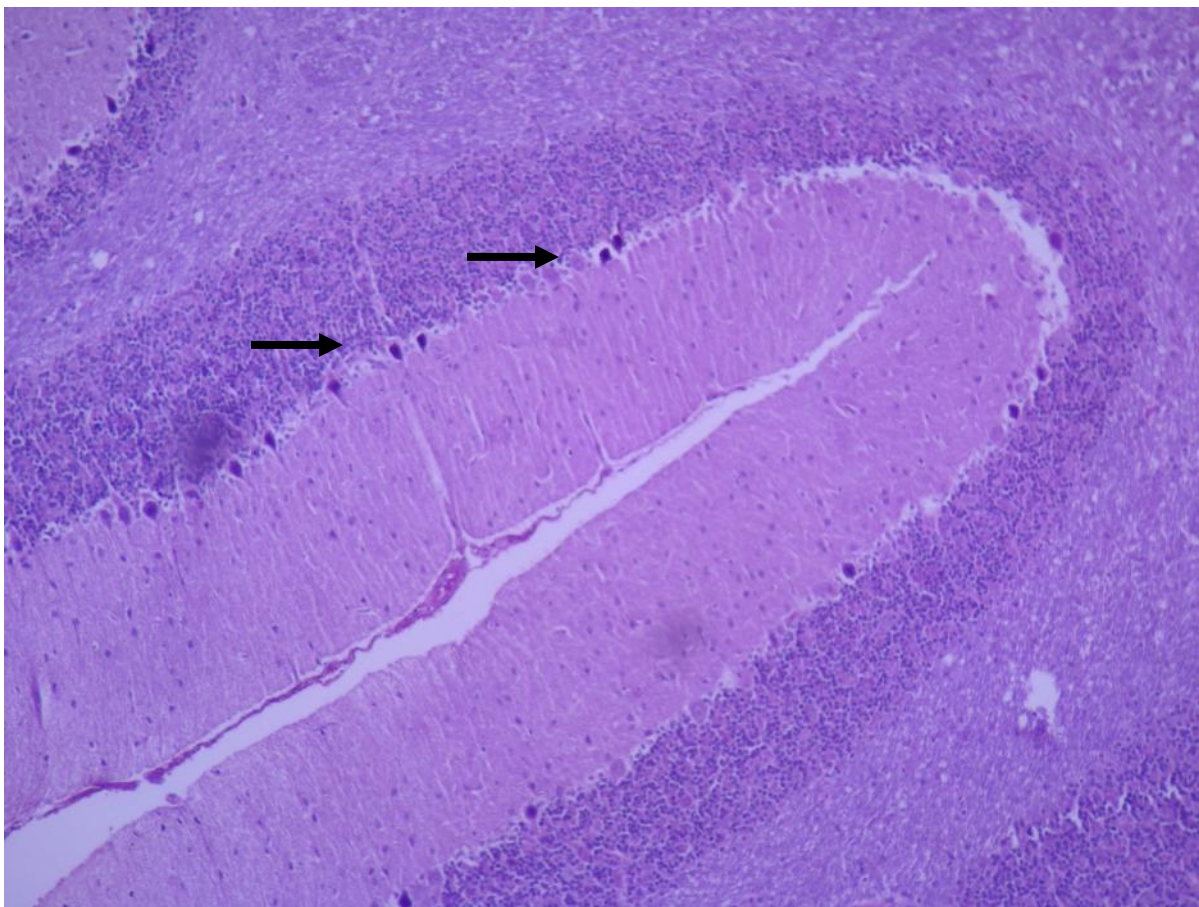
نکته قابل‌رویت و مهم در این نمونه‌ها وجود تعداد اندکی سلول پورکنز غیر طبیعی با سیتوپلاسم بشدت اسیدوفیل بوده که در مراحل از نکرز می‌باشد (فلش سیاه). همچنین در لایه گرانولار نیز دانه‌های اسیدوفیل مشاهده می‌گردد (شکل ۳).



شکل ۳- مقطع بافت شناسی مخچه موش صحرایی گروه کوتاه مدت ماده. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین $\times 400$)

سلول‌های پورکنز وجود دارند اگرچه اندازه سلول‌ها تغییری ندارد اما تعداد قابل ملاحظه‌ای از سلول‌های پورکنز سیتوپلاسم اسیدوفیل و هسته شدت هیپرکروماتیک دارند (فلش سیاه). (شکل ۴)

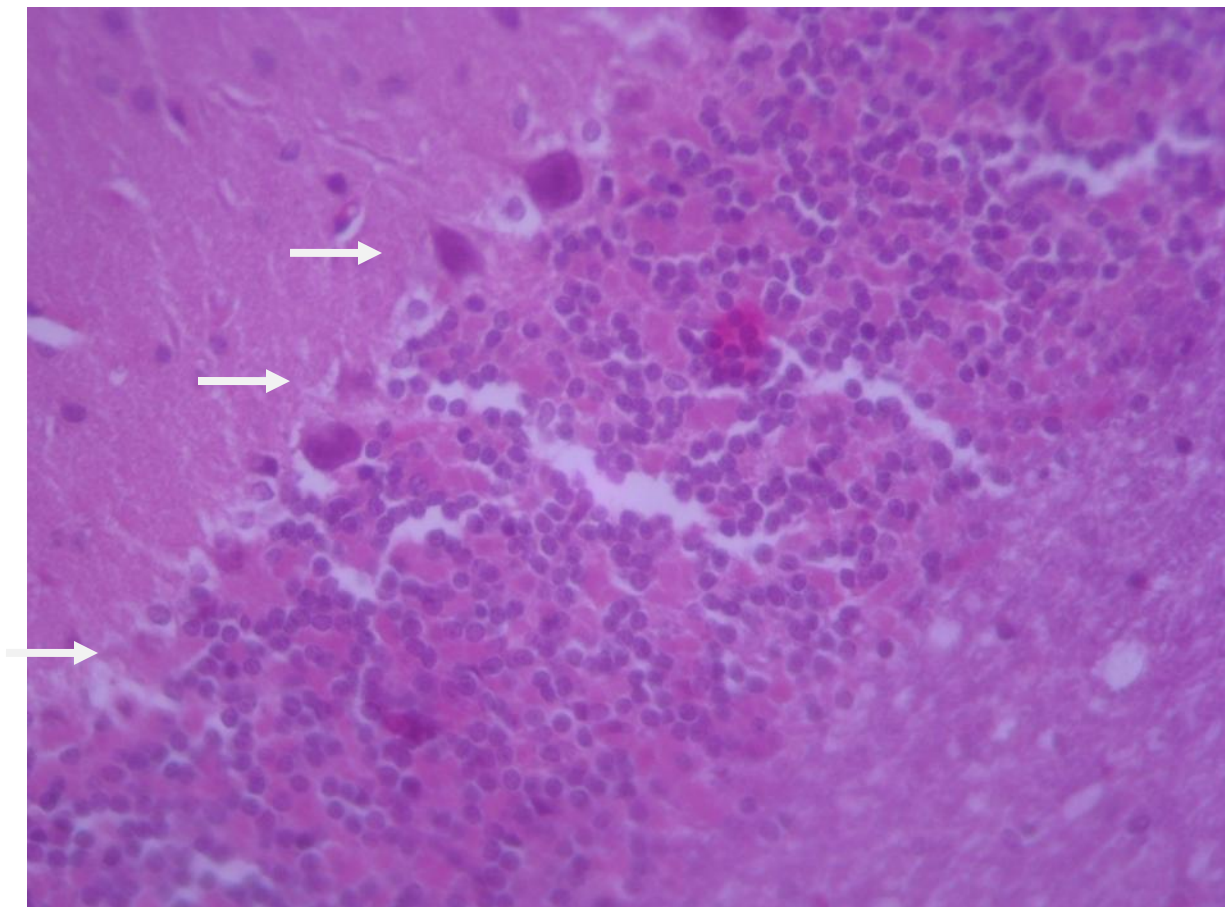
در تصاویر میکروسکوپی گروه بلند مدت نر در بافت مخچه مقداری جدا شدگی بین لایه مولکولار و پورکنز دیده می‌شود. در بزرگنمایی ۴۰ اندازه لایه گرانولار در تمامی نواحی یکسان نبوده و کم و زیاد می‌شود. در لایه میانی که



شکل ۴- مقطع بافت شناسی مخچه موش صحرایی گروه بلند مدت نر. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین $\times 100$)

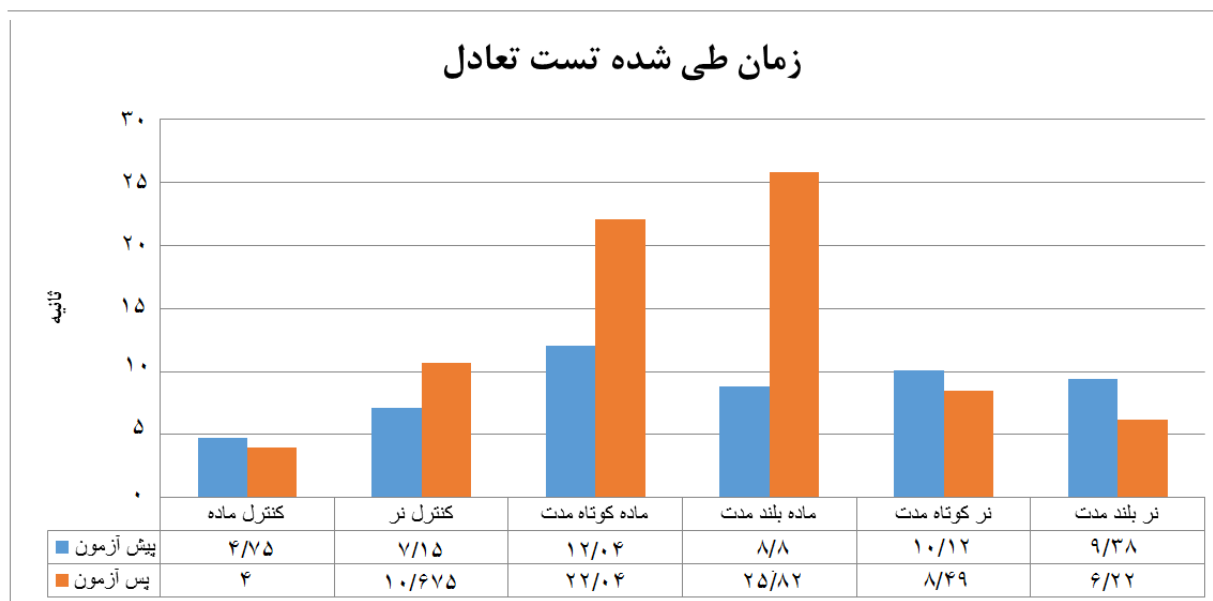
سفید) و از هم گسیخته‌گی و فواصل بین سلولی زیاد در این لایه مشاهده می‌گردد. در بزرگنمایی $\times 400$ سلول‌های پورکنژ در برخی نواحی دیده نمی‌شوند و در برخی نواحی نیز به شکل گرد و کوچک و پر رنگ قابل رویت هستند (شکل ۵).

در تصاویر میکروسکوپی گروه بلند مدت ماده در بافت مخچه لایه مولکولار (فلش سیاه) بی نظم و از هم گسیخته شده است. بین لایه‌های سطحی و لایه تک سلولی و لایه گرانولار فواصل بی‌نظمی و شکاف پدید آمده است. لایه گرانولار همانند گروه قبل اندازه مشخص و یکنواختی ندارد (فلش



شکل ۵- مقطع بافت شناسی مخچه موش صحرایی گروه بلند مدت ماده. سلول‌های پورکنز (فلش سفید) (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین $\times 400$)

جهت بررسی تأثیر بیهوشی کوتاه مدت مکرر و بلندمدت
کتامین بر روی تعادل موش‌های صحرایی از آمار توصیفی و
استنباطی استفاده شد.



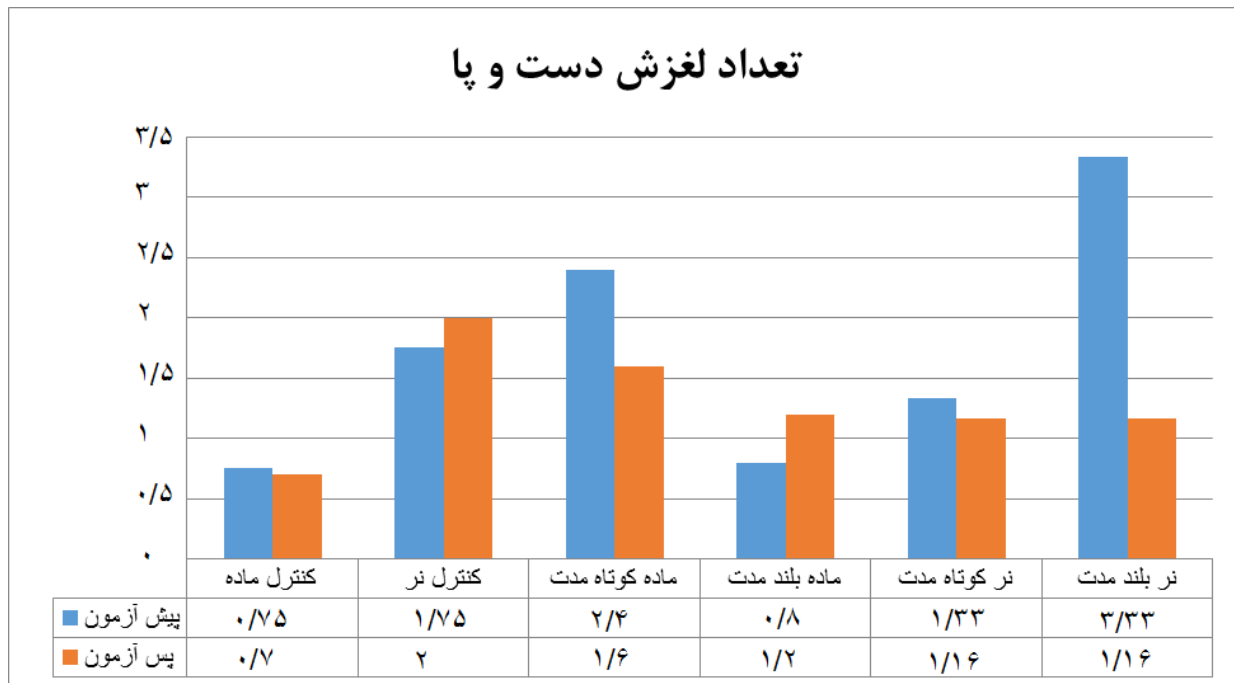
نمودار ۱- تغییرات مدت زمان طی شده توسط موش‌های صحرایی بر روی Bean Test

گروه‌های مختلف نشان نمی‌دهد. پس از تایید نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کلوموگروف-اسمیرنوف، با توجه به نتایج Anova یک طرفه در رابطه با سرعت پیمایش، اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار نیست ($P\text{-value}=0/218$) که این نتیجه فرضیه محقق که گمان می‌برد تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها از نظر مدت زمان طی شده وجود دارد را رد و فرضیه تحقیق مبنی بر وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها از نظر مدت زمان طی شده را اثبات می‌نماید.

همان طور که در نمودار ۱ مشخص است به لحاظ مدت زمانی که سپری گردیده تا هر موش صحرایی در هر گروه بتواند قبل و پس از القای بیهوشی آزمون Bean Test را انجام دهد کاملاً مشخص است که طبق نتایج ظاهراً پیش از آزمون میانگین زمان کمتری جهت طی نمودن مسیر تعادل وجود داشته و پس از انجام بیهوشی میانگین این زمان افزایش یافته است. علی‌رغم افزایش داده‌ها از نظر مدت زمان طی شده در موش‌های صحرایی در بعضی گروه‌ها، لیکن این اطلاعات از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را بین



تعداد لغزش دست و پا



نمودار ۲- تغییرات تعداد لغزش توسط موش های صحرایی بر روی Beam Test

همراه است و باعث بروز تغییرات خفیف تا متوسط در لایه‌های مولکولار، پورکنز و گرانولار می‌گردد، به گونه‌ای که در گروه کوتاه مدت نر شاهد تغییرات خفیف در لایه‌های پورکنز و گرانولر بودیم. در گروه کوتاه مدت ماده تغییرات متوسط در لایه پورکنز و تغییرات خفیف در لایه گرانولر دیده شد. در گروه بلند مدت نر تغییرات متوسط در لایه پورکنز و تغییرات خفیف در لایه گرانولر مشاهده گردید. در گروه بلند مدت ماده نیز در لایه مولکولار، پورکنز و گرانولر تغییرات خفیف رویت شد. در این راستا هیاشی^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۲ بر روی این موضوع که آیا تجویز تکراری کتامین ممکن است منجر به نورودژنره شدن در مغز در حال تکامل شود کار کردند و به این نتیجه رسیدند که تک دوز کتامین (۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم) نورودژنراسیون را در مقایسه با گروه کنترل دریافت کننده

طبق نمودار ۲ همانطور که مشهود است میانگین تعداد دفعات لغزش دست و پا در قبل و پس از القای بیهوشی با هم متفاوت است بطوریکه میانگین این تعداد در زمان قبل از القا کمتر از زمان پس از القای بیهوشی می‌باشد. با توجه به نتایج Anova یک طرفه در رابطه با تعداد لغزش موش‌های صحرایی از روی میله تعادل Beam Test اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار نبود ($P\text{-value} = 0/881$). که این نتیجه فرضیه محقق که گمان دارد تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها از نظر تعداد لغزش وجود دارد را رد و فرضیه تحقیق را که می‌گوید تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها از نظر تعداد لغزش وجود ندارد را اثبات می‌نماید.

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده از داروی کتامین با درجات مختلفی از تغییرات لایه‌های مختلف نسج مخچه‌ای در گروه‌های آزمایش در مقایسه با گروه کنترل،

Hayashi^۱



سالمین افزایش نمی‌دهد. اما دوزهای تکراری کتامین (۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم) در ۹۰ دقیقه تا ۹ ساعت نورودژنراسیون را در ۷-۱۰ ناحیه مغزی افزایش داد (۱۵). مطالعه حاضر اثر کتامین را روی بافت‌شناسی مخچه موش‌های بالغ بررسی کرد که با توجه به تغییرات خفیف تا متوسط هیستولوژیک نشان داده شده به نظر می‌رسد تا حدودی با مطالعه هیاشی توجیه شود.

در سال ۲۰۰۳ جوتویک^۱ و همکاران با مطالعه بررسی اثر مواجهه اول با عوامل بیهوشی رایج، بر نورودژنراسیون گسترده مغز در حال تکامل موش و نقص یادگیری مداوم، به موش‌های صحرایی نوزاد هفت روزه ترکیبی از داروهای رایج استفاده شده در بیهوشی کودکان (میدازولام و نیتروس اکساید و ایزوفلورانس) در دوزهای کافی برای نگهداری مرحله جراحی بیهوشی برای ۶ ساعت، تجویز و ثابت کردند که این، نورودژنراسیون آپوپتوتیک گسترده در مغز در حال تکامل، نقص‌هایی در عملکرد سیناپتیک هیپوکامپ و اختلالات یادگیری/حافظه مداوم ایجاد می‌نماید (۴). یافته‌های مطالعه حاضر در راستای نتایج مطالعه جوتویک نیست و احتمال می‌رود عدم مشاهده اثرات نورودژنراتیو در پژوهش حاضر در مقایسه با نتایج مطالعه جوتویک و همکاران به دلیل استفاده از داروهای بیهوشی متفاوت باشد.

در سال ۱۳۹۲ سلیمانی اصل و همکاران مطالعه‌ای بر روی تاثیر تجویز مزمن کتامین بر تعداد سلول‌های ناحیه هیپوکامپ موش صحرایی بالغ انجام دادند. نتایج حاکی از آن بود که تجویز کتامین در حیوان بالغ منجر به افزایش مرگ سلول‌های پیکنوزه در ناحیه CA1 هیپوکامپ شد. این موضوع نشانگر کاهش معنی‌دار سلول‌های سالم در گروه

کتامین در مقایسه با گروه کنترل بود. (۲۳). با توجه به بررسی‌های انجام شده در پژوهش حاضر مقداری پیکنوز سلولی نیز در بافت مخچه مشاهده شد که این نتایج به نحوی با مطالعه سلیمانی اصل مطابقت هیستوپاتولوژیکی نشان می‌دهد.

یافته‌های مطالعه بزرگ^۲ و همکاران بر روی اثرات ویژه ناحیه‌ای در مورد تجویز مکرر کتامین بر روی فعالیت‌های نوروشیمیایی GABA در مغز موش نشان داد که تجویز کتامین، پروتئین ترانس آمیناز GABA را در کورتکس و استریاتوم کاهش داده (به ترتیب ۵۰٪ و ۳۰٪) و با کاهش فعالیت آنزیم همراه می‌باشد. همچنین کاهش مخفی در فعالیت دهیدروژناز سمی آلدئید سوکسینیک در کورتکس، مخچه و استریاتوم مشهود بود. این یافته‌ها استفاده محدود شونده GABA را برای اهداف انرژی خواه نشان داد. به علاوه مشاهده کردند GABA سیناپتیک به میزان ۳۰٪ در پایانه‌های بصل النخاع کاهش پیدا کرده است و این کاهش با کاهش میزان Ca در القای KCL و همینطور کاهش ولتاژ L-Type که مربوط به کانال‌های کلسیمی می‌باشد همراه است. نتایج این مطالعه نشان داد تغییرات یونی در متابولیسم GABA با درمان مزمن کتامین در نواحی مجزای عملکردی مغز افزایش پیدا می‌کند که ممکن است با اثرات سایکوتیک مانند این دارو همراه باشد (۲۵).

در سال ۲۰۱۶ اولتوی^۳ و همکاران با مطالعه بر روی مواجهه مکرر با ایزوفلوران و نوروآپوپتوزیس در مغز جنین گوسفند اواسط سن حاملگی، هیچ تفاوت مشخصی در نوروآپوپتوزیس جنین‌هایی که به مدت یک ساعت در تماس

Boczek Tomasz^۲
Olutoye^۳

Jevtovic – Todorovic^۱



با ایزوفلوران ۰/۲ قرار گرفته بودند در مقایسه با جنین‌هایی که به مدت ۳ ساعت در معرض ایزوفلوران قرار گرفته بودند وجود نداشت. افزایش نوروآپوآپتوزیس در کورتکس فرونتال به دنبال تماس مکرر با ایزوفلوران ۰/۲ در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. جنین‌های ۷۰ روزه در تماس مکرر با ایزوفلوران در مقایسه با گروه کنترل مشابه، کاهش نورون‌های کورتکس فرونتال را در ۱۳۰ روزگی نشان دادند (۲۶). از آن جا که این تحقیق بر روی مغز جنین و توسط ماده بیهوشی ایزوفلوران بوده، می‌توان در نظر داشت که اثرات اندک کتامین که در مطالعه حاضر مورد توجه می‌باشد بدلیل استفاده از داروی انتخابی ممکن است اتفاق افتاده باشد.

با توجه به تست تعادل انجام شده قبل و بعد از بیهوشی بر روی تمامی موش‌های صحرایی و ثبت زمان طی مسیر کردن، تعداد لغزش و پیچش حیوانات روی میله Beam Test و تعداد دفعات مدفوع پس از آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار SPSS به این نتیجه رسیدیم که افزایش برخی داده‌ها بعد از بیهوشی نسبت به قبل از بیهوشی از لحاظ آماری معنی‌دار نیست و به عبارت دیگر بیهوشی در هیچ گروهی تأثیری بر روی تعادل نداشته است. این نتیجه با یافته‌های پژوهش سورز^۱ در رابطه با اثر بیهوشی عمومی و اسپینال روی کنترل بالانس در بیماران بالای ۶۵ سال بود همخوانی دارد. سورز و همکارانش دریافتند که در افرادی که از قبل دارای اختلالات بطنی مغز بودند، کنترل تعادل بعد از بیهوشی عمومی بدتر شد و بعد از بیهوشی اسپینال تغییری نکرد اما در افراد سالم بعد از بیهوشی عمومی و اسپینال هیچ تغییری در کنترل تعادل وجود نداشت (۲۰).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان می‌دهد که داروی بیهوشی کتامین اثرات خفیفی به لحاظ هیستوپاتولوژیک بر روی بافت مخچه و تغییرات رفتاری در حالت حیوان آزمایشگاهی داشته است که این تغییرات در بین گروه‌های بیهوشی کوتاه مدت مکرر با دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم و بلند مدت با دوز ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری را از خود نشان ندادند.

با توجه به اینکه در تحقیق حاضر از دو دوز متفاوت استفاده شده است پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی تعداد دوزهای بیشتری همراه با مطالعات مقایسه‌ای با سایر داروهای بیهوشی استفاده گردد.

^۱ Suárez

References

1. Shahri S. The effect of frequent anesthesia with Ketamine on seizure by PTZ in neonate period and response to pain in puberty in rat [dissertation]. Basic sciences school: Ferdowsi University of Mashhad; 2011,73.
2. Miller RD, Pardo M. Basics of anesthesia. 6th ed. Saunders: 2011.
3. Bijker JB, van Klei WA, Kappen TH, van Wolfswinkel L, Moons KG, Kalkman CJ. Incidence of intraoperative hypotension as a function of the chosen definition: literature definitions applied to a retrospective cohort using automated data collection. *Anesthesiology* 2007;107(2):213-20.
4. Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y, Benshoff ND, Dikranian K, Zorumski CF, *et al.* Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. *J Neurosci* 2003;23(3):876-82.
5. Annetta MG, Iemma D, Garisto C, Tafani C, Proietti R. Ketamin: new indication for an old drug. *Curr Drug Targets* 2005;6(7):789-94.
6. Granry JC, Dube L, Turroques H, Conreux F. Ketamine: new uses for an old drug. *Curr Opin Anaesthesiol* 2000;13(3):299-302.
7. Ivani G, Vercellino C, Tonnetti F. Ketamin: a new look to an old drug. *Minerva Anesthesiol* 2003;69(5):468-71.
8. Stanley FM. Sedation. 8th ed. Philadelphia: Mosby/ Elsevier 2014 p.50-60.
9. Clark WC, Chokhavatia SS, Kashani A, Clark SB. Chapter 6 - Pain Measurement. In: Argoff CE, McClean G, editors. *Pain Management Secrets*. 3rd ed. Philadelphia: Mosby; 2009. p.42-52.
10. Ducharme J. Acute pain and pain control: State of the art. *Ann Emerg Med* 2000;35(6):592-603.
11. Ikonomidou C, Bosch F, Miksa M, Bittigau P, Vockler J, Dikranian K, *et al.* Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Science* 1999;283(5398):70-4.
12. Haberny KA, Paule MG, Scallet AC, Sistare FD, Lester DS, Hanig JP, *et al.* Ontogeny of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor system and susceptibility to neurotoxicity. *Toxicol Sci* 2002;68(1):9-17.
13. Duman RS, Li N, Liu RJ, Duric V, Aghajanian G. Signaling pathways underlying the rapid antidepressant actions of ketamine. *Neuropharmacology* 2012;62(1):35-41.
14. Wai MS¹, Luan P, Jiang Y, Chan WM, Tsui TY, Tang HC, *et al.* Long term Ketamine and Ketamine plus alcohol toxicity: What can we learn from animal models?. *Mini Rev Med Chem* 2013;13(2):273-9.
15. Hayashi H, Dikkes P, Soriano SG. Repeated administration of ketamine may lead to neuronal degeneration in the developing rat brain. *Paediatr Anaesth* 2002;12(9):770-4.
16. Greene SA. Chronic pain: pathophysiology and treatment implications. *Top Companion Anim Med* 2010;25(1):5-9.
17. Mescher AL. Junqueira's basic hisyology. 13th ed. 2013.
18. Hall, John E. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 13th edition. Philadelphia, PA: Elsevier, 2016
19. Gray H. Henry Gray's Anatomy of the Human Body 2013;3th ed.

20. Suárez A, Macadar O. The effect of general and spinal anesttesia on balance control in elderly patients. *Int Tinnitus J* 2008;14(2):146-51.
21. Moazedy AA, Mojadam S, Parham Gh.A. The effect of oral and central administration of ALCL3 on movement and coordination in adult male rat. *Journal of Animal Researches* 2014;26(4):460-7.
22. Karambakhsh A/ Noori Mogehe SMH/ Hasanzade GR/Takzaree N. Excitatoryandinhibitory effects of nitric oxide on weight/size/ and histological changes of rat cerebellum. *Tehran Univ Med J* 2013;70(10):595-600.
23. Soleymani asl S, Aghaei O, Shekarriz N, Molavi N, Mehdizade M. Effects of chronic treatment of Ketamin on hippocampus cell count of adult rats. *Horizon Med Sci* 2013;19(1):35-9.
24. Ordek G, Groth JD, Sahin M. Differential effects of ketamine/xylazine anesthesia on the cerebral and cerebellar cortical activities in the rat. *J Neurophysiol* 2013;109(5):1435-43.
25. Boczek T, Lisek M, Ferenc B, Wiktorska M, Ivchevska I, Zylinska L. Region-specific effects of repeated Ketamine administration on the presynaptic GABAergic neurochemistry in rat brain. *Neurochem Int* 2015;91:13-25.
26. Olutoye OA, Sheikh F, Zamora IJ, Yu L, Akinkuotu AC, Adesina AM, *et al.* Repeated isoflurane and neuroapoptosis in the midgestation fetal sheep brain. *Am J Obstet Gynecol* 2016;214(4):542.