



Research Article

The Effect of Ketamine Anesthesia on Balance Behavior and Histopathological Changes of the Cerebellum in Rat Neonates

Behrooz Yahyaei^{1,2*} , Leila Khojasteh¹ , Yasaman Janbazi Alamdari³ 

¹ Assistant Professor, Department of Medical Sciences, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran

² Assistant Professor, Department of Medical Sciences, Biological Nanoparticles in Medicine Research Center, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran

³ MD Student, Department of Medical Sciences, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran

*Corresponding author: Behrooz Yahyaei, Department of Medical Sciences, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran. E-mail: behroozyahyaei@yahoo.com

DOI: [10.32592/nkums.15.1.52](https://doi.org/10.32592/nkums.15.1.52)

How to Cite this Article:

Yahyaei B, Khojasteh L, Janbazi Alamdari Y. The Effect of Ketamine Anesthesia on Balance Behavior and Histopathological Changes of the Cerebellum in Rat Neonates. *J North Khorasan Univ Med Sci.* 2023;15(1):52-59. DOI: [10.32592/nkums.15.1.52](https://doi.org/10.32592/nkums.15.1.52)

Received: 22 September 2021

Accepted: 01 February 2023

Keywords:

Balance

Cerebellum

Histopathological changes

Ketamin

Neonatal Rats

Abstract

Introduction: Ketamine is a popular drug for use in various populations, including pregnant women. Of note, the high prevalence of ketamine use may cause disorders, especially in the nervous system. This study aimed to investigate the effect of repeated short-term and long-term anesthesia with ketamine on balance behavior and cerebellar tissue changes in neonatal rats.

Method: In total, 15 female and 3 male rats were prepared and then randomly divided into 3 groups of 5 including control, long-term, as well as short-term and repeated anesthesia with ketamine. Pregnant female rats in the group of long-term anesthesia with ketamine were anesthetized once a week (at a dose of 75 mg/kg), and those in the groups of short-term and repeated anesthesia with ketamine were anesthetized 3 times a week (at a dose of 25 mg/kg). Ketamine injections were given weekly and regularly until the end of pregnancy. In order to evaluate the balance behavior of rats, a balance behavior test was conducted after lactation of all neonates of different groups. Moreover, tissue sampling was performed at the end of the whole period.

Results: Most tissue changes were related to the Purkinje layer in the long-term group. In terms of balance, there were significant differences among different groups in terms of traveling distances and the number of slips.

Conclusion: Increasing the dose of ketamine has mild effects on cerebellar tissue alongside significant effects on balance behavior.



بررسی اثر بیهوشی با کتامین بر رفتار تعادلی و تغییرات هیستوپاتولوژیک مخچه در نوزادان موش صحرایی

بهروز یحیایی^{۱*}، لایلا خجسته^۱، یاسمن جانبازی علمداری^۳

^۱ استادیار، گروه پزشکی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

^۲ استادیار، گروه پزشکی، مرکز تحقیقات نانوذرات بیولوژیک در پزشکی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

^۳ دانشجوی پزشکی، گروه پزشکی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

* نویسنده مسئول: بهروز یحیایی، گروه پزشکی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران. ایمیل:

behroozyahyaei@yahoo.com

DOI: 10.32592/nkums.15.1.52

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۳۱	چکیده
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۲	مقدمه: کتامین داروی پرمصرف بیهوشی در جمعیت‌های مختلف، از جمله زنان باردار است و مصرف زیاد آن عامل بروز اختلال، مخصوصاً در سیستم عصبی است. هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر بیهوشی کوتاه‌مدت مکرر و بلندمدت کتامین بر رفتار تعادلی و تغییرات بافت مخچه در نوزادان موش صحرایی بود.
واژگان کلیدی:	روش کار: ۱۵ سر موش صحرایی ماده و ۳ سر موش صحرایی نر تهیه شد. سپس، به صورت تصادفی به ۳ گروه ۵ تایی شامل کنترل، بیهوشی بلندمدت با کتامین و بیهوشی کوتاه‌مدت و مکرر با کتامین تقسیم شدند. موش‌های صحرایی ماده باردار در گروه بیهوشی بلندمدت با کتامین، یک‌بار در هفته با دُز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و موش‌های گروه بیهوشی کوتاه‌مدت و مکرر با کتامین، ۳ بار در هفته و هر مرتبه با دُز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش می‌شدند. تزریق کتامین به صورت هفتگی تا پایان بارداری، به طور منظم انجام شد. به منظور ارزیابی عملکرد تعادلی، آزمون رفتار تعادلی موش‌های صحرایی پس از شیردهی، در تمامی نوزادان گروه‌های مختلف انجام شد. همچنین، نمونه برداری از بافت در پایان دوره انجام شد.
تغییرات تعادلی	یافته‌ها: بیشترین تغییرات مربوط به لایه پورکنز گروه دُز بلندمدت بود. از نظر تعادل نیز تغییرات معناداری بین گروه‌های مختلف با یکدیگر در زمان طی کردن مسافت‌ها و نیز، تعداد لغزش‌های ایجاد شده وجود داشت.
تغییرات هیستوپاتولوژیک کتامین مخچه نوزاد موش صحرایی	نتیجه‌گیری: افزایش دُز کتامین، اثرات خفیفی بر بافت مخچه و تأثیرات قابل توجهی بر تعادل دارد.

مقدمه

بیهوشی عمومی مرگ برنامه‌ریزی شده‌ای را در سلول‌های نورونی در سراسر ساختارهای مغز در نوزادان موش صحرایی القا می‌کند. مکانیسم عمومی این پدیده به طور کامل شفاف نیست، با این وجود، مهار فعالیت سیناپس‌ها در دوره سیناپس‌زایی منجر به کاهش راه‌اندازی انتقال پیام رشد سلول عصبی می‌شود و مرگ سلولی آپوپتیک را القا می‌کند. داروهای بیهوشی از جمله کتامین در مغز نوزادان موش صحرایی، تحلیل نورونی را القا می‌کنند [۱]. کتامین مشتق فن سیکلیدین و تا حدودی محلول در آب و بسیار محلول در چربی است. این دارو در سال ۱۹۶۵ میلادی، برای مصارف بالینی معرفی شد و به خاطر اثر ضددرد قابل توجه، از بیشتر هوشبرهای داخل وریدی دیگر متفاوت است [۲]. به‌طور کلی، بیهوشی عمومی، نوعی کمای القاشده مطابق قاعده طبیی و از دست دادن رفلکس‌های محافظتی در نتیجه تجویز یک یا تعداد بیشتری عامل بیهوشی است [۳]. همه عوامل بیهوشی معمولاً هر یک از دو خاصیت بلوک‌کننده گیرنده (N-Methyl-D-aspartate) یا

افزایش‌دهنده گیرنده (Gamma-aminobutyric acid) را دارند [۴]. کتامین یک داروی محبوب برای سوءمصرف به دلیل ایجاد بی‌دردی، سرخوشی و توهم‌زایی در جمعیت‌های مختلف از جمله زنان باردار در غرب و جنوب آسیا است [۵-۷]. تزریق داخل وریدی کتامین به مادران سالم بلافاصله قبل از زایمان، منجر به افزایش میزان آن در خون بندناف نوزاد به میزان ۱ دقیقه و ۳۷ ثانیه بعد، به اندازه موجود در خون وریدی مادر می‌شود [۸]. کتامین از طریق جفت وارد بدن جنین می‌شود و از آنجاکه مغز جنین هنوز در مرحله پیشرفت است، ممکن است تأثیر زیادی روی جنین داشته باشد [۹]. مطالعات نشان می‌دهند اثرات کتامین وابسته به دُز است، به طوری که، در غلظت‌های کم سرمی، اثرات ضددردی آن ظاهر می‌شود و در غلظت‌های بیشتر، اثرات بیهوشی آن مشاهده خواهد شد [۱۰، ۱۱]. یافته‌های اخیر نیز نشان می‌دهند که تجویز این دارو در طول دوران سیناپتوژنز، منجر به آپوپتوز نورونی گسترده در مغز موش‌های صحرایی نابالغ می‌شود [۱۲]. نورودژنراسیون

نمونه‌گیری تصادفی برای انجام تست تعادل و نمونه‌گیری بافتی انتخاب شدند (در مجموع، ۳۰ نوزاد موش صحرایی که در سه گروه تقسیم شده بودند).

در تمام طول بارداری، به‌منظور تنظیم دُز کتامین، به‌صورت مرتب وزن‌کشی انجام شد و قبل از آخرین تزریق، میانگین وزن گروه کنترل و کوتاه‌مدت به ۱۷۵ گرم و گروه بلندمدت به ۱۸۷ گرم رسید. حیوانات در گروه‌های بررسی‌شده، در قفس‌های استاندارد مخصوص از جنس پی‌وی‌سی، هر قفس ۲ موش صحرایی، با درپوش توری فلزی که کف آن‌ها با تراشه‌های تمیز چوب پوشانده شده بود، نگهداری شدند. طی دوره آزمایش، از خوراک مخصوص و فشرده جوندگان (۲۵ گرم به‌ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن) و آب سالم شهری (روزانه ۵۰ میلی‌لیتر) در ظرف آب‌خوری از جنس پی‌وی‌سی برای تغذیه موش‌ها استفاده شد. شرایط نگهداری طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری، میزان رطوبت محیط ۴۰ تا ۶۰ درصد و دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود.

موش‌های صحرایی ماده باردار در گروه تک‌دُزی، یک‌بار در هفته با دُز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و موش‌های صحرایی ماده باردار در گروه دُزهای مکرر، ۳ بار در هفته و هر مرتبه با دُز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند. تزریق کتامین از یک هفته قبل از شروع بارداری به‌منظور یکسان‌سازی دُزهای دریافتی، تا یک هفته پس از اتمام بارداری به‌صورت درون صفاقی، هفتگی و منظم انجام شد [۲۱].

مطالعات رفتاری

به‌منظور بررسی عملکرد رفتار تعادلی نوزادان موش‌های صحرایی، پس از زایمان و اتمام شیردهی در ۲۰ روزگی، از تمامی نوزادان در گروه‌های مختلف تحت آزمایش، تست رفتاری تعادل با استفاده از میله بالانس و روش Balance Beam Test گرفته شد. این روش از یک قطعه چوب با طول ۱/۵ متر و ارتفاع ۹۰ سانتی‌متر از سطح و قطر ۱ سانتی‌متر تشکیل شده است. در ابتدای مسیر، منبع آزاردهنده چراغ قرار دارد که موش‌های صحرایی هر بار از ابتدای مسیر گذاشته می‌شدند. در انتهای این قطعه چوب، محفظه تاریکی قرار داشت. مدت‌زمان ورود موش‌های صحرایی به این محفظه ثبت می‌شد. علاوه بر مدت‌زمان، تعداد دفعات لغزش از چوب تا رسیدن به محفظه و تعداد دفعات ادرار و مدفوع در کل مسیر نیز ثبت شد. برای بار اول، حیوانات به‌صورت آزمایشی و برای یادگیری، روی Beam Test قرار گرفتند. سپس، مجدد برای آزمون روی این دستگاه گذاشته شدند و تمامی معیارهای تست آن‌ها ثبت شد [۲۱].

مطالعات بافتی

در انتهای کل دوره آزمایش، به‌منظور نمونه‌گیری بافتی، موش‌های صحرایی بیهوش شدند و سپس نمونه‌گیری بافتی از آن‌ها انجام شد. تمامی موش‌های صحرایی شب قبل از قربانی شدن، به‌منظور عدم ایجاد تغییرات خونی و مرگ راحت‌تر، به‌مدت ۱۰ ساعت ناشتا بودند. ناحیه جعبه مغزی با تیغ جراحی برش داده و ساختار مخچه با قیچی و پنس

القاشده با کتامین ممکن است به‌دلیل افزایش بیان گیرنده‌های NMDA و در نتیجه تحریک سیستم گلوتاماترژیک باشد، یا اینکه متابولیت‌های کتامین باعث افزایش ترشح هیدروکوئینون سمی شده باشند [۱۳].

تزریق کتامین منجر به تغییر رفتارهای عملکردی می‌شود و تغییرات رفتاری ممکن است با افزایش دُز تراسیون عصبی در قشر پری‌تال مرتبط باشد [۱۴]. آثار کوتاه‌مدت کتامین شامل توهم، احساس انفکاک از خود و دنیای اطراف، تغییر درک و غیره است [۱۵] و سایر عوارض جانبی همانند آپنه موقت، لارنگواسپاسم و استفراغ نیز ایجاد می‌کند [۱۰، ۱۱، ۱۶].

مخچه به‌طور مداوم اطلاعات جدید را درباره توالی در نظر گرفته‌شده انقباضات عضلانی از مناطق کنترل‌کننده حرکتی مغز دریافت می‌کند. همچنین، مخچه به قشر مغز در طراحی حرکت متوالی بعدی در کسری از یک ثانیه و قبل از حرکت متوالی بعدی و درحالی‌که هنوز حرکت فعلی در حال انجام است، کمک می‌کند و بدین ترتیب، به شخص کمک می‌کند به‌آرامی از یک حرکت به سوی حرکت بعدی پیشرفت کند [۱۷].

مطالعه روی اثرات نوروتوکسیسیته کتامین در نوزاد موش‌های باردار، نشان داد که نوزادان موش‌هایی که کتامین دریافت کرده بودند، از آسیب‌های عصبی رنج خواهند برد [۱۸]. مطالعات دیگر نشان دادند که بیهوشی کتامین زایل‌ترین بیشترین فعالیت مهارتی را در کورتکس مغزی دارد [۱۹]. همچنین، نتایج پژوهشگران مشخص کرد که موش‌های باردار زمانی‌که در معرض کتامین قرار می‌گیرند، کتامین باعث از دست دادن نورون، اختلال نورون‌های پیرامیدال و کاهش تکثیر سلولی در هیپوکامپ نوزادان آن‌ها خواهد شد [۲۰].

با توجه به مصرف گسترده کتامین در جراحی و بیهوشی و نیز عوامل سوءمصرف آن که به‌طور مکرر اتفاق می‌افتد و نیز گستردگی و حساسیت وظایف مخچه به‌عنوان بخشی از سیستم عصبی مرکزی، مطالعه حاضر با هدف القای بیهوشی کوتاه‌مدت و بلندمدت با داروی کتامین در مادران موش صحرایی و بررسی اثرات آن بر رفتارهای مرتبط با تعادل و نیز تغییرات هیستوپاتولوژیک احتمالی در مخچه نوزادان آن‌ها تعریف و اجرا شد.

روش کار

جامعه آماری

برای انجام مطالعه، از ۱۵ سر موش صحرایی ماده استفاده شد. موش‌های صحرایی پس از یک هفته سازگاری با محیط، به‌صورت تصادفی به ۳ گروه ۵‌تایی شامل گروه کنترل، گروه تک‌دُز هفتگی و گروه دُز مکرر هفتگی تقسیم شدند. میانگین وزن قبل از بارداری در گروه کنترل و دُز مکرر هفتگی، ۱۲۳/۵ گرم و در گروه تک‌دُز هفتگی، ۱۱۸/۵ گرم بود. به‌منظور ایجاد بارداری در هر گروه، از یک موش صحرایی نر استفاده و بارداری پس از مشاهده پلاک واژنی تأیید شد. به‌منظور بررسی عملکرد رفتاری نوزادان موش‌های صحرایی پس از زایمان مادران، ۱۰ عدد نوزاد موش صحرایی از هر گروه به‌صورت

تعقیبی بنفرونی استفاده شد. در تمام مراحل، ضریب معنی‌داری ۰/۰۵ لحاظ شد.

یافته‌ها

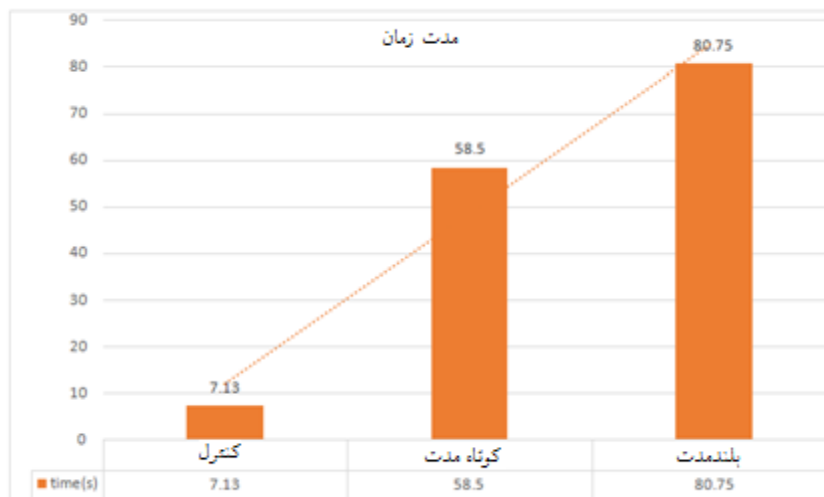
نتایج رفتاری

به‌منظور بررسی تأثیر بیهوشی کوتاه‌مدت مکرر و بلندمدت تک‌دُز کتامین بر رفتار تعادلی نوزادان موش‌های صحرایی، از آمار توصیفی و استنباطی استفاده شد. همان‌طور که در شکل ۱ دیده می‌شود، به‌نظر می‌رسد تفاوت معناداری در افزایش مدت‌زمان طی‌شده در گروه بیهوشی بلندمدت تک‌دُز و بیهوشی مکرر در مقایسه با گروه کنترل و نیز بین گروه بیهوشی بلندمدت تک‌دُز در مقایسه با گروه بیهوشی مکرر وجود دارد ($P < 0/05$). همچنین، طبق شکل ۲، تعداد لغزش‌ها در گروه کنترل در مقایسه با گروه مکرر تفاوت معناداری ندارد ($P > 0/05$)، ولی به‌نظر می‌رسد در افزایش تعداد لغزش‌ها در گروه بیهوشی بلندمدت تک‌دُز، در مقایسه با گروه مکرر تفاوت معناداری وجود دارد ($P < 0/05$).

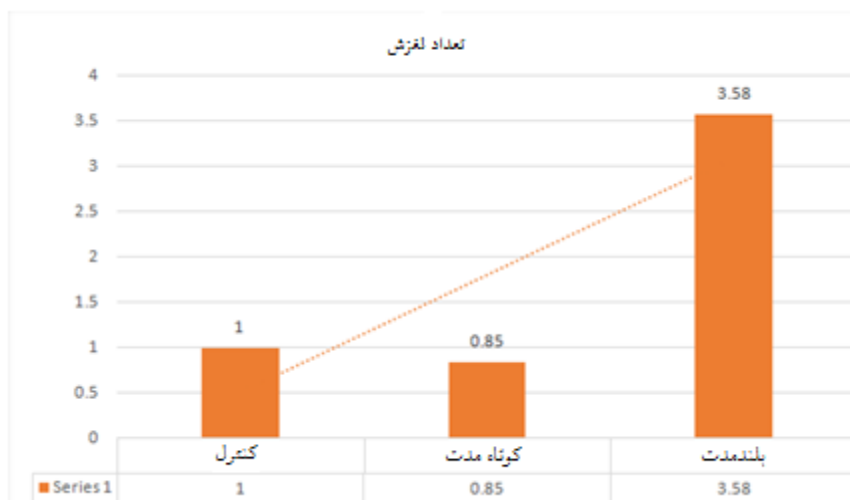
جدا و با ترازوی دیجیتال وزن شد. سپس، نمونه‌های جداشده از تمامی موش‌های صحرایی، بلافاصله درون ظروف حاوی محلول فرمالین ۱۰ درصد برای ثبوت بافت قرار داده و پس از ۲۴ ساعت، محلول فرمالین تعویض شد. سپس، نمونه گرفته‌شده به‌منظور تهیه مقطع هیستولوژیک، به آزمایشگاه بافت‌شناسی ارسال شد. نمونه‌ها با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. پس از آماده‌سازی لام‌ها، همگی مقاطع تهیه‌شده از نر متغیرهای معمول مخچه، برای بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیکی بافت و تغییرات کیفی سلولی، با استفاده از میکروسکوپ نوری المپیوس CX21 ساخت کشور ژاپن ارزیابی شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

با توجه به کیفیت و کمیت داده‌ها، نوع آمار استفاده‌شده متغیر بود. به‌طوری‌که، ابتدا از آمار توصیفی برای نشان دادن توزیع داده‌ها استفاده شد. در داده‌های پارامتریک، بعد از تعیین همگن بودن جامعه و واریانس‌ها با استفاده از آزمون کلوموگروف-اسمیرنوف (K-S)، برای تعیین اختلاف بین گروه‌ها، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون



شکل ۱. مدت‌زمان طی مسافت در گروه‌های آزمایش‌شده



شکل ۲. تعداد لغزش در گروه‌های آزمایش‌شده

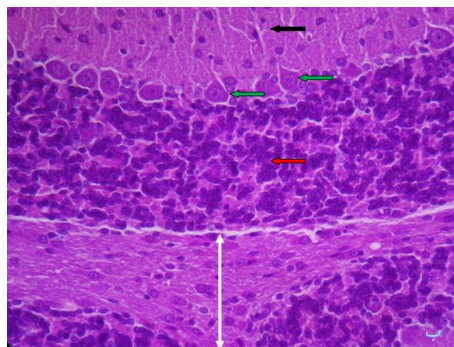
بافتی سالم و منظم در بافت مخچه گروه کنترل دیده می‌شود. مخچه آرایش درختی مشخصی دارد که ماده خاکستری آن در زیر نرم‌شامه و ماده سفید آن در زیر ماده خاکستری با ضخامت نرمال مشاهده شد. لایه‌های سازنده ماده خاکستری شامل سه لایه بود که تماماً مشخص و منظم هستند. لایه اول، لایه مولکولار است که تعداد سلول‌های موجود در این لایه، اندک است و میزان زیادی رشته عصبی دارد.

لایه میانی که تک‌لایه است و لایه پورکنژ نام دارد، تنها یک ردیف سلول بزرگ و گلابی‌شکل با جسم سلولی بزرگ و دو عدد دندریت، به‌نام سلول پورکنژ دارد. سلول‌های موجود در لایه مذکور با سایر سلول‌های مخچه از نظر مورفولوژیکی متفاوت هستند. سومین لایه موجود در ماده خاکستری که لایه گرانولار نام دارد، بیش از ۱۰ ردیف سلول‌های کوچک با هسته‌های تیره دارد که در زیر لایه گرانولار، ماده سفید قرار گرفته که فاقد اجسام سلولی نورون‌ها است و رشته‌های عصبی همراه با سلول‌های نوروگلی در آن وجود دارد.

مشخصات بافت مخچه در گروه دُز مکرر هفتگی کنامین

در مقاطع تهیه‌شده از بافت مخچه در گروه مذکور (شکل ۴)، ماده سفید و ماده خاکستری در زیر پرده نرم‌شامه با اندازه و شکل بافتی منظم همراه با ضخامت مناسب در مقایسه با گروه کنترل دیده می‌شود. اگرچه، در برخی مناطق بافت مخچه اندکی بی‌نظمی به چشم می‌خورد، محسوس نیست و مشخصات کلی بافت سالم است.

لایه سلول‌های پورکنژ تغییرات خاصی ندارند و در مقایسه با گروه کنترل، شکل و اندازه سیتوپلاسم و هسته مناسب و بدون تغییر است. در لایه مولکولار نیز هیچ‌گونه تغییرات سلولی و بافتی مشاهده نمی‌شود و مشخصات این لایه نیز در مقایسه با گروه قبل نرمال است.



با توجه به نتایج حاصل از آزمون آماری کلموگروف-اسمیرنوف (K-S)، جامعه آماری و داده‌های آن در تست تعادل، تعداد لغزش و مدت‌زمان طی‌شده توزیع نرمال دارند. یافته‌های حاصل از آزمون آنوای یک‌طرفه در رابطه با زمان طی کردن مسیر در تست تعادل نشان داد که میانگین زمان طی مسیر در گروه کنترل، ۷/۱۳ ثانیه، در گروه دریافت‌کننده دُز مکرر، ۵۸/۵۰ ثانیه و در گروه دریافت‌کننده تک‌دُز، ۸۰/۷۵ ثانیه با انحراف معیار به‌ترتیب ۲/۱۹، ۲۲/۶۷ و ۳۰/۵۴ بود. اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار است ($P < 0.05$).

همچنین، با توجه به Post Hoc Test در رابطه با زمان انجام تست تعادل بین گروه مکرر در مقایسه با گروه تک‌دُز رابطه معناداری وجود دارد. بین گروه کنترل و بیهوشی مکرر و تک‌دُز هفتگی نیز رابطه معناداری وجود دارد ($P < 0.05$).

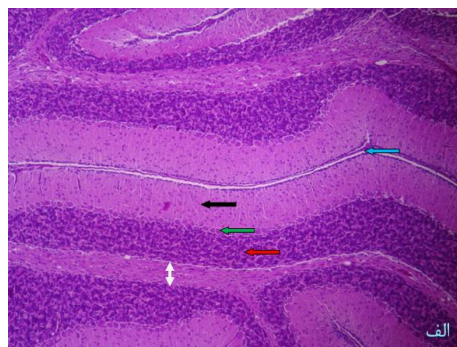
یافته‌های حاصل از آزمون آنوای یک‌طرفه در رابطه با تعداد لغزش در طی کردن مسیر در تست تعادل نشان داد که میانگین لغزش‌ها در گروه کنترل، ۱/۰۰، در گروه دریافت‌کننده دُز مکرر، ۰/۸۵ و در گروه دریافت‌کننده تک‌دُز بلندمدت، ۳/۵۸ با انحراف معیار به‌ترتیب ۰/۶۳، ۰/۴۰ و ۱/۸۸ بود. اختلاف بین گروه‌ها در این شاخص نیز معنی‌دار است ($P < 0.05$).

همچنین، Post Hoc Test در رابطه با تعداد لغزش هنگام انجام تست تعادل نشان داد که بین گروه بیهوشی مکرر در مقایسه با گروه تک‌دُز هفتگی رابطه معناداری وجود دارد ($P < 0.05$)، اما اختلاف معناداری بین گروه کنترل و بیهوشی مکرر وجود ندارد ($P > 0.05$).

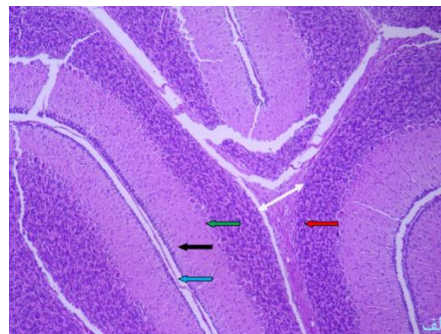
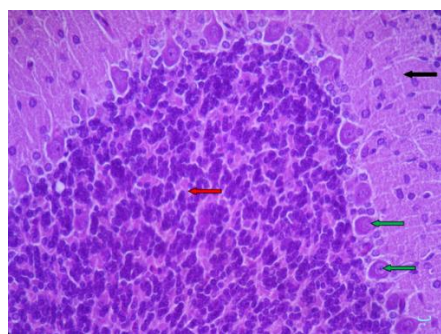
نتایج بافتی

مشخصات بافت مخچه در گروه کنترل

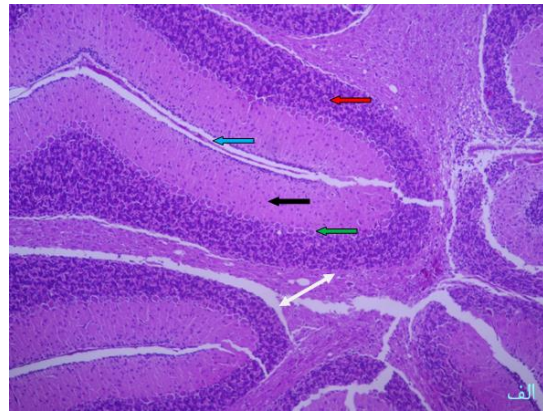
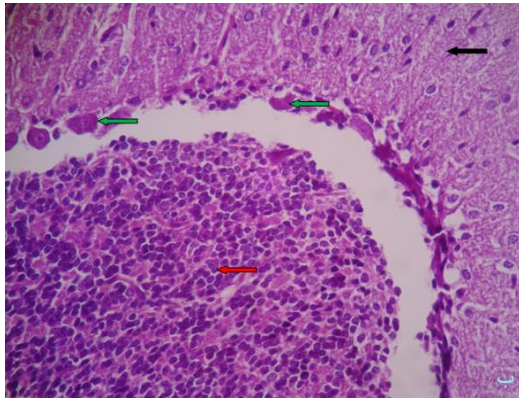
همان‌طور که در تصاویر میکروسکوپی مشخص است (شکل ۳)، ویژگی‌های



شکل ۳. مقطع بافت‌شناسی مخچه نوزاد موش صحرایی گروه کنترل (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و انوزین ۱۰۰× (الف) و ۴۰۰× (ب) نرم‌شامه (فلش آبی)، ماده سفید (فلش سفید دوطرفه)، لایه مولکولار (فلش سیاه)، لایه پورکنژ (فلش سبز) و لایه گرانولار (فلش قرمز)



شکل ۴. مقطع بافت‌شناسی مخچه نوزاد موش صحرایی گروه دُز مکرر هفتگی (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و انوزین ۱۰۰× (الف) و ۴۰۰× (ب) نرم‌شامه (فلش آبی)، ماده سفید (فلش سفید دوطرفه)، لایه مولکولار (فلش سیاه)، لایه پورکنژ (فلش سبز) و لایه گرانولار (فلش قرمز)



شکل ۵. مقطع بافت‌شناسی مخچه نوزاد موش صحرایی گروه تک‌دز هفتگی (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و انوزین ۱۰۰× (الف) و ۴۰۰× (ب) نرم‌شامه (فلش آبی)، ماده سفید (فلش سفید دوطرفه)، لایه مولکولار (فلش سیاه)، لایه پورکنز (فلش سبز) و لایه گرانولر (فلش قرمز)

مشخصات بافت مخچه در گروه تک‌دز هفتگی کتامین

در مقاطع تهیه‌شده از بافت مخچه گروه مذکور (شکل ۵)، اگرچه بافت مخچه اندکی بی‌نظمی و جداشدگی دارد، به‌طور کلی، سایر مشخصات آن نرمال است. لایه نرم‌شامه مشخص و در زیر آن لایه‌های سه‌گانه ماده خاکستری و سپس ماده سفید مشهود است. لایه مولکولار و همچنین لایه گرانولار اندازه و ضخامت طبیعی همراه با سلول‌های نرمال دارند. در برخی از نواحی و در سلول‌های پورکنز در محل تک‌لایه میانی، اندکی تغییرات سلولی همراه با افزایش رنگ سیتوپلاسم و سختی و تیره بودن هسته‌ها مشاهده می‌شود.

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده از داروی کتامین با درجات مختلفی از تغییرات لایه‌های مختلف مخچه در گروه‌های آزمایش در مقایسه با گروه کنترل همراه است و باعث بروز تغییرات خفیف تا متوسط در لایه‌های مولکولار و پورکنز می‌شود. به‌طوری‌که، در گروه مکرر، شاهد تغییرات خفیف در لایه مولکولار و در گروه تک‌دز هفتگی، شاهد تغییرات خفیف در لایه مولکولار و تغییرات متوسط در لایه پورکنز هستیم. در این راستا، Hayashi و همکاران در سال ۲۰۰۲ مطالعه‌ای درباره این موضوع انجام دادند که آیا تجویز تکراری کتامین منجر به نورودژنراتیو شدن در مغز در حال تکامل می‌شود. نتایج آن‌ها نشان داد که تک‌دز کتامین (۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نورودژنراسیون را در مقایسه با گروه کنترل دریافت‌کننده سالیین افزایش نمی‌دهد، اما دزهای تکراری کتامین (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در ۹۰ دقیقه، تا ۹ ساعت نورودژنراسیون را در ۷ تا ۱۰ ناحیه مغزی افزایش خواهد داد [۱۵]. بر این اساس، نتایج مذکور با نتایج مطالعه حاضر همخوانی کامل ندارد و میزان زیادی از سایر اختلالات را بیان کرده است.

یحيایي و همكاران در سال ۱۳۹۶، تأثیرات حاصل از بیهوشی کوتاه‌مدت و بلندمدت کتامین را بر رفتار تعادلی و تغییرات بافت‌شناسی مخچه در موش‌های صحرایی مطالعه کردند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد

که داروی بیهوشی کتامین اثرات خفیفی از نظر هیستوپاتولوژیک بر بافت مخچه و تغییرات رفتاری حیوان آزمایشگاهی داشته است که این تغییرات در بین گروه‌های بیهوشی کوتاه‌مدت مکرر با دز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و بلندمدت با دز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری از خود نشان نداد [۲۱]. که در مقایسه با نتایج مطالعه حاضر که نشان می‌دهد در گروه تک‌دز و در سلول‌های پورکنز، تغییرات سلولی ایجاد شده است، از نظر یافته‌های هیستوپاتولوژیک مشابهت دارد.

Zhang و همکاران در سال ۲۰۲۰، اثرات نوروتوکسیسته کتامین را در نوزادان موش‌های باردار، از طریق بررسی مسیر Wnt/ β -catenin مطالعه کردند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که نوزادان موش‌هایی که کتامین دریافت کرده بودند، دچار آسیب‌های عصبی شدند و در پی آن، اختلالاتی در سیستم عصبی آن‌ها ایجاد شد. با توجه به تغییرات هیستوپاتولوژیک مخچه در مطالعه ما و تغییرات نوروتوکسیسته سلول‌های هیپوکامپ در این مطالعه، می‌توان نتیجه گرفت که قرار گرفتن مغز در حال تکامل در دوران جنینی با کتامین ممکن است اثرات سوئی در سطح سلولی در بافت‌های مختلف مغز ایجاد کند. در مطالعه ما، کتامین باعث تفاوت معناداری در نتایج تست تعادل انجام‌شده روی نوزادان موش صحرایی در گروه‌های مختلف شد. در مطالعه ذکرشده نیز باعث اختلال در حافظه شناختی و تست‌های رفتاری شده است [۱۸].

سلیمانی اصل و همکاران در سال ۲۰۱۳، تأثیر تجویز مزمن کتامین را بر تعداد سلول‌های ناحیه هیپوکامپ موش صحرایی بالغ مطالعه کردند و نشان دادند که تجویز کتامین منجر به افزایش مرگ سلول‌های پیکنوزه در ناحیه CA1 هیپوکامپ می‌شود که نشانگر کاهش معنی‌دار سلول‌های سالم در گروه کتامین در مقایسه با گروه کنترل است. آن‌ها نتیجه گرفتند که به‌دنبال تجویز کتامین در حیوان بالغ، مرگ سلولی در ناحیه CA1 هیپوکامپ رخ خواهد داد. با توجه به بررسی‌های انجام‌شده در تحقیق ما نیز مقداری پیکنوز سلولی در بافت مخچه مشاهده شد که تا حدودی با مطالعه سلیمانی اصل و همکاران [۲۲]

همخوانی دارد.

بیپوشی بلندمدت، نسبت به گروه بیپوشی کوتاهمدت بیشتر بوده است. این یافته‌ها با نتایج تحقیق یحیایی و همکاران که این آزمایش را روی موش صحرایی بالغ، قبل و بعد از دریافت دُزهای مختلف کتامین انجام دادند، از نظر تعادلی همخوانی ندارد. آن‌ها دریافتند که از نظر آماری، تفاوت معناداری در رفتار تعادلی بعد از بیپوشی نسبت به قبل از بیپوشی وجود ندارد. به عبارت دیگر، بیپوشی در هیچ گروهی تأثیری در تعادل افراد بالغ نداشته است [۲۱].

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر، می‌توان بیان کرد که بیپوشی تک‌دُز، بلندمدت و مکرر کوتاهمدت با کتامین در دوران بارداری به‌علت مواجهه مغز در حال تکامل با ماده بیپوشی، ممکن است باعث تغییرات هیستوپاتولوژیک مخچه در فرزندان و اختلال در رفتار تعادلی آن‌ها شود. اگرچه در مطالعه کنونی، کتامین اثرات خفیفی بر بافت مخچه داشت، این تغییرات در بین گروه‌های کنترل، بیپوشی مکرر و تک‌دُز هفتگی رابطه معناداری را نشان نداد. با توجه به تجزیه و تحلیل آماری، به نظر می‌رسد این اثرات در رفتار تعادلی، به دُز وابسته است. به‌طوری‌که، با افزایش دُز، اختلال در رفتار تعادلی نیز افزایش یافت. همچنین، اختلاف زمان و تعداد لغزش‌ها در بین گروه‌ها معنادار بود و تفاوت بین گروه مکرر و تک‌دُز هفتگی نیز معنادار گزارش شد.

سپاسگزاری

این مطالعه با کد IR.IAU.SHAHROOD.REC.1397.031 در کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود تصویب شد.

تعارض منافع

بین نویسندگان مقاله هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

References

- Brambrink AM, Evers AS, Avidan MS, Farber NB, Smith DJ, Martin LD, et al. Ketamine-induced neuroapoptosis in the fetal and neonatal rhesus macaque brain. *Anesthesiology*. 2012; **116**(2):372-384. DOI: 10.1097/ALN.0b013e318242b2cd PMID: 22222480
- Miller RD, Pardo M. Basics of anesthesia e-book. Elsevier Health Sciences; 2011.
- Schneider G, Kochs EF. The search for structures and mechanisms controlling anesthesia-induced unconsciousness. *Anesthesiology*. 2007; **107**(2):195-198. DOI: 10.1097/01.anes.0000271869.27956.d1 PMID: 17667560
- Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y, Benschhoff 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):876-882. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.23-03-00876.2003 PMID: 12574416
- Bokor G, Anderson PD. Ketamine: an update on its abuse. *J Pharm Pract*. 2014; **27**(6):582-586. DOI: 10.1177/0897190014525754 PMID: 24651639
- Degenhardt L, Dunn M. The epidemiology of GHB and Ketamine use in an Australian household survey. *Int J Drug policy*. 2008; **19**(4):311-316. DOI: 10.1016/j.drugpo.2007.08.007 PMID: 17920826
- Dargan PI, Wood DM. Recreational drug use in the Asia Pacific region: improvement in our understanding of the problem through the UNODC programmers. *J Med Toxicol*. 2012; **8**(3):295-299. DOI: 10.1007/s13181-012-0240-4 PMID: 22569822
- Ellingson A, Haram K, Solheim E. Transplacental passage of ketamine after intravenous administration. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1977; **21**(1):41-44. DOI: 10.1111/j.1399-6576.1977.tb01191.x PMID: 842268
- Wang SQ, Fang F, Xue ZG, Cang J, Zhang XG. Neonatal sevoflurane anesthesia induces long-term memory impairment and decreases hippocampal PSD-95 expression without neuronal loss. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013; **17**(7):941-950. PMID: 23640442
- Annetta MG, Iemma D, Garisto C, Tafani C, Proietti R. Ketamine: new indication for an old drug. *Curr Drug Targets*. 2005; **6**(7):789-794. DOI: 10.2174/138945005774574533 PMID: 16305457
- Miner JR, Burton J. Pain Management. In; Marx Ja, editor. Rosen's Emergency Medicine: Concepts and Clinical Practice. 8th ed. Philadelphia: MOSBY, ELSEVIER; 2014.

12. Duman RS, Li N, Liu RJ, Duric V, Aghajanian G. Signaling pathways underlying the rapid antidepressant action of ketamine. *Neuropharmacology*. 2012;**62**(1):35-41. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2011.08.044 PMID: 21907221
13. Wai MS, Luan P, Jiang Y, Chan WM, Therese YM, Tsui TY, et al. Long term ketamine and ketamine plus alcohol toxicity: What can we learn from animal models? *Mini Rev Med Chem*. 2013;**13**(2):273-279. DOI: 10.2174/1389557511313020009 PMID: 22512581
14. Fredriksson A, Archer T, Alm H, Gordh T, Eriksson P. Neurofunctional deficits and potentiated apoptosis by neonatal NMDA antagonist administration. *Behav Brain Res*. 2004;**153**(2):367-376. DOI: 10.1016/j.bbr.2003.12.026 PMID: 15265631
15. Morgan CJ, Curran HV. Independent scientific committee on drugs. ketamine use: a review. *Addiction*. 2012;**107**(1):27-38. DOI: 10.1111/j.1360-0443.2011.03576.x PMID: 21777321
16. Ivani G, Vercellino C, Tonnetti F. Ketamin: a new look to an old drug. *Minerva Anestesiol*. 2003;**69**(5):468-471. PMID: 12768186
17. Guyton AC, Hall JE. Medical physiology. 13th ed. Elsevier Publication; 2015.
18. Xintong Z, Jinghua Z, Tian C, Qi W, Wonhan L, Li G. Ketamine exerts neurotoxic effects on the offspring of pregnant rats via the Wnt/ β -catenin pathway. *Environ Sci Pollut Res*. 2020;**27**(1):305-314. DOI: 10.1007/s11356-019-06753-z PMID: 31786764
19. Ordek G, Groth JD, Sahin M. Differential effects of ketamin/xylazin anesthesia on the cerebral and cerebellar cortical activities in the rat. *J Neurophysiol*. 2013;**109**(5):1435-1443. DOI: 10.1152/jn.00455.2012 PMID: 23236007
20. Zhao T, Li C, Wei W, Zhang H, Ma D, Song X, et al. Prenatal ketamine exposure causes abnormal development of prefrontal cortex in rat. *Sci Rep*. 2016;**6**(1):26865. DOI: 10.1038/srep26865 PMID: 27226073
21. Yahyaei B, Khojasteh L, Saeedmehr M. The effects of ketamine on balance behavior and histology changes of cerebellum in short- and long- term anesthesia in rats. *J Neyshabur Univ Med Sci*. 2018;**6**(1):53-69.
22. Soleymani Asl S, Aghaei O, Shekarriz N, Molavi N, Mehdizadeh M. Effects of chronic treatment of ketamin on hippocampus cell count of adult rats. *Intern Med Today*. 2013;**19**(1):35-39.
23. Li X, Guo C, Li Y, Li L, Wang Y, Zhang Y, et al. Ketamin administered pregnant rats impair learning and memory in offspring via the CREB pathway. *Oncotarget*. 2017;**8**(20):32433-32449. DOI: 10.18632/oncotarget.15405 PMID: 28430606
24. Liu F, Paule MG, Ali S, Wang C. Ketamine-induced neurotoxicity and changes in gene expression in the developing rat brain. *Curr Neuropharmacol*. 2011;**9**(1):256-261. DOI: 10.2174/157015911795017155 PMID: 21886601