

## تأثیر تجویز مورفین بر رشد عصبی نوزادان

**چکیده:** مدیریت پزشکی نوزادان تازه متولد شده اغلب به روش های تکراری دردناک نیاز دارد که می توانند مسیر گیرنده های درد را در طول یک دوره رشد و نمو حیاتی تغییر دهد و به طور معکوس بر نتایج فیزیولوژی عصبی اثر بگذارد. کاهش اثرات محرک های دردناک تکراری، مدیریت مواد مخدر برای آرام بخشی کاهش درد و ICU (بخش مراقبت های ویژه) در NICU (بخش مراقبت های ویژه نوزادان) معمول است. مجموعه در حال رشدی از شواهد اولیه و حیوانی، آسیب طولانی مدت بالقوه با درمان مواد مخدر برای نوزادان را نشان می دهد. مورفین، آپوپتوز را در سلول های میکروگلیایی انسان افزایش می دهد و مطالعات حیوانی، تغییرات بلند مدت در رفتار، عملکرد مغز، حافظه و شناخت فضایی پس از مواجهه با مورفین را نشان می دهند. این بررسی جامع به بازنگری شواهد بالینی و پیش بالینی موجود در مورد اثرات طولانی مدت درد نوزادان و درمان مواد مخدر می پردازد.

**کلمات کلیدی:** نوزاد، درد؛ رشد، سمیت عصبی، مورفین

### 1. مقدمه

مراقبت شدید از نوزادان تازه متولد شده بیمار و نارس شامل درمان های دردناک متعدد می شود. در طی دو هفته اول پذیرش در NICU (بخش مراقبت ویژه نوزادان)، نوزادان، میانگین 14 روزه دردناک را در هر روز تجربه می کنند که اکثریت آنها در طی چند روز اول زندگیشان رخ می دهد [1]. در پرتوی مجموعه در حال رشد از شواهد برجسته کننده تأثیر مخرب درد نوزادی درمان نشده در طی یک دوره بحرانی در رشد نورولوژیک، مدیریت این عدم راحتی نوزاد به یک اولویت بالینی تبدیل می شود.

مدیریت درد نوزادان اغلب شامل درمان با مواد مخدر می شود. مجموعه در حال رشدی از شواهد، آسیب طولانی مدت همراه با قرار گرفتن در معرض مواد مخدر نوزادان را نشان می دهد. مورفین، آپوپتوز (مرگ سلولی) را در هر دو سلول های انسان های میکروگلیایی [2] و عصبی مانند سلول های موش های نوزاد افزایش می دهد [3]. علاوه بر این، مطالعات حیوانی تغییرات طولانی مدت در رفتار و مغز تابع زیر دولت مرفین به موش [4] نوزادان حمایت می کنند. نشان داده شده است که قرار گرفتن در معرض مورفین دارای تاثیر قوی بر روی حافظه از نظر شناختن فضایی در موش ها است [5]. اگر چه، مطالعات یک نقش حفاظتی عصبی برای مورفین را در صورت تجویز بلافاصله قبل از درمان های دردناک نشان داده اند.

پزشکان با بسیاری از معضلات در درمان درد نوزادان روبرو هستند. مطالعات اخیر، کاهش تعداد روش های دردناک روزانه [7] انجام شده را نشان داده اند. با این حال، این کاهش ناچیز است و بسیاری از روش های دردناک هنوز هم وجود دارد. با وجود این، بسیاری از پزشکان تمایلی به مصرف مرفین ندارند زیرا آنها از عوارض عصبی مضر می ترسند و از نقش آن پس توصیه های *Bellu' s 2008 Cochrane Review* [8] مطمئن نیستند. تحت فشار قرار گرفتن پزشکان هنگام مدیریت این تعادل، همچنان یک موضوع بحث در بخش های مراقبت ویژه نوزادان در سراسر جهان است. این بازنگری جامع، نیاز به درمان ضد درد را برجسته می کند و شواهد بالینی و پیش بالینی موجود در مورد تاثیرات بلندمدت درمان نوزادان با مواد مخدر را بررسی می نماید.

## 2 شواهد مخرب از درد نوزادی

### 2.1. رشد اولیه مسیرهای درد

مراقبت های ویژه تسهیل کننده بقای نوزادان متولد شده در سنین حاملگی جوانتر اغلب مستلزم روشهای نجات بخش اما دردناک است، با این حال تاثیر توسعه طولانی مدت مواجهه تکراری با محرک های مضر در اوایل زندگی هنوز ناشناخته است. گیرنده های حسی در زندگی جنینی [9] در اوایل، با یک مسیر درد یکپارچه حاضر در بارداری 24-28 هفته [10] به نظر می رسند. هرچند، تصور می شود که نوزادان دارای آستانه های درد بالا به صورت مکانیزمی تطبیقی برای تحمل فرآیند تولد هستند [11]، این درک و تفهیم در پرتوی مطالعاتی تجدیدنظر شده

است که پاسخ شفافی به محرک های مهلک در سطح رفلکس ساقه مغز و نخاع در نوزادان پیش از متولد شدن را نشان می دهند. [12]. مطالعات اخیر که از نظارت طیف سنجی نزدیک مادون قرمز استفاده می کنند، پاسخ های قشر مغز به محرک های مضر در نوزادان با سن 25 هفته ای را نشان داده اند که نشان دهنده پاسخ درد یکپارچه در بالای سطح رفلکس-ساقه مغز است. [13]. از آنجا که این مسیرهای درد حاضر در نوزادان نارس بستری شده به طور مکرر در طول یک دوره تکاملی مهم [14] تحریک می شوند، شروع درک اثرات کوتاه مدت و بلند مدت عصب شناسی محرک های دردناک مهم است.

## 2.2 تاثیر درد نوزادی

داده های منتشر شده در مورد آثار درد نوزادی با توجه به انواع چالش های مختلف محدود می باشند. اولاً، اندازه گیری مداوم و هدفمند اثرات رویه های دردناک به کار گرفته شده مشکل است. بیشتر ابزارهای ارزیابی درد متکی بر معیارهای هدف (مثلاً ضربان سریع قلب) و سرنخ های رفتاری (مثلاً گریه کردن) هستند. علائم حیاتی از عوامل دیگر مانند مصرف دارو، دمای بدن و وضعیت حجم رگ های خونی تاثیر می پذیرند. اینکه آیا یک تغییر در علائم حیاتی مربوط به ناراحتی می شود یا به بیماری های همراه نوزاد، در یک نوزاد بدحال به سختی قابل تشخیص است. تغییرات رفتاری توسط سن و خلق و خوی پس از قاعدگی تحت تاثیر قرار می گیرند و پاسخ های رفتاری در نوزادان نارس را می توان رفع نمود کردند و نسبت به همتایان متولد شده آنها [15] به تاخیر انداخت. تعداد بسیار کمی از ابزارهای ارزیابی درد برای این سن تنظیم شده اند و هیچ یک از آنها حوادث دردناک تکراری [12] را در نظر نمی گیرند.

نوزادان نارس متولد شده در معرض خطر تاخیر تکاملی و معلولیت هستند. در حالی که نتایج عصبی ضعیف به احتمال زیاد از نظر اثرشناسی چند وجهی هستند، پتانسیل برای محرک های دردناک در اوایل زندگی در تغییر توسعه عصبی به طور کامل درک نشده است. برای دو هفته اول ورود به NICU، نوزادان، به طور میانگین 14 روز دردناک را در هر روز با اکثریت در طول چند روز اول [1] زندگی رخ تجربه می کنند. درد حاد می تواند یک پاسخ استرس را با عواقب فیزیولوژیک نامطلوب، مانند تهویه دچار اختلال، تغییرات در فشار داخل قفسه سینه و یا شریانی

و انقباض اندام های حیاتی [16،17] تسریع کند. این تغییرات حاد فیزیولوژیک می تواند به بیماری زایی خونریزی داخل بطنی یا لک سفید اطراف بطنی در نوزادان در معرض خطر [18] کمک نماید. حوادث دردناک می توانند پاسخ های رفتاری پیچیده را تا 24 ساعت پس از این رویداد تحت تاثیر قرار دهند. چرخه های خواب و بیداری تغییر یافته، تغذیه، و گریه در نوزادان پسر ختنه شده بدون بی حسی موضعی [11] مستند شده است.

درک تغییرات در پردازش حسی همراه با درد به هر دو روش ارزیابی و سن کودک [19] وابسته است. با وجود این محدودیت ها، تعدادی از مطالعات وجود داشته است که پاسخ های رفتاری افزایش یافته به روشهای دردناک بعدی را نشان می دهند، در صورتی که کودک روشهای دردناک قبلی را [13] تجربه کرده باشد. نوزادان نر کامل متولد شده که ختنه شده بودند، پاسخ های رفتاری افزایش یافته را در طول واکسیناسیون های بعدی در مقایسه با هممتایان نامختون خود [20] نشان دادند. در حالی که درمان درد با ساکارز ممکن است اثرات درد حاد در نوزادان با رخدادهای خرابی پوست مکرر را از بین ببرد، پردردی از راه دور [21] را کاهش نمی دهد. این نشان می دهد که درد در طول این دوره حیاتی از رشد ممکن است به بازسازی عصبی [12،20] منجر شود.

تغییر پاسخدهی نورونی می تواند توضیح دهد که چرا مواجهه مکرر با محرک های مضر می تواند توسعه ادراک درد را تغییر دهد، که منجر به افزایش حساسیت و درد مزمن می شود. اگر چه مسیرهای گیرنده درد یکپارچه توسط 24-28 هفته حاملگی، عمل می نمایند، سیستم های تعدیل کننده درد، نابالغ باقی می ماند [13]. برای نوزادان نارس، توسعه این مسیرهای تعدیلی همزمان با بالاترین فرکانس محرک های مضر انجام می شوند که منجر به افزایش بلند مدت حساسیت به درد [22] می شود. نواحی زخم شده روی پوست، فیبرهای توبر افزایش یافته و حساسیت شدید نوروپاتی ها را نشان می دهند که تصور می شود بر تغییرات در ستون فقرات تاثیر می گذارد، زیرا در یک مدل پیش بالینی مشخص شده است [23،24]. این حساسیت شدید ممکن است منجر به این شود که نوزادان نارس به سطوح بالاتری از بیهوشی و مسکن برای رسیدن به آرامش نسبت به هممتایان متولد شده آنها [16] نیاز داشته باشند. این افزایش حساسیت همراه با فقدان مکانیسم های مهارتی بالغ، منجر به پدیده خوف می شود که نوروپاتی ها افزایش تحریک پذیری با هر محرک دردناک را به دست می آورند. برای نوزادان دچار پدیده خوف، حتی

مراقبت معمول مانند حمام کردن و تغییر پوشک می تواند مضر باشد [25]. ناتوانی تعدیل بازیابی حدود 32 هفته پس از سن قاعدگی [26,27] کم می شود. توسعه حساسیت شدید می تواند توسط بی حسی نسبت به درد تغییر یابد: مطالعه نوزادان مبتلا به درد مزمن به علت روش های آرامش پوست مکرر روی یک پا انجام شد که نشان داد که حساسیت بالا به ضربه های بعدی پاشنه با کرم بی حس کننده موضعی [26] تقلیل می یابد. علاوه بر این، MRI های مغز (تصویربرداری با تشدید مغناطیسی) برای نوزادان نارس در معرض محرک های مکرر اندازه گیری شده توسط تعداد روش های استراحت پوست، بلوغ و رشد ممانعت شده مغز [28] را نشان داد. ارزیابی درد و ارائه بی حسی نسبت به درد برای چنین محرک های مکرر و متناوب، یک چالش برای ارزیابی باقی مانده است.

جراحی یک منبع آشکار درد برای برخی از نوزادان است و مطالعات متعددی بر چگونگی کاهش عواقب درد پس از عمل در کوتاه مدت و بلند مدت متمرکز شده اند. گرچه ارزیابی درک درد نوزادان دشوار است، مرگ و میر بعد از عمل، نقاط پایانی مفید برای کنترل موثر درد پس از عمل هستند. Anand برای اولین بار [11]، تاثیر بی حسی نسبت به درد را در مرگ و میر بعد از عمل در یک آزمایش کنترل شده تصادفی در نوزادان نارس تحت بستن مجرای شریانی نشان داد. نوزادانی که فنتانیل دریافت کردند، به طور قابل توجهی کاهش هورمون های استرس (اپی نفرین، نوراپی نفرین، گلوکاکون، آلدوسترون، کورتیکوسترون، و دیگر هورمون های استروئیدی و عوارض بعد از عمل کمتر را نشان دادند [29]. پتانسیل درد پس از عمل به منظور تثبیت پردردی یا آستانه درد تغییر یافته را می توان توسط بی دردی کافی کاهش داد: مطالعات نشان داده اند که نوزادان تحت عمل جراحی با مورفین بعد از عمل برای کاهش درد، واکنش رفتاری مشابه با واکسیناسیون همسالان خود را که هرگز تحت عمل جراحی [19] قرار نگرفته اند، نشان می دهند.

پدر و مادر نقش مهمی در کمک به ارائه دهندگان در ارزیابی درد در کودکان بزرگتر و در آن نوزادانی که به اندازه کافی برای دوری از خانه پایدار هستند، ایفا می کنند. هنگامی که پدر و مادر نوزاد نارس ذکر شده در سن اصلاح شده 18 ماه مورد نظرسنجی قرار گرفتند، آنها حساسیت کمتری به درد را از ضربه های روزمره و کبودی گزارش نمودند. یک مطالعه از پاسخ به درد در ویزیت پیگیری هشت ماهه نشان داد که با وجود اینکه نوزادان سابقاً نارس

دارای حساسیت بیش از حد به خراش سوزن هستند، آنها سریع تر از همتایان تمام رس [25] خود بهبود می یابند. جالب توجه است که پدر و مادر نوزادان سابق نارس، درد جسمانی و شکایاتی را در زمانی که کودکان در سن مدرسه هستند گزارش نمودند. به نظر می رسد این مورد با طول مرحله NICU در ارتباط است و اگر دخالت والدین و پاسخدهی کم باشد، بدتر می شود. اگرچه این تنها عامل نیست، شیوع روشهای دردناک در طول NICU ممکن است به این شکایات جسمانی بعدی [19,30] کمک کند. در این سن کودکان، به نظر نمی رسد آنها درد بیشتری را نسبت به همتایان سالم خود گزارش دهند، بلکه درد آنها به احتمال زیاد با فعالیت [19] تداخل دارد.

اگرچه مشاهده اثرات بیماری های همراه دشوار است (به عنوان مثال، تهویه مکانیکی، عفونت، قرار گرفتن در معرض استروئید)، به طور فزاینده ای مشخص است که استرس ناشی از درد می تواند تغییرات بلند مدت در مغز در حال رشد را تولید کند. تعداد افزایش یافته روش های شکستن پوست به تازگی با نمرات پایین تر در مورد شاخص های ذهنی و روانی [31] مرتبط شده است. MRI های مغزی کاربردی نوزادان نارس سابق، فعال شدن فزاینده نواحی حسی نسبت به کنترل های غیر بستری تمام مدت سابق [32] را در پاسخ به درد نشان داد. درد تجربه شده قبل از 32 هفته پس از سن مفهومی به عنوان یک عامل در اختلال رشد، و همچنین بلوغ کاهش یافته ماده سفید و خاکستری [15] شناخته شده است. استرس ناشی از درد با نازک شدن قشر مغز در هفت تا هشت سال در کودکان نارس بدون سابقه آسیب شدید مغزی در دوران نوزادی و بدون شناختی قابل توجهی، حسی، یا اختلالات حرکتی [33] مرتبط است. قسمت های تکراری از درد نیز ممکن است به آسیب عصبی مربوط به تنظیمات رفتاری غیر طبیعی در مراحل بعدی زندگی که به عنوان اختلال نقص توجه / بیش فعالی، اختلال اضطراب جدایی، و ترس [18,23] تجلی می یابد، کمک کنند. در مجموع، این نتایج عمدتاً نشاندهنده اثر عصبی-رشدی طولانی مدت مخرب درد دوران نوزادی هستند.

### **2.3 دیدگاه های توافق از پردردی و محدودیت رویه های دردناک حمایت می کنند.**

برخلاف شواهد مرتبط که درد برای نوزادان، مخرب است، مطالعات اخیر نشان داده اند که تنها یک سوم از بیماران، درمان ضد درد پیشگیرانه دریافت می کنند [1]. تعیین کمیت درد نوزادی دارای چالش های مختلف است، اما

مدیریت درد بخش مهمی از به حداکثر رساندن نتیجه نوزاد بیمار است. نوزادان می توانند درد مزمن، و حساسیتها و حتی تحریک نجیب از طریق پدیده باد کردن را توسعه دهند [34]. در سال 2001 بیانیه اجماع برای پیشگیری و مدیریت درد در نوزاد، رهنمودهایی را برای شناختن درد و همچنین پروتکل های درمان و دوز دارو برای روش های شایع نوزادان اعلام نموده است. مینیمم نمودن رویه های غالب، مشخص ترین راه برای کاهش درد نوزادی پس از درمان های غیردارویی مانند مکش غیر تغذیه ای است. اگر اینها ناموفق باشند، و مداخله یا رویه لازم باشد، استفاده محسوس از دارو های ضد درد باشد اعمال شود.

### 3. تاثیر مورفین بر آپوتوز نورونی

در حالی که شواهد حمایت کننده از فواید ضد درد برای نوزادان و شیرخواران نارس وجود دارد، مخدرها در مطالعات بالینی و پیش بالینی نشان داده اند که مرگ سلول های عصبی را تحت تاثیر قرار می دهد. آگونیست های گیرنده های مواد مخدر چندگانه در آپوتوز بررسی شده اند از جمله مورفین. تحقیق و پژوهش ها از سنجش های متعدد برای ارزیابی تاثیر مورفین بر آپوتوز در انواع متعددی از سلول ها از جمله میکروگلیا و سلول های عصبی استفاده کرده اند. به طور خاص، [2] *Hu et al.* اثر مورفین در شرایط آزمایشگاهی را بر میکروگلیای کشنده (که مانند ایمونوسیت ها، گیرنده های مخدر را بروز می دهد)، آستروسیت ها و نورون ها با استفاده از بروز 3-کاسپاس به عنوان نشانگر برای آپتوز بررسی نمودند. کاسپاس-3، که بخشی از خانواده پروتئازهای سیستمین درون سلولی است به طور مستقیم به آپتوز مرتبط می شود. میکروگلیا، نورون ها و آستروسیت ها، در معرض کنترل، با دوز کم (6-10 میل) یا دوز بالا (4-10 میل) مورفین برای پنج روز قرار گرفتند. نتایج آنها یک افزایش قابل توجه در آپوتوز میکروگلیا مورفین در معرض و سلول های عصبی از طریق یک مسیر وابسته 3-کاسپاز را نشان داد. آستروسیت این رابطه را نشان نمی دهد. آپوتوز میکروگلیای در معرض مورفین و سلول های عصبی توسط تجویز همزمان نالوکسان معکوس شدند که این استدلال که این پدیده به واسطه مخدر است را تقویت می کند.

در حالیکه [2] *Hu, et al.* اثرات مورفین بر سلول های انسانی را کاوش نمودند، بیشتر داده ها از مدل پیش بالینی تولید شده است. به عنوان مثال، اثر آپوتوز مورفین نیز در مدل موش بررسی شده است. *Boronat* و

همکاران [35] یک مطالعه از اثر مرفین بر چگالی های ایمن گیرنده Fas طرفدار آپوپتوز و ضد آپوپتوز Bcl-2 را برای مغز های موش انکوپروتئین ابداع نمودند. موش های نر به رژیم مورفین حاد (یک بار دوز) یا مزمن (سه بار در روز به مدت پنج روز در روز به مدت 13 روز، یا دو بار) تقسیم شدند. گروه های دیگر نیز با نالوکسان علاوه بر مورفین درمان شدند. بافت مغز پس از قربانی شدن حیوانات جمع آوری شد، و پروتئین های Fas و Bcl-2 با استفاده از روش بلات و رنگپذیری اندازه گیری شدند. گیرنده Fas طرفدار آپوپتوز به طور قابل توجهی تنظیم مثبت شد و گیرنده ضد آپوپتوزی Bcl-2 به طور متوسط در گروه مزمن مورفین تنظیم منفی شد. این یافته ها در موش تحت درمان مورفین حاد و درمان با نالوکسان وجود نداشت، که نشان می دهد این تنظیمات پروتئین ممکن است از طریق فعال سازی گیرنده های مواد مخدر رخ دهد.

Katebi و همکاران [36] اثرات مرفین بر پروتئین طرفدار آپوپتوز (کاسپاز 3، BAX) و ضد آپوپتوز (BCL-2) در هسته اکومبسنس (NAC) و قشر جلوی مغز موش صحرائی را بررسی نمودند. آنها موش خود را با مورفین سه بار در روز به مدت پنج روز با غلظت های مختلف دوز بندی تزریق نمودند: 0.5 میلی گرم / کیلوگرم، 5 میلی گرم / کیلوگرم، و یا 10 میلی گرم / کیلوگرم. پروتئین های آپوپتوتیک از این مناطق تشریحی با استفاده از پلی پپتید مصون-واکنشی شناسایی شدند و توسط روش Western blot اندازه گیری شدند. نسبت Bax / Bcl-2 در مقایسه با گروه شاهد در تمام دوز مورفین، و به صورت وابسته به دوز معکوس در هسته اکومبسنس افزایش یافت. علاوه بر این، سطح کاسپاز 3 شکاف یافته در NAC به طور قابل توجهی در گروه تحت درمان با 0.5 میلی گرم / کیلوگرم مورفین افزایش یافت. این داده ها به واسطه چگالی های پروتئین آپتوزیس نشان می دهند که مورفین تجویز شده در دوزهای مختلف در طی چندین روز موجب افزایش پروتئین درگیر در آپتوز در قشر جلوی مغزی و NAC می شود.

با توجه به مطالعات فوق، می توان نتیجه گرفت که برخی از شواهد وجود دارند که نشان می دهند که مرفین موجب تغییر بیان پروتئین آپوپتوز در مناطق مختلف از هر دو بافت مغز انسان و موش می شود. با این حال، باید توجه داشت که در تمام این مدل های حیوانی، مورفین در غیاب محرک مضر تجویز شد که یک مدل ناقص بی دردی را



در NICU فراهم می کند و نمی تواند اثرات نامطلوب تجویز مواد مخدر در برابر اثرات نامطلوب درد را ارزیابی نماید. برون یابی داده ها از مدل های پیش بالینی تا نوزادان انسان نیز توسط سن بلوغ حیوانات، و همچنین دوزهای بالای مورفین استفاده شده پیچیده می شود. مغزهای حیوان بالغ به احتمال زیاد انعطاف پذیری و بازیابی کمتر را نشان می دهد در حالی که دوزهای زیاد مورفین ممکن است به آسیب های اضافی توسط عوامل دیگر مانند افت فشار خون و کاهش حجم هوای تنفسی منجر شود. در قلمروی بیهوشی اطفال، درک زمینه بالینی، منافع، و عوارض جانبی بالقوه تمام داروهای تجویز شده از اهمیت حیاتی برخوردار است. اگر چه این داده ها به طور مستقیم آپوپتوز نورونی در کودکان انسان را در مجاورت مخدرها آزمایش نمی کنند، آنها حداقل اشاره تحقیقات بیشتر برای دخالت مسیرهای سیگنالینگ مخدرها با اضافه نمودن به مسیرهای درد نشان می دهند.

#### 4. تاثیر حفاظت-عصبی ضد درد

مطالعات مدل های موش و جنین انسان بحث شده در بالا نشان داد که مواد مخدر سمی می توانند رشد را مهار کنند، موجب ترویج آپوپتوز شوند و بازسازی سلول های گلیایی را مختل سازند. بر اساس این مطالعات، نگرانی ها در مورد استفاده از مواد مخدر در نوزادان انسان وجود دارد. این یک معمای ویژه در ICU نوزادان است که در آن مواد مخدر برای بهبود درد و کاهش اضطراب مورد استفاده قرار می گیرند که همچنین اثرات سوء بر رشد عصبی اولیه دارند. برای ارزیابی کافی تاثیر درمان مواد مخدر بر نتایج نوزادان بیمار، یک مدل که عوارض جانبی رقابتی درمان درد و مواد مخدر را در نظر می گیرد مورد نیاز است.

به خوبی مشخص شده است که محرک های درد به پوست می رسند، موجب القای فعالسازی درد خاص می شود و پردازش درد محیطی و مرکزی در نوزادان را تغییر می دهند. درد تکراری نوزادان در موش ها، موجب تحریک عصبی و باعث افزایش مرگ سلول در مناطق مختلف قشر مغز و قشری می شود که نشان می دهد که درد ممکن است اثرات گسترده ای را در رشد مغز با انشعابات کوتاه مدت و بلند مدت داشته باشد. موش های نوزاد در معرض تزریقات دردناک تکراری، شواهد بافتی از مرگ سلول افزایش یافته مغزی را در قشر جلو و جداری نسبت به گروه درمان نشده

نشان دادند. این اثرات با افزایش شدت درد، تشدید شد: موش های نوزاد در معرض درد شدید از نوع التهاب دارای امتیازات آپوپتوز سلول-مغز و بیان تغییر یافته پروتئین های درگیر در توسعه تالاموس و قشر مغز نارس نسبت به موش های در معرض درد خفیف [37] به طور قابل توجهی بالاتر بودند بود. مطالعات قبلی اثرات شدت درد بر بیان ژن در هیپوکامپ موش نابالغ را نشان داده اند. استرس خفیف منجر به کاهش بیان ژن مربوط به تعمیر و نگهداری سلول می شود، در حالی که تنش شدید به افزایش بیان مجموعه های ژن مربوط به تکامل عصبی و التهاب و کاهش بیان مجموعه های ژن برای ترمیم سلولی منجر می شود [38]. در مجموع، این نتایج ارتباط وابسته به دوز بین شدت درد و آپوپتوز مغز را نشان می دهند.

هرچند، استرس دهنده های محیطی و درد به طور مشخص منجر به رشد نورونی تغییر یافته می شوند ارزیابی اثرات ترکیبی استرس و مواد مخدر بر توسعه نورونی پیچیده است. شواهد در حال ظهور نشان می دهند که مرفین می تواند اثرات محافظتی در برابر آپوپتوز سلول های عصبی در شرایط استرس و درد [6] داشته باشد. نشان داده شده است که قرار گرفتن در معرض مرفین نوزادان و درد تکراری، علت تغییرات رفتاری و یادگیری غیر طبیعی در موش است؛ این اثرات در هنگام ترکیب درمان درد و مرفین [39] کاهش یافت. در سطح مولکولی، نشان داده شده است که مرفین، تغییرات مربوط به استرس در بیان ژن را با محافظت سلولها در برابر آپوپتوز [40] تنظیم می نماید. مرفین، بیان اسیلون پروتئین کیناز C (PKCvarepsilon) را نیز تغییر می دهد، پروتئین درگیر در تثبیت اتصال سیناپسی و کورتین دوپل (DCX)، که در مهاجرت عصبی و تمایز در قشر [41,42] درگیر می شود. در تنظیم درد، نشان داده می شود که DCX و PKCvarepsilon به طور غیر طبیعی ظاهر می شود، که ممکن است به مرگ سلول محرک-سمی با واسطه گیرنده NMDA و تمایز نوروبلاست نابجا و مهاجرت [42-44] منجر شود. هرچند پیش درمان با مرفین قبل از مواجهه درد در موش های نوزاد به بروز کاهش یافته PKCvarepsilon و DCX منجر می شود. این مطالعات، نقش محافظت عصبی تجویز مرفین برای پیش درمان درد را نشان می دهند.

اگر چه ضد دردی پیشگیرانه، حفاظتی-عصبی به نظر می رسد، اثر تعدیلی آن شرایط خاص محدود می شود. در مدل های موش نابالغ، قرار گرفتن در معرض مرفین اثرات متفاوتی بر بیان ژن های ناحیه هیپوکامپ دارد که وابسته

به شدت استرس محیطی است. درمان استرس خفیف با مورفین به افزایش بیان مجموعه های ژن خاص مربوط به تکامل عصبی منجر شد. در مقابل، درمان استرس شدید با ژن های مورفین پایین تنظیم شده درگیر در پردازش RNA و فرآیندهای عصبی تکاملی، که می تواند به یک مکانیزم منجر شود که به واسطه آن مورفین منجر به کاهش رشد مغز می شود [38]. اثرات محافظت نوروئی بالقوه مورفین به واسطه شدت و طول مدت استرس تحت تاثیر قرار می گیرد که ارزیابی مزایای دارو-درمانی مواد مخدر طولانی مدت را برای محرک های مضر تکراری پیچیده می سازد.

بسیاری از مطالعات، اثرات مدولاتوری-عصبی مخرب مواد مخدر را نشان داده اند، اما تحقیقات بعدی نشان داده اند که مورفین ممکن است اثر حفاظتی در شرایط خاص از درد و استرس داشته باشد. بنابراین، دارو درمانی با مواد مخدر می تواند نقش مناسب در NICU داشته باشد اگر به طور مناسب برای نوزادان فردی که درد دارند تنظیم شود. هنوز مشخص نیست که چه مدت نوزادان انسان با خیال راحت می توانند در معرض مواد مخدر باقی بمانند و یا اینکه آیا مورفین دارای هر گونه عوارض عصبی قابل توجه در نوزادان انسان است یا خیر. داده های محدودی در نوزادان نارس انسان، اثرات مخرب از مواجهه انحصاری طول مدت با بی دردی را نشان می دهند.

## 5. تاثیر طولانی مدت شواهد درمان-بالینی مورفین

بدنه در حال رشدی از نوشته های بالینی در مورد نتایج رشدی-عصبی طول مدت در تجویز مورفین نوزادی وجود دارد. چندین مطالعات جدید، گروه های بزرگ را بررسی نموده اند و از معیارهای خروجی به خوبی مشخص شده استفاده نموده اند. سه مطالعه در زیر در بخش های 5.1-5.3 خلاصه شده اند.

### 5.1 یک مطالعه آزمایشی برای بی دردی مورفین انحصاری در نوزادان نارس

اثرات آن بر محیط سر، رفتار اجتماعی، و زمان شروع پاسخ در دوران کودکی [45]. این مطالعه، نتایج رشد و تکامل عصبی 14 نوزاد تحت درمان با مورفین (هشت مرد و شش زن) و پنج نوزاد تحت درمان با پلاسبو (شبه دارو) (چهار مرد و یک زن) را گزارش می کند که بخشی از دنباله NEOPAIN بودند. مطالعه NEOPAIN تاثیر مورفین پیشگیرانه برای درمان ناراحتی نوزادان نارس بین 23 و 32 هفته سن حاملگی را مورد بررسی قرار دادند که در

حدود اولین 72 ساعت از زندگی، نیاز به لوله گذاری داشتند. در مطالعه اولیه، 212 نوزاد به طور تصادفی مورفین پیشگیرانه یا دارونما را در اولین 8 ساعت لوله گذاری بعدی دریافت نمودند و برای حداکثر 14 روز [46] این کار ادامه یافت. استفاده مورفین برچسب-باز در هر دو گروه، با دستورالعمل های اضافی برای حالت فنوباربیتال، آنتاگونیست های مخدر و شل کننده های عضلانی نشان داده شده به صورت بالینی مجاز بود. میدازولام و دیگر آرام بخش ها از هر دو گروه مطالعه حذف شدند. نتایج حاصل از این زیر گروه پیگیری در زیر مشخص شده است.

پارامترهای رشد جسمانی، هیچ تفاوتی بین گروه ها در ارتفاع و یا BMI نشان نداد، اما وزن به طور قابل توجهی پایین تر (اندازه اثر 0.81) و محیط سر (اندازه اثر 2.81) در گروه در معرض مورفین دیده شد. یک توضیح احتمالی برای این کاهش معنی داری در وزن و محیط سر، تأخیر در رسیدن تغذیه روده ای کامل در مورفین در مقابل نوزادان تحت درمان با دارونما در آزمایش NEOPAIN اصلی است. قابل ذکر است که رشد اولیه در NICU بیشتر پیش بینی کننده نتایج رشدی در سن 5 سال است و نه رشد در سال های اول پس از بیرون آمدن [47].

نتایج فیزیولوژی-عصبی با استفاده از آزمون های استاندارد (آزمون Wide-Range, Stanford-Binet IQ, Achievement Test/WRAT4، و پرسشنامه پدر و مادر (چک لیست رفتاری کودک، مقیاس رفتار سازشی VINELAND، مقیاس درجه بندی رفتار جامع 'Conners') مورد بررسی قرار گرفتند. اگر چه تفاوت معنی داری بین کودکان تحت درمان مورفین و پلاسبو در امتیازات Stanford-Binet IQ و یا پیشرفت تحصیلی به صورت اندازه گیری شده توسط WRAT4 وجود نداشت، نظرسنجی های والدین، افزایش مشکلات اجتماعی در نوزادان تحت درمان با مورفین را نشان داد. مقیاس های رتبه بندی رفتار جامع 'Conners'، یک افزایش معنی دار در مسائل اجتماعی، به طور خاص در زمینه های ایجاد و حفظ روابط همسالان را نشان داد، که توسط پدر و مادر در گروه تحت درمان مورفین امتیازبندی شد. مقیاس رفتار سازشی Vineland نیز برخی از اثرات مورفین را نشان داد، اما با اهمیت محدود زیرا امتیازات تنها می توانند برای یک کودک تحت درمان با پلاسبو محاسبه شوند.

آزمون عامل نیز انجام شد، که در آن نسبت کار مترقی (PR) اندازه گیری کننده تعداد تطبیق تقویت کننده های به دست آمده و تاخیری با وظایف نمونه (DMTS) با استفاده از صفحات مطبوعات و اهرم ها برای تطبیق تصاویر و

سنجش زمان تاخیر و زمان پاسخ انجام شد. تفاوت های آماری معناداری بین دو گروه در کار روابط عمومی وجود داشت. با این حال، آزمون DMTS، اثر قابل توجهی منفی بر اتمام وظیفه را در نوزادان تحت درمان با مورفین (اندازه اثر 0.96) و دوره های عکس العمل پاسخ انتخاب افزایش یافته (انتخاب عمومی و صحیح) در گروه مورفین را نشان داد. تاخیر انتخاب غلط بین گروه های تحت درمان مورفین و دارونما متفاوت است.

این مطالعه کوچک، هیچ تفاوت در ضریب هوشی، خودکفایی، انگیزه و یا عملکرد مربوط به مدرسه بین گروه تحت درمان دارونما و مورفین را نشان داد. این نتایج با نتایج مطالعات قبل سازگار هستند که نشان می دهد که تجویز مورفین پیشگیرانه موجب IQ و یا تغییرات عملکرد دانشگاهی قابل توجه نمی شود [48،49]. با این حال، این مطالعه برخی از نگرانی ها در مورد مضرات طولانی مدت زیرکانه مصرف مواد مخدر از جمله با گزارش اجتماعی مشکلات پدر و مادر، افزایش زمان نهفتگی پاسخ، نرخ اتمام کار کمتر، وزن بدن پایین تر، و دور سر کوچکتر در گروه درمان شده با مورفین مطرح می کند.

## 5.2. مطالعه دوم

"آیا استفاده از مورفین برای نوزادان، نتایج فیزیولوژیکی-عصبی را در 8 تا 9 سالگی تحت تاثیر قرار می دهد؟" [50] یک پیگیری بلند مدت است که افراد از یک گروه از 150 نوزاد تهویه مکانیکی با سن  $\geq 3$  روز را به خود جلب می کند که به طور تصادفی مورفین مستمر (73 نفر) و دارونما (77 نفر) را با مورفین برچسب باز برای کودکان با شواهد بالینی درد [51] را دریافت نمودند. در یک مطالعه پیگیری رخ داده در 5 سال [52] قبل، تفاوت های معنی داری بین نوزادان تحت درمان مورفین (تعداد = 49) و درمان با پلاسبو (41 نفر) در ادغام بصری-حرکتی (امتیاز Beery VMI)، رفتار (چک لیست رفتار کودک تکمیل شده توسط پدر و مادر و فرم گزارش معلم تکمیل شده توسط معلم)، درد مزمن، یا کیفیت زندگی مرتبط با سلامت (شاخص سودمندی بهداشت) وجود نداشت. نمرات کلی IQ کم اما به طور قابل توجهی در گروه تحت درمان با مورفین پایین تر بود، با این حال زمانی که مدل رگرسیون برای تنظیم برای نمره تمایل و برای گنجاندن درمان مورفین برچسب باز و تهویه اولیه به عنوان متغیرهای توضیحی تجدید نظر شد.

تأثیر منفی درمان پیشگیرانه مورفین از بین رفت. در تضاد با نمرات کلی IQ، ریزآزمون تجزیه و تحلیل بصری آزمون IQ به طور قابل توجهی در گروه پیشگیرانه مورفین، حتی در مدل چند متغیره پایین تر بود.

مطالعه حاضر، همان کودکان در سن 8-9 سال را با هدف ارزیابی گسترده اثرات مورفین بر عملکرد اجرایی (پرسشنامه Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery/CANTAB، Behavior Rating Inventory of Executive Functioning/BRIEF، هوش مقیاس (Wechsler Intelligence Scale for Children III/WISC-III)، ادغام موتور بصری (Beery VMI)، و رفتار (چک لیست رفتار کودک تکمیل شده توسط پدر و مادر و فرم گزارش معلم تکمیل شده توسط معلم). CANTAB، عملکرد اجرایی را توسط به چالش کشیدن سرعت پاسخ و حرکت، ظرفیت حافظه کوتاه مدت، شناختن سریع الگوها، برنامه ریزی فضایی، درک قاعده، تنظیم جابجایی، و مهار پاسخ آزمایش نمود. پرسشنامه مختیر، تکمیل شده توسط پدر و مادر و معلمان، تنظیم رفتاری (مهار تکانه، تغییر رفتار در پاسخ به تغییر خواسته، و کنترل عاطفی) و فراشناخت (وظیفه شروع، حافظه فعال، برنامه ریزی، سازمان، و نظارت بر کار و عملکرد) را ارزیابی می کند. هوشمندی با Wechsler Intelligence Scale برای Children III (WISC-III)

(III)، ارزیابی شد که در آن IQ مقیاس کامل برآورد شده عمدتاً پیش بینی کننده IQ مقیاس کامل بعدیست. هیچ تفاوتی بین گروه های مورفین پیشگیرانه (43 نفر) و دارونما (46 نفر) در پارامترهای رشد، نمرات IQ، مهارت های علمی، ادغام بصری-حرکتی، و یا در نسبت کودکان حضور یافته در آموزش و پرورش اصلی وجود نداشت. عملکرد اجرایی به صورت اندازه گیری شده توسط CANTAB بین گروه ها متفاوت نبود، با این حال پرسشنامه های مختصر امتیازدهی شده توسط پدر و مادر نشان داد که گروه مورفین پیشگیرانه دارای نمرات بهبود یافته در تنظیم رفتاری ( $P = 0.006$ )، فراشناخت ( $P = 0.03$ )، و شاخص های ترکیبی اجرایی کلی ( $P = 0.009$ ) بود. پرسشنامه مختصر امتیازدهی شده توسط معلم، روندهای مشابهی را نسبت به بهبود عملکرد اجرایی در گروه مورفین پیشگیرانه نشان داد، اما این مورد از نظر آماری معنی دار نبود. نمرات رفتاری متناقض با گروه دارونما دارای فرزند بیشتر با

مسائل مربوط به مشخص شده توسط پرسشنامه پدر و مادر و گروه مورفین پیشگیرانه دارای فرزند بیشتر با مشکلات درونی مشخص شده توسط معلمان بودند.

عوارض جانبی همراه با مورفین گزارش شده توسط آزمایش NEOPAIN کوچک (وزن بدن پایین تر و دور سر کمتر، افزایش مشکلات اجتماعی و عملکرد اجرایی ضعیف تر به صورت نشان داده شده توسط افزایش زمان نهفتگی پاسخ و نرخ اتمام کار پایین تر) در این مطالعه بزرگ مشاهده نشد. قابل ذکر است که نرخ تزریق مورفین که این نوزادان در آن قرار گرفتند (10 میکروگرم / کیلوگرم / ساعت) پایین تر از نرخ های تزریق مورد استفاده در آزمایش NEOPAIN (در 10-30 میکروگرم / کیلوگرم / ساعت) بود. عوارض عصبی بلند مدت مربوط به درمان مورفین ممکن است وابسته به دوز باشند.

### 5.3. یک مطالعه

درد نوزادان، استرس و تعامل والدگری، در رابطه با رشد شناختی و موتور در 8 و 18 ماه در نوزادان نارس [31] اثرات تجمعی درد رویه ای و قرار گرفتن در معرض مورفین در نتیجه رشد عصبی در گروهی از 137 نوزاد بسیار نارس بررسی شد. همچنین اثرات تعدیل استرس و پدر و مادر و تعامل نوزاد با والدین در بالا مورد بررسی قرار گرفت. 74 نوزادان کامل به عنوان یک گروه کنترل استفاده شدند. نوزادان با استفاده از Bayley Scales Development II (Bayley II), Mental Development Index (MDI) و Development Index (PDI) Psychomotor در ماه 18 و / یا 18 ماه سن اصلاح شده حاملگی مورد ارزیابی قرار گرفتند. پدر و مادر با شاخص استرس والدگری (PSI) و بازی نیمه ساختار یافته تدریس مشاهده شدند و مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نمرات MDI و PDI نوزادان نارس نسبت به گروه شاهد کامل در 18 ماه، به طور قابل توجهی پایین تر بود ( $P = 0.02$ )، و پدر و مادر نوزادان نارس نمرات PSI به طور قابل توجهی بالاتر از پدر و مادران همتایان دارای نوزاد کامل در 8 ماه ( $P = 0.04$ ) و 18 ماه ( $P = 0.03$ ) داشتند. چند متغیر نوزادی (تعدادی از روش های شکستن پوست، تعداد روز های تهویه مکانیکی، سن حاملگی پایین تر و افزایش قرار گرفتن در معرض مورفین) با MDI و PDI پایین

تر همبستگی داشتند. همه موارد فوق از نظر آماری ارتباط معنی داری در هر دو 8 و 18 ماه داشتند، قرار گرفتن در معرض مرفین با PDI کمتر ارتباط داشت. اما نه در 8 ماه MDI. در 18 ماه، امتیازات سازماندهی والدین بالاتر و تحصیلات بالاتر والدین با نمرات بهتر MDI و PDI ارتباط داشت. تجزیه و تحلیل رگرسیون سلسله مراتبی کنترل کننده شدت بیماری اولیه، قرار گرفتن در معرض مرفین، و درمان دگزامتازون نشان داد که روش های شکستن پوست و روزهای بیشتر در دستگاه تنفس مصنوعی، MDI پایین تری را در 8 و 18 ماه پیش بینی می کند؛ تحصیلات بالاتر والدین، MDI بالاتر را در 18 ماه را پیش بینی نمود. تجزیه و تحلیل مشابه پیش بینی نمره PDI نشان داد که هنگام مشاهده شدت بیماری اولیه و قرار گرفتن در معرض دگزامتازون، هر دو تعداد مراحل پوست شکستن و قرار گرفتن در معرض مورفین بیشتر با نمرات PDI پایین تر همراه بود (قرار گرفتن در معرض مرفین تنها در 8 ماه قابل توجه بود)، در حالی که تعداد بیشتر کودکان در خانه با نمرات PDI بالاتر همراه بود. به طور کلی، عملکرد موتور ضعیف و شناختی با بیماری شدیدتر، رویه های درمانی دردناک تر، مدت زمان بیشتری از تهویه و قرار گرفتن در معرض بیشتر مورفین همراه بود. اگر چه این متغیرها ممکن است به عنوان جانشین صرف برای افزایش بار بیماری دیده شود، ارزش پیش بینی کننده مهم آنها در زمان مشاهده شدت بیماری اولیه نشان می دهد که قرار گرفتن در معرض روش های دردناک و قرار گرفتن در معرض مرفین ممکن است نقشی در آسیب زایی عوارض جانبی عصبی تکاملی بازی کند.

## 6. خلاصه

مدیریت درد به طور فزاینده به عنوان یک جنبه حیاتی از مراقبت از نوزادان شناخته می شود زیرا نوزادان در معرض بسیاری از مداخلات دردناک قرار می گیرند [1]. درد حاد می تواند اثرات منفی کوتاه مدت و طولانی مدت را داشته باشد از جمله پاسخ های زبان حاد فیزیولوژیک و مدولاسیون نورون ممکن منجر به پاسخ های تغییر یافته به محرک های مضر [16، 11-20، 22]. این اثرات را می توان با ارائه بی دردی کافی کاهش داد که می تواند شامل هر دو اقدامات غیر دارویی (به عنوان مثال، قنداق کردن) و دارو درمانی با مواد مخدر باشد.



با وجود مزایای بالقوه مصرف مورفین در بهبود پاسخ حاد و مزمن به محرک های دردناک تکراری در مدل های پیش بالینی [6,53]، شواهد پیش بالینی نیز وجود دارد که اثرات مضر احتمالی مصرف مورفین در نوزادان را نشان می دهد. آپوتوز در نورون های انسان و میکروگلیا، پس از قرار گرفتن در معرض مورفین اشاره شده است [2] و تغییرات رفتاری در حیوانات در معرض مورفین [4,5] خاطرنشان شده است. این مدل های پیش بالینی نگران کننده هستند، اما تنها یک مدل ناقص از محیط بالینی پیچیده ای از مراقبت های ویژه نوزادان را ارائه می دهند، زیرا حیوانات در غیاب محرک مضر و فاقد بیماری های همراه پزشکی همراه با پذیرش NICU، تحت مرفین قرار گرفتند. مطالعات بالینی متعددی تلاش کرده اند تا به بررسی تاثیر بلند مدت رشد و نمو نوزادان تحت درمان با مورفین (اطلاعات تکمیلی، جدول S1) بپردازند. جالب توجه است که این مطالعات، برخی ناهنجاری ها در فعالیت های اجتماعی و موتور خاص را برجسته نموده اند اما تغییرات قابل توجهی در IQ و یا عملکرد تحصیلی را نشان نداده اند. این مطالعات، آسیب شدید طولانی مدت را نشان ندادند. با این حال، با توجه به ماهیت پیچیده مراقبت حیاتی از نوزادان و رشد پس از آن، تعیین میزان تاثیر طولانی مدت صحیح درمان ممکن است مشکل باشد.

بر اساس شواهد موجود، روشن است که مرفین اثرات مضر شناخته شده از درد را کاهش می دهد. هیچ شواهد قانع کننده ای برای حمایت از تغییرات شدید آسیب طولانی مدت وجود دارد. استفاده مورفین باید بر اساس قضاوت بالینی ادامه یابد، و ارائه دهندگان درمان باید از بدنه در حال تحول از شواهد آگاه باقی بمانند. در همین حال، مطالعات آینده باید تمرکز بررسی را بر نقش و اثرات طولانی مدت مسکن های جایگزین مانند استامینوفن و رمی فنتانیل معطوف نمایند. محدودیت های داده ها در اثرات طولانی مدت درمان مرفین نوزادان می تواند به عنوان بازتابی از معضل پیش روی همه پزشکان مراقبت از نوزادان دیده شود که باید به دقت منافع مداخلات حاد علیه پتانسیل برای آسیب طولانی مدت را مشخص نمایند.

## References

1. Simons, S.H.; van Dijk, M.; Anand, K.S.; Roofthoof, D.; van Lingen, R.A.; Tibboel, D. Do we still hurt newborn babies? A prospective study of procedural pain and analgesia in neonates. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* **2003**, *157*, 1058–1064.
2. Hu, S.; Sheng, W.S.; Lokensgard, J.R.; Peterson, P.K. Morphine induces apoptosis of human microglia and neurons. *Neuropharmacology* **2002**, *42*, 829–836.
3. Bajic, D.; Commons, K.G.; Soriano, S.G. Morphine-enhanced apoptosis in selective brain regions of neonatal rats. *Int. J. Dev. Neurosci.* **2013**, *31*, 258–266.
4. Handelmann, G.E.; Dow-Edwards, D. Modulation of brain development by morphine: Effects on central motor systems and behavior. *Peptides* **1985**, *6* (Suppl. 2), 29–34.
5. Ma, M.X.; Chen, Y.M.; He, J.; Zeng, T.; Wang, J.H. Effects of morphine and its withdrawal on y-maze spatial recognition memory in mice. *Neuroscience* **2007**, *147*, 1059–1065.
6. Duhrsen, L.; Simons, S.H.P.; Dzielko, M.; Genz, K.; Bendix, I.; Boos, V.; Siffringer, M.; Tibboel, D.; Felderhoff-Mueser, U. Effects of Repetitive Exposure to Pain and Morphine Treatment on the Neonatal Rat Brain. *Neonatology* **2013**, *103*, 35–43.
7. Roofthoof, D.W.; Simons, S.H.P.; Anand, K.J.; Tibboel, D.; van Dijk, M. Eight Years Later, Are We Still Hurting Newborn Infants? *Neonatology* **2014**, *105*, 218–226.
8. Bellù, R.; de Waal, K.A.; Zanini, R. Opioids for neonates receiving mechanical ventilation. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2008**, doi:10.1002/14651858.CD004212.pub3.
9. Humphrey, T. Some correlations between the appearance of human fetal reflexes and the development of the nervous system. *Prog. Brain Res.* **1964**, *4*, 93–135.
10. Mellor, D.J.; Diesch, T.J.; Gunn, A.J.; Bennet, L. The importance of “awareness” for understanding fetal pain. *Brain Res. Brain Res. Rev.* **2005**, *49*, 455–471.
11. Anand, K.J.; Hickey, P.R. Pain and its effects in the human neonate and fetus. *N. Engl. J. Med.* **1987**, *317*, 1321–1329.
12. McPherson, C. Sedation and analgesia in mechanically ventilated preterm neonates: Continue standard of care or experiment? *J. Pediatr. Pharmacol. Ther.* **2012**, *17*, 351–364.
13. Slater, R.; Cantarella, A.; Gallella, S.; Worley, A.; Boyd, S.; Meek, J.; Fitzgerald, M. Cortical pain responses in human infants. *J. Neurosci.* **2006**, *26*, 3662–3666.
14. Fitzgerald, M.; Beggs, S. The neurobiology of pain: Developmental aspects. *Neuroscientist* **2001**, *7*, 246–257.
15. Maxwell, L.G.; Malavolta, C.P.; Fraga, M.V. Assessment of pain in the neonate. *Clin. Perinatol.* **2013**, *40*, 457–469.
16. Bosenberg, A.; Flick, R.P. Regional anesthesia in neonates and infants. *Clin. Perinatol.* **2013**, *40*, 525–538.
17. Taddio, A.; Katz, J. The effects of early pain experience in neonates on pain responses in infancy and childhood. *Paediatr. Drugs* **2005**, *7*, 245–257.
18. Bouza, H. The impact of pain in the immature brain. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* **2009**, *22*, 722–732.
19. Walker, S.M. Biological and neurodevelopmental implications of neonatal pain. *Clin. Perinatol.* **2013**, *40*, 471–491.
20. Taddio, A.; Goldbach, M.; Ipp, M.; Stevens, B.; Koren, G. Effect of neonatal circumcision on pain responses during vaccination in boys. *Lancet* **1995**, *345*, 291–292.
21. Taddio, A.; Shah, V.; Atenafu, E.; Katz, J. Influence of repeated painful procedures and sucrose analgesia on the development of hyperalgesia in newborn infants. *Pain* **2009**, *144*, 43–48.
22. Vinall, J.; Miller, S.P.; Chau, V.; Brummelte, S.; Synnes, A.R.; Grunau, R.E. Neonatal pain in relation to postnatal growth in infants born very preterm. *Pain* **2012**, *153*, 1374–1381.
23. Anand, K.J. Pain, plasticity, and premature birth: A prescription for permanent suffering? *Nat. Med.* **2000**, *6*, 971–973.
24. Ruda, M.A.; Ling, Q.D.; Hohmann, A.G.; Peng, Y.B.; Tachibana, T. Altered nociceptive neuronal circuits after neonatal peripheral inflammation. *Science* **2000**, *289*, 628–631.
25. Anand, K.J. Clinical importance of pain and stress in preterm neonates. *Biol. Neonate* **1998**, *73*, 1–9.
26. Fitzgerald, M.; Millard, C.; McIntosh, N. Cutaneous hypersensitivity following peripheral tissue damage in newborn infants and its reversal with topical anaesthesia. *Pain* **1989**, *39*, 31–36.
27. Grunau, R.E.; Holsti, L.; Peters, J.W. Long-term consequences of pain in human neonates. *Semin. Fetal Neonatal Med.* **2006**, *11*, 268–275.
28. Brummelte, S.; Grunau, R.E.; Chau, V.; Poskitt, K.J.; Brant, R.; Vinall, J.; Gover, A.; Synnes, A.; Miller, S.P. Procedural pain and brain development in premature newborns. *Ann. Neurol.* **2012**, *71*, 385–396.
29. Anand, K.J.; Sippell, W.G.; Aynsley-Green, A. Randomised trial of fentanyl anaesthesia in preterm babies undergoing surgery: Effects on the stress response. *Lancet* **1987**, *1*, 243–248.

30. Grunau, R.V.; Whitfield, M.F.; Petrie, J.H.; Fryer, E.L. Early pain experience, child and family factors, as precursors of somatization: A prospective study of extremely premature and fullterm children. *Pain* **1994**, *56*, 353–359.
31. Grunau, R.E.; Whitfield, M.F.; Petrie-Thomas, J.; Synnes, A.R.; Cepeda, I.L.; Keidar, A.; Rogers, M.; Mackay, M.; Hubber-Richard, P.; Johannesen, D. Neonatal pain, parenting stress and interaction, in relation to cognitive and motor development at 8 and 18 months in preterm infants. *Pain* **2009**, *143*, 138–146.
32. Hohmeister, J.; Kroll, A.; Wollgarten-Hadamek, I.; Zohsel, K.; Demirakça, S.; Flor, H.; Hermann, C. Cerebral processing of pain in school-aged children with neonatal nociceptive input: An exploratory fMRI study. *Pain* **2010**, *150*, 257–267.
33. Ranger, M.; Chau, C.M.; Garg, A.; Woodward, T.S.; Beg, M.F.; Bjornson, B.; Poskitt, K.; Fitzpatrick, K.; Synnes, A.R.; Miller, S.P.; et al. Neonatal pain-related stress predicts cortical thickness at age 7 years in children born very preterm. *PLoS One* **2013**, *8*, e76702.
34. Andrews, K.; Fitzgerald, M. Cutaneous flexion reflex in human neonates: A quantitative study of threshold and stimulus-response characteristics after single and repeated stimuli. *Dev. Med. Child Neurol.* **1999**, *41*, 696–703.
35. Boronat, M.A.; García-Fuster, M.J.; García-Sevilla, J.A. Chronic morphine induces up-regulation of the pro-apoptotic fas receptor and down-regulation of the anti-apoptotic bcl-2 oncoprotein in rat brain. *Br. J. Pharmacol.* **2001**, *134*, 1263–1270.
36. Katebi, S.N.; Razavi, Y.; Zeighamy Alamdary, S.; Khodagholi, F.; Haghparast, A. Morphine could increase apoptotic factors in the nucleus accumbens and prefrontal cortex of rat brain's reward circuitry. *Brain Res.* **2013**, *1540*, 1–8.
37. Anand, K.J.; Garg, S.; Rovnaghi, C.R.; Narsinghani, U.; Bhutta, A.T.; Hall, R.W. Ketamine reduces the cell death following inflammatory pain in newborn rat brain. *Pediatr. Res.* **2007**, *62*, 283–290.
38. Juul, S.E.; Beyer, R.P.; Bammler, T.K.; Farin, F.M.; Gleason, C.A. Effects of neonatal stress and morphine on murine hippocampal gene expression. *Pediatr. Res.* **2011**, *69*, 285–292.
39. Laprairie, J.L.; Johns, M.E.; Murphy, A.Z. Preemptive morphine analgesia attenuates the long-term consequences of neonatal inflammation in male and female rats. *Pediatr. Res.* **2008**, *64*, 625–630.
40. Zhang, Y.; Chen, Q.; Yu, L.C. Morphine: A protective or destructive role in neurons? *Neuroscientist* **2008**, *14*, 561–570.
41. Scott, H.L.; Braud, S.; Bannister, N.J.; Isaac, J.T. Synaptic strength at the thalamocortical input to layer IV neonatal barrel cortex is regulated by protein kinase C. *Neuropharmacology* **2007**, *52*, 185–192.
42. Francis, F.; Koulikoff, A.; Boucher, D.; Chafey, P.; Schaar, B.; Vinet, M.C.; Friocourt, G.; McDonnell, N.; Reiner, O.; Kahn, A.; et al. Doublecortin is a developmentally regulated, microtubule-associated protein expressed in migrating and differentiating neurons. *Neuron* **1999**, *23*, 247–256.
43. Gleason, J.G.; Lin, P.T.; Flanagan, L.A.; Walsh, C.A. Doublecortin is a microtubule-associated
44. Chen, L.; Huang, L.Y. Protein kinase C reduces Mg<sup>2+</sup> block of nmda-receptor channels as a mechanism of modulation. *Nature* **1992**, *356*, 521–523.
45. Ferguson, S.A.; Ward, W.L.; Paule, M.G.; Hall, R.W.; Anand, K.J. A pilot study of preemptive morphine analgesia in preterm neonates: Effects on head circumference, social behavior, and response latencies in early childhood. *Neurotoxicol. Teratol.* **2012**, *34*, 47–55.
46. Anand, K.J.; Hall, R.W.; Desai, N.; Shephard, B.; Bergqvist, L.L.; Young, T.E.; Boyle, E.M.; Carbajal, R.; Bhutani, V.K.; Moore, M.B.; et al. Effects of morphine analgesia in ventilated preterm neonates: Primary outcomes from the neopain randomised trial. *Lancet* **2004**, *363*, 1673–1682.
47. Franz, A.R.; Pohlandt, F.; Bode, H.; Mihatsch, W.A.; Sander, S.; Kron, M.; Steinmacher, J. Intrauterine, early neonatal, and postdischarge growth and neurodevelopmental outcome at 5.4 years in extremely preterm infants after intensive neonatal nutritional support. *Pediatrics* **2009**, *123*, e101–e109.
48. MacGregor, R.; Evans, D.; Sugden, D.; Gaussen, T.; Levene, M. Outcome at 5–6 years of prematurely born children who received morphine as neonates. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* **1998**, *79*, F40–F43.
49. Rozé, J.C.; Denizot, S.; Carbajal, R.; Ancel, P.Y.; Kaminski, M.; Arnaud, C.; Truffert, P.; Marret, S.; Matis, J.; Thiriez, G.; et al. Prolonged sedation and/or analgesia and 5-year neurodevelopment outcome in very preterm infants: Results from the epipage cohort. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* **2008**, *162*, 728–733.
50. De Graaf, J.; van Lingen, R.A.; Valkenburg, A.J.; Weisglas-Kuperus, N.; Groot Jebbink, L.; Wijnberg-Williams, B.; Anand, K.J.; Tibboel, D.; van Dijk, M. Does neonatal morphine use affect neuropsychological outcomes at 8 to 9 years of age? *Pain* **2013**, *154*, 449–458.
51. Simons, S.H.; van Dijk, M.; van Lingen, R.A.; Roofthoof, D.; Duivenvoorden, H.J.; Jongeneel, N.; Bunkers, C.; Smink, E.; Anand, K.J.; van den Anker, J.N.; et al. Routine morphine infusion in preterm newborns who received ventilatory support: A randomized controlled trial. *JAMA* **2003**, *290*, 2419–2427.
52. De Graaf, J.; van Lingen, R.A.; Simons, S.H.; Anand, K.J.; Duivenvoorden, H.J.; Weisglas-Kuperus, N.; Roofthoof, D.W.; Groot Jebbink, L.J.; Veenstra, R.R.; Tibboel, D.; et al. Long-term effects of routine morphine infusion in mechanically ventilated neonates on children's functioning: Five-year follow-up of a randomized controlled trial. *Pain* **2011**, *152*, 1391–1397.
53. Bhutta, A.T.; Rovnaghi, C.; Simpson, P.M.; Gossett, J.M.; Scalzo, F.M.; Anand, K.J.S. Interactions of inflammatory pain and morphine in infant rats Long-term behavioral effects. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2001**, *72*, 51–58.