

اثر تزریق آگونیست و آنتاگونیست گابا B به درون هسته میخی شکل بر اثرات ضد دردی مرفین در موش‌های صحرایی نر

دکتر مظفر رضوانی پور^۱، دکتر وحید شیبانی^۲، مرتضی بخشش^۳

دریافت مقاله: ۸۵/۲/۳۱ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۵/۵/۴ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۵/۹/۲۰ پذیرش مقاله: ۸۵/۱۱/۷

چکیده

زمینه و هدف: شواهد متعددی نشان داده است که هسته میخی شکل در بی دردی مشارکت دارد. در مطالعه حاضر اثر تزریق آگونیست (باکلوفن) و آنتاگونیست (CGP۳۵۳۴۸) گابا B به درون هسته میخی شکل بر روی اثرات ضد دردی مرفین با آزمون فرمالین در موش‌های صحرایی نر مورد مطالعه قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی پس از کانول‌گذاری هسته میخی شکل موش‌های صحرایی نر اثرات تزریق درون هسته‌ای آگونیست و آنتاگونیست گیرنده گابا B (به ترتیب باکلوفن و CGP۳۵۳۴۸) بر اثرات ضد دردی مرفین با آزمون فرمالین مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: تزریق مرفین (۰/۵ میکرولیتر سالین حاوی ۱۰ میکروگرم مرفین) یا مقادیر مختلف باکلوفن (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میکروگرم به ازای هر موش) دارای اثرات ضد دردی در هر دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین بودند. پاسخ‌های ضد دردی ناشی از تزریق مرفین و باکلوفن هر دو با تزریق CGP۳۵۳۴۸ کاهش می‌یافت. تزریق ۱ میکروگرم باکلوفن همراه با تزریق درون صفاقی نالوکسان اثرات ضد دردی کمتری را نشان داد. تزریق CGP۳۵۳۴۸ به تنهایی نیز در مرحله اول (حاد) آزمون فرمالین دارای اثرات ضد دردی بود. تزریق توأمان مقادیر مختلف باکلوفن با مرفین اثرات ضد دردی آن را تشدید نکرد در حالی که تزریق CGP۳۵۳۴۸ توانست در مرحله حاد آزمون فرمالین به طور معنی‌داری اثرات ضد دردی مرفین را تقویت نماید.

نتیجه‌گیری: احتمالاً بخشی از اثرات ضد دردی اعمال شده از طریق گیرنده‌های گابا B در هسته میخی شکل با دخالت و تعامل گیرنده‌های اوپیویدی این هسته در آزمون فرمالین بروز می‌کند.

واژه‌های کلیدی: هسته میخی شکل، CGP۳۵۳۴۸، باکلوفن، گابا B، مرفین

مقدمه

Rostral Ventromedial Medulla) هسته بزرگ رافه

(Nucleus Raphe Magnus) (NRM)، هسته درشت سلول

(Nucleus Magnucellularis) (NMC) و ماده خاکستر دور

سیستم‌های مهارتی نزولی منشأ گرفته از ناحیه

جلویی بصل‌النخاع شکمی - میانی (RVM)

۱- استادیار گروه آموزشی فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی و علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

تلفن: ۰۳۴۱-۲۱۱۰۴۸۲، فاکس: ۰۳۴۱-۲۱۱۱۰۱۰، پست الکترونیکی: mrezvanipour@yahoo.co.uk

۲- استادیار گروه آموزشی فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۳- مربی گروه آموزشی فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

قنات مغزی (PAG) (Priqueductal Gray) نقش تعدیلی در انتقال محرک‌های دردآور در طناب نخاعی دارند [۱]. منشا اصلی آوران‌ها به RVM و NMC در PAG و هسته جانبی مجاور آن هسته میخی شکل (Cuneiformis) (CnF) می‌باشد [۴] به طوری که تحریک الکتریکی CnF موجب افزایش دوره زمان تأخیر در پس کشیدن دم (TFL) با افزایش فعالیت NMC و NRM می‌گردد [۲-۳].

گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) یکی از مواد میانجی مهار اصلی سیستم عصبی مرکزی می‌باشد که در نواحی مختلف مغز انسان پیدا شده است و دارای حداقل سه گیرنده بنام‌های گابا A، گابا B و گابا C می‌باشد [۴].

هسته CnF که در بخش شکمی جانبی PAG قرار دارد، بخشی از سیستم نزولی تعدیل درد را تشکیل می‌دهد و مشابه PAG و RVM، حاوی گیرنده‌های افیونی بوده و به اثرات ضد دردی آن‌ها حساس می‌باشد [۵].

افزایش ورودی‌های گابا ارژیک به سلول‌های off-cell ناحیه RVM رفلکس درد را تسهیل می‌کند و تزریق میکرونی CGP۳۵۳۴۸ (آنتاگونیست گابا B) به RVM موجب افزایش فعالیت سلول‌های off-cell و تولید اثرات ضد دردی می‌گردد [۴،۶].

افزایش فعالیت سلول‌های off-cell به دنبال تجویز مرفین به RVM احتمالاً از طریق مهار اثرات یک نورون واسطه مهارگر گابا ارژیک می‌باشد [۶]. باکلوفن، یک آگونیست گیرنده گابا B، موجب اثرات ضد دردی با اعمال اثر بر نواحی نخاعی و فوق نخاعی می‌شود [۷-۹].

تزریق مرفین به درون ناحیه PAG موجب بروز اثرات ضد دردی با فعال کردن نورون‌های RVM می‌گردد [۱۰-۱۱]. از طرفی RVM منبع اصلی اکسون‌هایی است که از تنه مغز شروع شده و از طریق دسته تار پشتی-جانبی (DLF) (Dorsolateral Funiculus) به شاخ خلفی نخاع که محل آوران‌های اولیه درد می‌باشد ختم می‌گردند [۱۲]. نورون‌های موجود در هسته میخی شکل دارای گیرنده‌های تحریکی به گلوتامات [۱۳] و استیل کولین [۲] و گیرنده مهارتی به گابا

[۱۴-۱۵] بوده و یکی از مناطق فوق نخاعی مؤثر در سیستم نزولی کنترل کننده درد می‌باشد، به طوری که تحریک الکتریکی هسته CnF باعث فعال شدن سیستم نزولی تعدیل درد می‌گردد [۳].

با توجه به اثرات ضد دردی تزریق درون نخاعی آگونیست‌های گابا A و B (موسیمول و باکلوفن) [۹،۱۶] و هم چنین خروجی‌های CnF به RVM، هسته مرکزی آمیگدال، PAG و سایر نواحی مغز قدامی که همگی در اثرات ضد دردی مرفین در آزمون فرمالین نقش دارند [۳،۱۷]، به نظر می‌رسد سیستم نزولی کنترل درد که از CnF شروع می‌شود یک مسیر گابا ارژیک باشد و احتمالاً یک واکنش متقابل بین گیرنده‌های اپیویدی و گابا در این هسته وجود دارد.

مطالعات قبلی ما با تزریق بیکوکولین (آنتاگونیست گابا A) درون هسته CnF با آزمون رفلکس پس کشیدن دم [۱۸] و تزریق موسیمول و بیکوکولین (آگونیست و آنتاگونیست گابا A) به درون این هسته با آزمون فرمالین [۱۹] حاکی از آن بود که گیرنده‌های گابا A در هسته میخی شکل در القا اثرات ضد دردی دخالت دارد و احتمالاً این اثرات ضد دردی به واسطه مکانیسم‌های مربوط به گیرنده‌های اپیویدی هسته میخی شکل میانجی‌گری می‌شود. تزریق درون هسته‌ای بیکوکولین همراه مرفین تفاوت معنی‌داری با تزریق هر یک از این دو ترکیب به تنهایی نشان نداد که دلالت بر این دارد که سیستم اپیویدی و سیستم گابا ارژیک در هسته میخی شکل با هم در تعامل هستند [۱۹-۲۰].

با عنایت به اهمیت بالینی دردهای مزمن و مناسب آزمون فرمالین در بررسی دردهای مزمن و همچنین با توجه به این که تعامل گیرنده‌های گابا B سیستم گابا ارژیک با سیستم اپیویدی در هسته CnF مورد بررسی قرار نگرفته است، هدف از این مطالعه بررسی تزریق درون هسته میخی شکل آگونیست و آنتاگونیست گابا B (باکلوفن و CGP۳۵۳۴۸) بر اثرات ضد دردی ناشی از تزریق مرفین به درون این هسته با آزمون فرمالین در موش صحرایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در این مطالعه تجربی از ۱۵۴ موش صحرایی نر NMRI با وزن ۲۵۰ تا ۳۱۰ گرم استفاده شد. حیوانات در گروه‌های ۸ تایی در درجه حرارت حدود 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد و دوره تقریبی ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند (نور از ۷ صبح الی ۷ بعد از ظهر). حیوانات به جز مراحل انجام آزمایشات در استفاده از آب و غذا آزاد بودند.

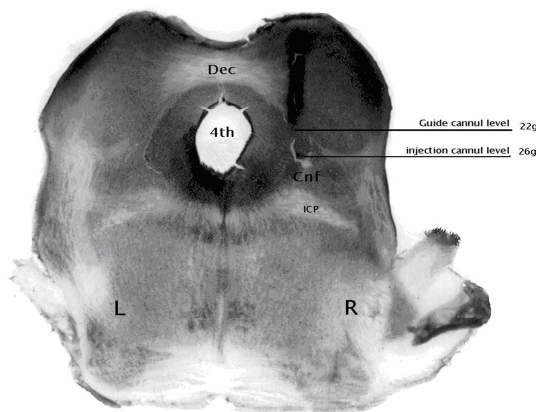
داروها و روش تزریق: مواد شیمیایی مورد استفاده باکلوپن به عنوان آگونیست گابا B و CGP۳۵۳۴۸ (سیگما-آلمان) به عنوان آنتاگونیست گابا B، سولفات مرفین (تولید دارو - ایران)، نالوکسان و گزیزلازین (رامپون) (آلفاسان-سوئیس)، کتامین هیدروکلرید (روتکس مدیا - سوئیس).

باکلوپن، CGP۳۵۳۴۸ و مرفین در سالیان ۰/۹٪ حل و به درون هسته میخی شکل با مقیاس میکرو تزریق شد. مواد شیمیایی در ۴ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی نگهداری و محلول‌ها به صورت تازه و در روز آزمایش تهیه می‌شدند.

با کلوپن و CGP۳۵۳۴۸ و مرفین با سوزن تزریق نمره ۲۶ که تا ۱ میلی‌متری جلوتر از انتهای کانول راهنما هدایت می‌شد درون هسته CnF با حجم ۰/۵ میکرو لیتر توسط سرنگ هامیلتون ۰/۵ میکرو لیتری، لوله پلی‌اتیلن نمره ۱۰۰ در طول ۱ دقیقه و به کمک پمپ انفیوژن (stoelting-۶۲۰USA) تزریق می‌شد. به وسیله روش پیش راندن حباب هوا در لوله پلی‌اتیلن از صحت عمل تزریق اطمینان حاصل می‌شد و برای کامل شدن تزریق، سوزن تزریق به مدت ۱ دقیقه بعد از تجویز در محل تزریق باقی می‌ماند.

جراحی و بافت‌شناسی: حیوانات پس از تجویز گزیزلازین (۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) همراه با کتامین (۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی بی‌هوش و سپس هسته میخی شکل (CnF) با استفاده از اطلس پاکسینوس واتسون به کمک دستگاه استریوتاگس به مختصات -۵ تا ۵/۸ میلی‌متر در عقب برگما، ۱/۵ تا ۱/۷ میلی‌متر سمت راست خط وسط و عمق ۵/۵ تا ۶/۵ میلی‌متر از سطح نرم شامه کانول گذاری و پس از یک هفته با هدف بهبودی حیوانات [۲۱]، آزمایشات

مورد نظر صورت می‌گرفت. در تمام گروه‌ها به جز گروه جراحی‌نما (sham operated)، پس از انجام آزمون فرمالین، ۰/۵ میکرولیتر رنگ کرزیل ویولت (cresyl violet) به داخل هسته تزریق می‌شد و ۲۰ دقیقه بعد حیوان با استفاده از دوز کشنده داروی تیوپنتال سدیم کشته می‌شد. پس از تثبیت بافتی با فرمالین ۱۰٪ به مدت ۲۴ ساعت، برش‌های ۱۵۰ تا ۲۰۰ میکرونی از محل قرار گرفتن کانول توسط دستگاه و ویبرواسلایس تهیه می‌شد و با اطلس پاکسینوس-واتسون مقایسه و در صورت عدم تطابق با اطلس، داده‌های مربوط به حیوان از محاسبات آماری حذف می‌شد (شکل ۱).



شکل ۱- نمایش موقعیت انتهایی کانول‌های راهنما و تزریقی در هسته میخی شکل موش صحرایی

گروه‌بندی حیوانات و آزمایشات انجام یافته یک هفته پس از کانول گذاری

۱- گروه سالیان (n=۸) ۰/۵ میکرولیتر نرمال سالیان ۰/۹٪ داخل هسته تزریق و ۱۰ دقیقه بعد آزمون فرمالین در آن‌ها انجام شد.

۲- گروه مرفین (n=۸) ۰/۵ میکرولیتر نرمال سالیان حاوی ۱۰ میکروگرم مرفین داخل هسته تزریق و ۱۰ دقیقه بعد آزمون فرمالین انجام شد.

۳- گروه باکلوپن (n=۲۴) این گروه به سه زیر گروه ۸ تایی تقسیم و به هر گروه ۰/۵ میکرولیتر نرمال سالیان حاوی یکی از دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میکروگرم باکلوپن به صورت داخل هسته‌ای تزریق و ۱۰ دقیقه بعد آزمون فرمالین انجام شد.

۴- گروه CGP۳۵۳۴۸ (n=۲۴) این گروه نیز به سه زیر گروه ۸ تایی تقسیم و به هر گروه ۰/۵ میکرولیتر نرمال سالیان

کف پنجه عقبی سمت مقابل کانول گذاری شده در مغز، به صورت زیر جلدی تزریق شد. سپس حیوان به جعبه بر گردانده و با کمک یک زمان سنج ثانیه شمار مدت زمانی را که حیوان صرف پس زدن و گاز گرفتن پنجه مورد نظر می کرد اندازه گرفته و به عنوان دوره پاسخ به درد در نظر گرفته شد [۱۶].

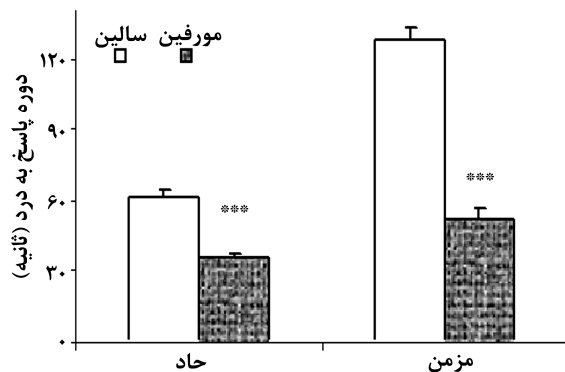
میانگین زمان صرف شده $\pm$ خطای معیار (Mean $\pm$ SEM) بین دقیقه صفر و ۵ به عنوان مرحله حاد و بین دقیقه ۱۵ تا ۴۵ به عنوان مرحله مزمن آزمون در نظر گرفته شد [۱۶، ۲۳].

آزمون های آماری

داده ها بر اساس میانگین مجموع زمان های پاسخ به درد هر یک از گروه ها $\pm$ خطای معیار (Mean $\pm$ SEM) بیان شده اند. برای مقایسه متغیرهای کمی و مدت زمان پاسخ بین گروه ها از آزمون ANOVA و در صورت عدم رعایت فرض نرمالیتی از آزمون معادل ناپارامتری (Kruskal- Wallis) استفاده شده است. مقایسه بین دو گروه از طریق آزمون t انجام شده و آزمون Posthoc بسته به برابری یا نابرابری واریانس ها پس از جمع آوری داده ها به کار گرفته شده است.

نتایج

همان طور که در نمودار ۱ ملاحظه می گردد تزریق مرفین به داخل هسته میخی شکل در مقایسه با سالین، زمان پاسخ به درد را در هر دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین به طور معنی داری کاهش می دهد ($p < 0.001$).



نمودار ۱- میانگین مدت زمان پاسخ به درد مرفین و حلال دارو (سالین) با آزمون فرمالین. میانگین مدت زمان پاسخ به درد گروه های مرفین (۱۰ میکروگرم به ازاء هر موش) و سالین در هر دو مرحله آزمون فرمالین اختلاف معنی داری را نشان می دهد: *** $p < 0.001$.

حاوی یکی از دوزهای ۲/۵، ۵ و ۱۰ میکروگرم CGP۳۵۳۴۸ به صورت داخل هسته ای تزریق و ۱۰ دقیقه بعد آزمون فرمالین انجام شد.

۵- گروه باکلوفن + CGP۳۵۳۴۸ (n=۲۴) - در این گروه مشابه گروه ۴ عمل شد اما ۱۰ دقیقه پس از تزریق دوزهای مختلف CGP۳۵۳۴۸، ۱ میکروگرم باکلوفن نیز به صورت درون هسته ای تزریق و پس از ۱۰ دقیقه آزمون فرمالین انجام شد.

۶- گروه باکلوفن + مرفین (n=۲۴) - این گروه نیز به سه زیر گروه ۸ تایی تقسیم و ۵ دقیقه پس از تزریق ۰/۵ میکرولیتر نرمال سالین حاوی ۱۰ میکروگرم مرفین و مشابه گروه ۳، دوزهای مختلف باکلوفن تزریق و ۱۰ دقیقه بعد آزمون فرمالین انجام شد.

۷- گروه CGP۳۵۳۴۸ + مرفین (n=۲۴) - این گروه نیز به سه زیر گروه ۸ تایی تقسیم و یک دقیقه پس از آن که مشابه گروه ۴ دوزهای مختلف CGP۳۵۳۴۸ تزریق شد، ۰/۵ میکرولیتر نرمال سالین حاوی ۱۰ میکروگرم مرفین مجدداً به صورت داخل هسته ای تزریق و پس از ۵ دقیقه آزمون فرمالین انجام شد.

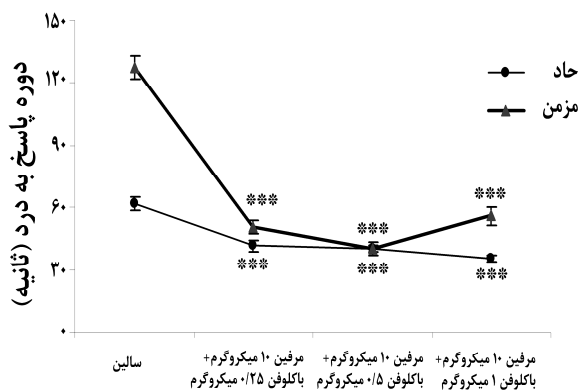
۸- گروه باکلوفن + نالوکسان (n=۸) - در این گروه ۱۰ دقیقه پس از تزریق نالوکسان به میزان ۲ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم به صورت درون صفاقی، ۰/۵ میکرولیتر نرمال سالین حاوی ۱ میکروگرم باکلوفن به صورت داخل هسته ای تزریق و پس از ۱۰ دقیقه آزمون فرمالین انجام شد.

چگونگی بررسی درد با آزمون فرمالین: دستگاه مخصوص

آزمون فرمالین شامل یک جعبه پلکسی گلس (Plexiglass) به ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی متر می باشد که در کف آن یک آینه با زاویه ۴۵ درجه قرار دارد و امکان مشاهده بهتر پای حیوان را فراهم می کند. قبل از انجام آزمون به حیوان اجازه داده می شد که ۳۰ دقیقه با محیط انجام آزمون آشنا شود. بعد از این مدت با توجه به اینکه هر نیمکره مغز پیام های درد اندام های طرف مقابل را دریافت می کند، ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۵٪ [۱۶، ۲۲] با کمک سرنگ انسولین و سر سوزن شماره ۲۷ به سطح پشتی

میکروگرم آن در مرحله حاد آزمون فرمالین زمان پاسخ به درد را به طور معنی داری کاهش ($p < 0.05$) ولی اثرات ضد دردی دوز ۱۰ میکروگرم آن تفاوت معنی داری با سالین ندارد. در مرحله مزمن آزمون فرمالین پاسخها بر خلاف مرحله حاد در دوزهای ۲/۵ و ۵ میکروگرم فاقد اثرات ضد دردی و دوز ۱۰ میکروگرم آن به طور معنی داری دارای اثرات افزایش پاسخ به درد نسبت به سالین می باشد ($p < 0.05$) (نمودار ۳).

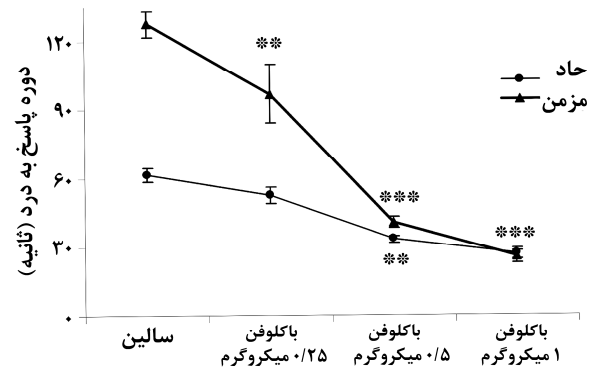
همان طوری که در نمودار ۴ نشان داده شده است اثرات ضد دردی ناشی از تزریق درون هسته‌ای مرفین در صورتی که متعاقب تزریق درون هسته‌ای دوزهای مختلف باکلوفن صورت گیرد، کماکان به طور معنی داری اثرات ضد دردی خود را در هر دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین در مقایسه با سالین حفظ می کند ($p < 0.01$).



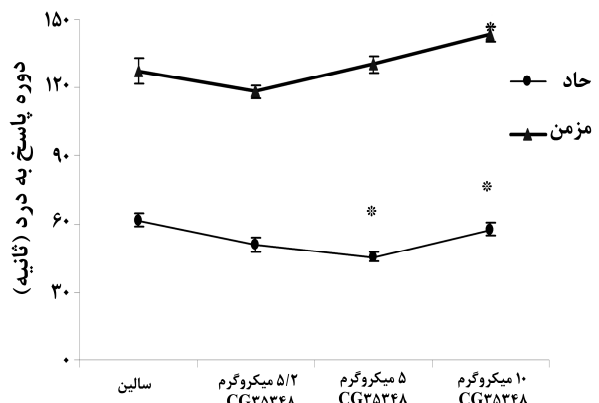
نمودار ۴- میانگین مدت زمان پاسخ به درد مقادیر مختلف باکلوفن ۱۵ دقیقه پس از تزریق ۱۰ میکروگرم مرفین و گروه حلال دارو (سالین) در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین. میانگین مدت زمان پاسخ به درد مقادیر مختلف باکلوفن ۱۵ دقیقه پس از تزریق ۱۰ میکروگرم مرفین و گروه حلال دارو (سالین) در هر دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین دارای اختلاف معنی داری می باشد (*) ($p < 0.01$).**

تزریق درون هسته‌ای باکلوفن (۱ میکروگرم) متعاقب تزریق درون صفاقی نالوکسان (۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان) نشان داد که کماکان باکلوفن به طور معنی داری دوره پاسخ به درد را نسبت به سالین در هر دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین کاهش می دهد ($p < 0.01$) (نمودار ۵).

مقایسه تزریق درون هسته‌ای سالین با غلظت‌های مختلف باکلوفن (آگونیست گیرنده گابا B) حاکی از آن است که باکلوفن در مقایسه با سالین به طور وابسته به دوز به طور معنی داری زمان پاسخ به درد را در هر دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین به طور معنی داری کاهش می دهد (نمودار ۲).



نمودار ۲- میانگین مدت زمان پاسخ به درد مقادیر مختلف باکلوفن در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین. میانگین مدت زمان پاسخ به درد مقادیر مختلف باکلوفن با حلال دارو (سالین) در مرحله مزمن و مقادیر ۰/۵ و ۱ میکروگرم آن در مرحله حاد آزمون فرمالین با گروه حلال دارو (سالین) دارای اختلاف معنی داری می باشد (*) ($p < 0.01$).**



نمودار ۳- میانگین مدت زمان پاسخ به درد مقادیر مختلف CGP35348 در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین. میانگین مدت زمان پاسخ به درد مقدار ۱۰ میکروگرم CGP35348 در مرحله مزمن و مقادیر ۵ و ۱۰ میکروگرم آن در مرحله حاد آزمون فرمالین با گروه حلال دارو (سالین) اختلاف معنی داری را نشان می دهد (*): $p < 0.05$.

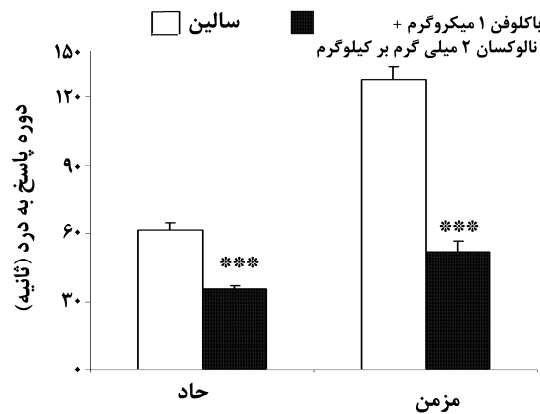
تزریق درون هسته‌ای CGP35348 (آنتاگونیست گیرنده گابا B) در مقایسه با سالین نشان داد که دوزهای ۲/۵ و ۵

داشته و سیستم گابا ارژیک و اوپیویدی در این اثرات ضد دردی موثرند.

در این مطالعه که اثرات ضد دردی ناشی از تزریق درون هسته میخی شکل آگونیست و آنتاگونیست گابا B با سالین و مرفین مورد مقایسه قرار گرفت، به طور اجمال به صورت زیر قابل توجیه و تفسیر است: همان طوری که در پژوهش قبلی ما نشان داده شد که تزریق میکرونی مرفین به داخل هسته میخی شکل موجب بروز اثرات ضد دردی در آزمون Tail Flick شده در این پژوهش نیز تزریق درون هسته‌ای مرفین نتایج مشابهی در آزمون فرمالین در هر دو دوره حاد و مزمن نشان داد. این نتایج دلالت بر حضور گیرنده‌های اپیویدی در این هسته دارد که در تعدیل درد حاد و مزمن دخالت دارند. برخی از تفاوت‌هایی که در نتایج مرحله حاد و مزمن آزمایشات مشاهده می‌شود ناشی از این حقیقت است که در گذرگاه نورونی درد حاد و مزمن و راه‌هایی تعدیلی و کنترلی آن‌ها تفاوت‌هایی وجود دارد [۱۷].

تزریق میکرونی آگونیست گیرنده گابا B (باکلوپن) در هسته میخی شکل موجب بروز اثرات ضد دردی شده است که حاکی از آن است که در این هسته احتمالاً نورون‌های گابا ارژیک با آزاد کردن گابا و از طریق تحت تأثیر قرار دادن گیرنده‌های گابا B اثرات تعدیلی بر روی نورون‌های تحریکی مولد درد دارند و این نتایج مشابه اثرات مهار پس سیناپسی باکلوپن در سایر بخش‌های سیستم عصبی است که در مطالعات دیگر گزارش شده است [۷-۸، ۱۶، ۲۵].

CGP۳۵۳۴۸ به عنوان آنتاگونیست گابا B در دوزهای کم ۲/۵ و ۵ میکروگرم در مرحله حاد آزمون فرمالین موجب کاهش درد ولی در دوزهای بالای ۱۰ میکروگرم در مرحله حاد آزمون فرمالین بی‌اثر و در مرحله مزمن آزمون فرمالین برعکس دارای اثرات پر دردی می‌باشد که احتمالاً دلیل بر حضور گیرنده‌های گابا B به صورت پیش و پس سیناپسی در هسته میخی شکل می‌باشد. این اثرات به طور وابسته به دوز عمل می‌نمایند، به طوری که دوزهای کم آن ممکن است به صورت پیش سیناپسی ولی دوزهای بالای آن به صورت پس سیناپسی موجب مهار گیرنده‌های گابا B گردند. در برخی از



نمودار ۵- میانگین مدت زمان پاسخ به درد گروه باکلوپن (۱ میکروگرم به اِزاء هر موش) و گروه حلال دارو (سالین). میانگین مدت زمان پاسخ به درد بین گروه باکلوپن (۱ میکروگرم به اِزاء هر موش) و گروه حلال دارو (سالین) ۱۰ دقیقه پس از تزریق درون صفاقی نالوکسان (۲ میلی گرم به اِزاء هر کیلوگرم وزن حیوان) در هر دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p < 0.001$; ***).

بحث

گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA) یکی از مواد میانجی مهای اصلی سیستم عصبی است که دارای گیرنده‌های A، B و C می‌باشد [۴]. باکلوپن که یک آگونیست گیرنده‌های گابا B می‌باشد، با دوزهای کم روی گیرنده‌های پیش سیناپسی و با دوزهای بالا روی هر دو نوع گیرنده پیش و پس سیناپسی گابا B اثر می‌کند [۲۴]. اثرات ناشی از تزریق درون بطنی باکلوپن در هر دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین توسط آنتاگونیست اختصاصی گیرنده گابا B، (CGP۳۵۳۴۸) کاهش می‌یابد [۱۶].

برخی از مطالعات حاکی از آن است که اثرات ضد دردی ناشی از باکلوپن مرکزی می‌باشد [۱۳] و با مهار رهسازی مواد میانجی نورونی تحریکی چون گلوتامات، آسپاراتات و کاتکولامین‌ها انجام می‌گیرد [۷-۸، ۲۵]. مطالعات قبلی ما که با تزریق درون هسته میخی شکل آنتاگونیست گابا A (بیکوکولین) و با آزمون پس کشیدن دم (Tail Flick) [۱۸، ۲۰] و یا تزریق آگونیست و آنتاگونیست گیرنده گابا A درون این هسته و با آزمون فرمالین انجام یافت [۱۹] هر دو نشان داد که هسته میخی شکل در اثرات ضد دردی نقش

دردی باکلوفن را کاهش دهد یکی این که مواد میانجی دیگری به جز اوپیوئیدها ممکن است در تعدیل اثرات باکلوفن در هسته میخی شکل دخالت داشته باشد و دیگر این که شاید تزریق داخل صفاقی نالوکسان در این مطالعه موجب شده که این دارو به تمام نواحی دارای گیرنده‌های اوپیوئیدی از جمله هسته میخی شکل به میزان کافی نرسیده باشد.

نتیجه‌گیری

نتیجه کلی در مورد این پژوهش این است که احتمالاً در هسته میخی شکل مانند سایر هسته‌های مؤثر در تعدیل درد از جمله RVM و PAG نورون‌هایی وجود دارند که تحت تأثیر گابا قرار دارند و با تحریک گیرنده‌های گابا، سیستم اوپیوئیدی موجود در این هسته تحت تأثیر قرار می‌گیرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان که هزینه طرح را تقبل کرده‌اند و برخی از وسایل مورد نیاز را در اختیارمان گذاشته‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد.

گزارشات اثرات ضد درد ناشی از تزریق درون بطنی CGP۳۵۳۴۸ به اثرات مهار پیش سیناپسی آن نسبت داده شده است [۱۶]. از آن جایی که اثرات ضد درد مرفین با اثرات ضد درد ناشی از مجموعه مرفین و باکلوفن تفاوت معنی‌داری ندارد ممکن است ناشی از این حقیقت باشد که گیرنده‌های گابا B موجود در هسته میخی شکل با تحت تأثیر قرار دادن سیستم اوپیوئیدی موجود در این هسته نهایتاً مسیر مشترکی در سرکوب درد دنبال می‌کنند و این نتایج با مطالعات قبلی که با آگونیست گیرنده گابا A به عمل آمد مشابه است [۱۹]. در این پژوهش تجویز نالوکسان به عنوان آنتاگونیست غیر اختصاصی گیرنده اوپیوئیدی تأثیری بر اثرات ضد درد باکلوفن در آزمون فرمالین نداشت، در حالی که تزریق داخل بطنی نالوکسان اثرات ضد درد موسیمول و باکلوفن را تحت تأثیر قرار داده و پاسخ ضد درد القاء شده توسط آن‌ها را به طور معنی‌داری حذف کرده است [۱۶]. از دلایل احتمالی این نتایج که نالوکسان نتوانسته اثرات ضد

References

- [1] Zemlan FP, Behbahani MM. Nucleus cuneiformis and pain modulation: anatomy and behavioral pharmacology. *Brain Res*, 1988; 453(1-2): 89-102.
- [2] Behbahani MM, Pomeroy SL. Effect of morphine injected in periaqueductal gray on the activity of single units in nucleus raphe magnus of the rat. *Brain Res*, 1978; 149 (1): 266-9.
- [3] Bernard JF, Peschanski M, Besson JM. Afferents and efferents of the rat cuneiformis nucleus: an anatomical study with reference to pain transmission. *Brain Res*, 1989; 490 (1): 181-5.
- [4] Drew CA, Johnston GA, Weatherby RP. Bicuculline-insensitive GABA receptors: studies on the binding of (-) baclofen to rat cerebellar membranes. *Neurosci Lett*, 1984; 52(3): 317-21.
- [5] Pan ZZ, fields HL. Endogenous opioid- mediated inhibition of putative pain- modulating neurons in rat rostral ventromedial medulla. *Neuroscience*. 1996; 74(3): 855-62.
- [6] Heinricher MM, Kaplan H J. GABA- mediated inhibition in rostral ventromedial medulla: role in nociceptive modulation in the lightly anesthetized rat. *Pain*. 1991; 47(1): 105-13.
- [7] Cutting DA, Jordan CC. Alternative approaches to analgesia: baclofen as a model compound. *Br J Pharmacol*, 1975; 54(2): 171-9.
- [8] Levy RA, Proudfit HK. The analgesic action of baclofen. *J Pharmacol EXP Ther*, 1997; 2000(2): 437-42.
- [9] Sabetkasai N, Khansefid S, Yahyavi H, Zarrindast MR. Baclofen and antidepressant- induced antinociception in formalin test: possible GABAB mechanism in involvement. *Psychopharmacology*. 1999; 142: 426-31.
- [10] Behbahani MM, Zemlan FP. Response of nucleus raphe magnus neurons to electrical stimulation of nucleus cuneiformis: role of acetylcholine. *Brain Res*, 1986; 396(1-2): 110-8.

- [11] Pomeroy SL, Behbehani MM. Physiologic evidence for a projection from periaqueductal gray to nucleus raphe magnus in the rat. *Brain J Res*, 1979; 176 (1): 143-7.
- [12] Heinricher MM, Morgan MM, Fields HL. Direct and indirect actions of morphine on medullary neurons that modulate nociception. *Neuroscience*. 1992; 48(3): 533-43.
- [13] Richter RC, Behbehani MM. Evidence for glutamic acid as a possible neurotransmitter between the mesencephalic nucleus cuneiformis and the medullary nucleus raphe magnus in the lightly anesthetized rat. *Brain Res*, 1991; 544 (2): 279-86.
- [14] Nagai T, Maeda T, Imai H, McGeer PL, McGeer EG. Distribution of GABA-T- intensive neurons n the rat hind *Brain J Comp Neurol*, 1985; 231 (2): 260-9.
- [15] Nemmani KV, Mogil JS. Serotonin –GABA interactions in the modulation of mu-and kappa –opiod analgesia. *Neuropharmacology*. 2003; 44(3): 304-10.
- [16] Mahmoudi M, Zarrindast MR. Effect of intracerebroventricular injection of GABAA receptor agents on morphine-induced antinoception in the formalin test. *J Pharmacology*, 2002; 10(1): 85-91.
- [17] Gilbert AK, Franklin KB. The role of descending fibers from the rostral ventromedial medulla in opiod analgesia in rats. *Eur J Pharmacol*, 2002; 449(1-2): 75-84.
- [18] Rezvanipour M, Milan H, Haghprast A. The role of a GABA A receptor antagonist on morphine antinociception action in cuneiformis nucleus. *Experimental Neurobiology proceeding for the 3rd FAONS congress*. 2002; 11(22): 78.
- [۱۹] رضوانی پور م، صفری ط، عباس نژاد م. بررسی اثر تزریق داخل هسته میخی شکل آگونیست و آنتاگونیست گابا A بر اثرات ضد دردی مرفین با آزمون فرمالین در موش صحرایی. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۸۳، دوره یازدهم، شماره ۴، صفحات: ۲۱۸-۲۱۲.
- [20] Rezvanipour M, Haghparast A, Millan H. The role of GABA_A receptor inhibitor on morphine antinociception action in cuneiformis nucleus. *Int J Pharmacol*, 2006; 2(4): 400-5.
- [21] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinate. 2nd. San Diego, California, Academic press Inc, 1987; pp: 51.
- [22] Lee IO, Kong MH, Kim NS, Choi YS, Lim SH, Lee MK. Effects of different concentrations and volumes of formalin on pain response in rats. *Acta Anaesthesiol Sin*, 2000; 38(2): 59-64.
- [23] Daviese J. Selective depression of synaptic excitation in cat spinal neuronse by baclofen: An intopharetic study. *Br J pharmacol*, 1981; 72(2): 373-84.
- [24] Henry JL, Ben-Ari Y. Actions of the P- chlorophenyl derivative of GABA, Lioresal on nociceptive and non-nociceptive units in the spinal cord of the cat. *Brain Res*, 1979; 117: 540.
- [25] Jourdan D, Ardid D, Bardin L, Bardin M, Neuzeret D. A new automated method of pain scoring in the formaline test in rats. *Pain*. 1997; 71(3): 265-70.