مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره ششم، شماره دوم، تابستان ۱۳۸۶، ۱۰۸-۱۰۱

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

دکتر مظفر رضوانی‌پور[۱]، دکتر وحید شیبانی[۲]، مرتضی بخشش[۳]

دریافت مقاله: ۸۵/۲/۳۱ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۵/۵/٤ 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 اوپیوییدی این هسته در آزمون فرمالین بروز می‌کند.

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

مقدمه

سیستم‌های مهاری نزولی منشأ گرفته از ناحیه جلویی بصل‌النخاع شکمی - میانی (RVM) (Rostral Ventromedial Medulla) هسته بزرگ رافه (NRM) (Nucleus Raphe Magnus)، هسته درشت سلول (NMC) (Nucleus Magnucellularis) و ماده خاکستر دور

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

تلفن: ۲۱۱۰۴۸۲-۰۳۴۱، فاکس: ۲۱۱۱۰۱۰-۰۳۴۱، 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 (Priequeductal Gray) (PAG) 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 NRM و NMC می‌گردد [۳-۲].

گاما آمینوبوتیریک اسید (Gama Amino Butyric Acid) (GABA) یکی از مواد میانجی مهاری 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 [۹-۷].

تزریق مرفین به درون ناحیه PAG موجب بروز اثرات ضد دردی با فعال کردن نورون‌های RVM می‌گردد [۱۱-۱۰]. 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 مهاری به گابا [۱۵-۱۴] 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 اپیوییدی 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 اپیوییدی 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 اوپیوییدی و سیستم گابا ارژیک در هسته میخی شکل با هم در تعامل هستند [۲۰-۱۹].

با عنایت به اهمیت بالینی دردهای مزمن و مناسبت آزمون فرمالین در بررسی دردهای مزمن و هم‌چنین با توجه به این که تعامل گیرنده‌های گابا B سیستم گابا ارژیک با سیستم اوپیوییدی 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

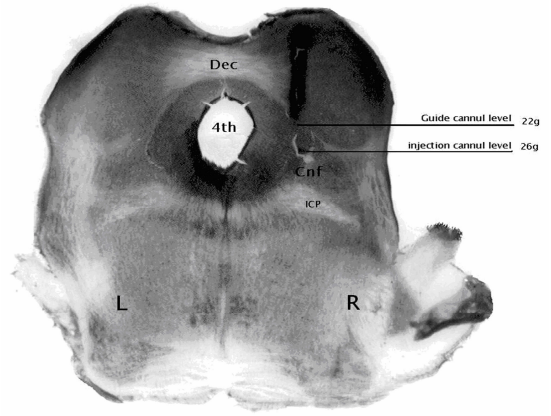
حیوانات: در این مطالعه تجربی از ۱۵۴ موش صحرایی نر NMRI با وزن ۲۵۰ تا ۳۱۰ گرم استفاده شد. حیوانات در گروه‌های ۸ تایی در درجه حرارت حدود ۲± ۲۱ درجه سانتی‌گراد و دوره تقریبی ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند (نور از ۷ صبح الی ۷ بعد از ظهر). حیوانات به جز مراحل انجام آزمایشات در استفاده از آب و غذا آزاد بودند.

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

باکلوفن، CGP۳۵۳۴۸ و مرفین در سالین 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 کلوفن 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 نمره۱۰۰ 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 گزیلازین (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 استریوتاکس 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 کانول‌گذاری 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).



شکل۱- نمایش موقعیت انتهایی کانول‌های راهنما و تزریقی در هسته میخی شکل موش صحرایی

گروه‌بندی حیوانات و آزمایشات انجام یافته یک هفته پس از کانول‌گذاری

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

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

۳- گروه باکلوفن(n =۲۴)- این گروه به سه زیر گروه ۸ تایی تقسیم و به هر گروه ۰/۵ میکرولیتر نرمال سالین حاوی یکی از دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میکروگرم باکلوفن 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 سالین

حـــاوی یکـــی از دوزهـــای ۲/۵، ۵ و ۱۰ میکروگـــرم CGP۳۵۳۴۸ به صورت داخل هسته‌ای تزریق و ۱۰ دقیقه بعد آزمون فرمالین انجام شد.

۵-گروه باکلوفن + CGP۳۵۳۴۸ (n=۲۴)- در این گروه مشابه گروه ۴ عمل شـد امـا ۱۰ دقیقـه پـس از تزریـق دوزهـای مختلف CGP۳۵۳۴۸، ۱ میکروگرم باکلوفن نیز به صـورت درون هسته‌ای تزریق و پس از ۱۰ دقیقه آزمـون فرمـالین انجام شد.

۶- گروه باکلوفن + مرفین (n=۲۴) – این گروه نیز به سه زیر گـروه ۸ تـایی تقـسیم و ۵ دقیقـه پـس از تزریـق ۰/۵ میکرولیتر نرمـال سـالین حـاوی ۱۰ میکروگـرم مـرفین 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 مـشابه گروه ۴ دوزهـای مختلـف CGP۳۵۳۴۸ تزریـق شـد، ۰/۵ میکرولیتر نرمال سالین حاوی ۱۰ میکروگرم مرفین مجدداً به صورت داخل هسته‌ای تزریق و پس از ۵ دقیقـه آزمـون فرمالین انجام شد.

۸- گروه باکلوفن + نالوکسان (n=۸)- در این گروه ۱۰ دقیقـه پس از تزریق نالوکسان به میزان ۲ میلـی‌گـرم بـه ازاء هـر کیلوگرم به صـورت درون صـفاقی، ۰/۵ میکرولیتـر نرمـال سـالین حـاوی ۱ میکروگـرم بـاکلوفن بـه صـورت داخـل هسته‌ای تزریق و پس از ۱۰ دقیقه آزمـون فرمـالین انجـام شد.

چگونگی بررسی درد با آزمون فرمالین: دستگاه مخصوص آزمون فرمالین شامل یک جعبه پلکسی گلس (Plexiglass) به ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر می‌باشد که در کف آن یک آینه با زاویه ۴۵ درجه قرار دارد و امکان مشاهده بهتر پـای حیـوان را فراهم می‌کند. قبل از انجام آزمون به حیوان اجازه داده می‌شد که ۳۰ دقیقه با محیط انجام آزمون آشنا شود. بعد از این مدت با توجه به اینکه هر نیمکره مغز پیام‌های درد اندام‌هـای طـرف مقابل را دریافت می‌کند، ۵۰ میکرولیتر فرمـالین ۵٪ [۱۶،۲۲] با کمک سرنگ انسولین و سر سوزن شماره ۲۷ به سطح پشتی کف پنجه عقبی سمت مقابل کانول‌گـذاری شـده در مغـز، بـه صورت زیر جلدی تزریق شد. سپس حیوان به جعبه بر گردانده و با کمک یک زمان سنج ثانیه شمار مدت زمانی را که حیـوان صرف پس زدن و گاز گرفتن پنجه مورد نظـر مـی‌کـرد انـدازه گرفته و به عنوان دوره پاسخ به درد در نظر گرفته شد [۱۶].

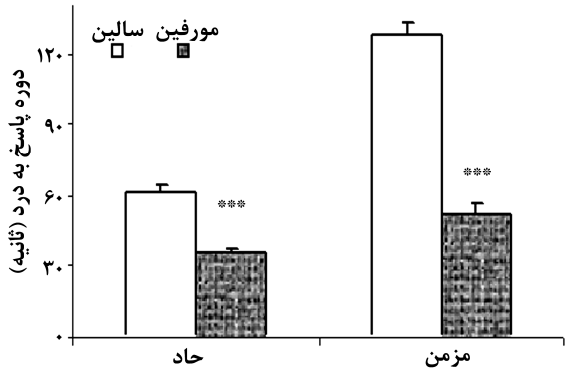
میانگین زمان صرف شده ± خطای معیار (Mean±SEM) بین دقیقه صفر و ۵ به عنوان مرحله حاد و بین دقیقـه ۱۵ تـا ۴۵ به عنوان مرحله مزمن آزمون در نظر گرفته شد [۱۶،۲۳].

آزمون‌های آماری

داده‌ها بر اساس میانگین مجموع زمان‌های پاسخ بـه درد هـر یـک از گـروه‌هـا± خطـای معیـار (Mean± SEM) بیـان شده‌اند. برای مقایسه متغیرهای کمی و مدت زمان پاسخ بـین گروه‌ها از آزمـون ANOVA و در صـورت عـدم رعایـت فـرض نرمـالیتی از آزمـون معـادل ناپـارامتری (Kruskall- Wallis) استفاده شده است. مقایـسه بـین دو گـروه از طریـق آزمـون t انجام شـده و آزمـون Posthoc بـسته بـه برابـری یـا نـابرابری واریانس‌ها پس از جمع‌آوری داده‌ها به کار گرفته شده است.

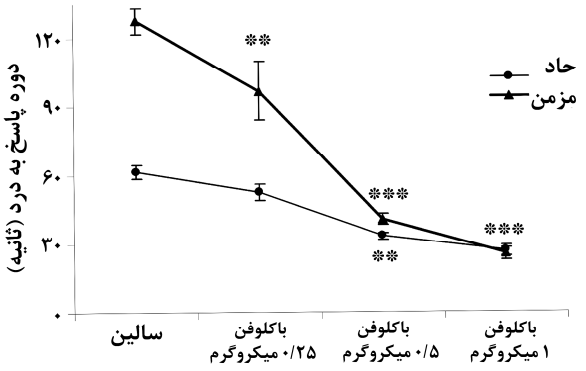
نتایج

همان‌طور که در نمودار ۱ ملاحظه می‌گردد تزریق مرفین به داخل هسته میخی شکل در مقایسه با سالین، زمـان پاسـخ به درد را در هر دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین به طـور معنی‌داری کاهش می‌دهد (p<۰/۰۰۱).

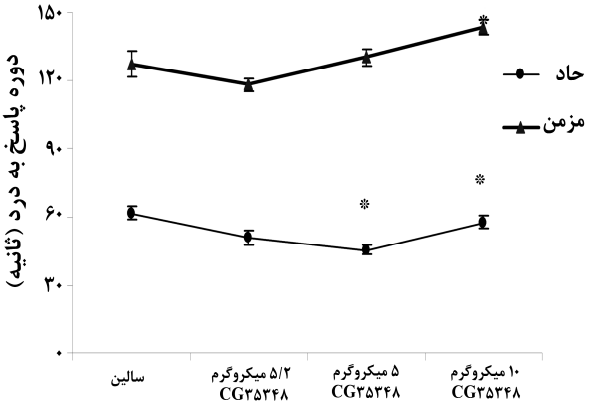


نمودار ۱- میانگین مدت زمان پاسخ به درد مرفین و حلال دارو (سالین) با آزمون فرمالین. میانگین مدت زمان پاسخ به درد گـروه‌هـای مـرفین (۱۰ میکروگرم به ازاء هـر مـوش) و سـالین در هـر دو مرحلـه آزمـون فرمالین اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد ***: p<۰/۰۰۱

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 معنی‌داری زمان پاسخ به درد را در هر دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد (نمودار ۲).



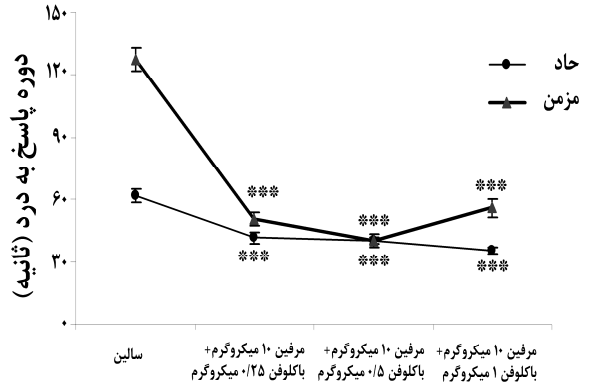
نمودار۲- میانگین مدت زمان پاسخ به درد مقادیر مختلف باکلوفن در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین. میانگین مدت زمان پاسخ به درد مقادیر مختلف باکلوفن با حلال دارو (سالین) در مرحله مزمن و مقادیر ۰/۵ و ۱ میکروگرم آن در مرحله حاد آزمون فرمالین با گروه حلال دارو (سالین) دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد (**: p<۰/۰۱ و ***: p<۰/۰۰۱).



نمودار ۳- میانگین مدت زمان پاسخ به درد مقادیر مختلف CGP۳۵۳۴۸ در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین
میانگین مدت زمان پاسخ به درد مقدار ۱۰ میکروگرم CGP۳۵۳۴۸ در مرحله مزمن و مقادیر ۵ و ۱۰ میکروگرم آن در مرحله حاد آزمون فرمالین با گروه حلال دارو (سالین) اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد *: p<۰/۰۵

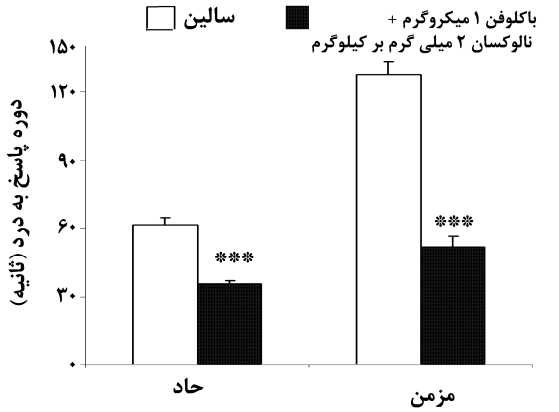
تزریق درون هسته‌ای CGP۳۵۳۴۸ (آنتاگونیست گیرنده گابا B) در مقایسه با سالین نشان داد که دوزهای ۲/۵ و ۵ میکروگرم آن در مرحله حاد آزمون فرمالین زمان پاسخ به درد را به طور معنی‌داری کاهش (p<۰/۰۵) ولی اثرات ضد دردی دوز ۱۰ میکروگرم آن تفاوت معنی‌داری با سالین ندارد. در مرحله مزمن آزمون فرمالین پاسخ‌ها بر خلاف مرحله حاد در دوزهای ۲/۵ و ۵ میکروگرم فاقد اثرات ضد دردی و دوز ۱۰ میکروگرم آن به طور معنی‌داری دارای اثرات افزایش پاسخ به درد نسبت به سالین می‌باشد (p<۰/۰۵) (نمودار ۳).

همان‌طوری که در نمودار۴ 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 معنی‌داری اثرات ضد دردی خود را در هر دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین در مقایسه با سالین حفظ می‌کند (p<۰/۰۰۱).



نمودار٤- 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 معنی‌داری می‌باشد (: p<۰/۰۰۱).***

تزریق درون هسته‌ای باکلوفن (۱ میکروگرم) متعاقب تزریق درون صفاقی نالوکسان(۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان) نشان داد که کماکان باکلوفن به طور معنی‌داری دوره پاسخ به درد را نسبت به سالین در هر دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین کاهش می‌دهد (p<۰/۰۰۱) (نمودار۵).



نمودار ۵- میانگین مدت زمان پاسخ به درد گروه باکلوفن (۱ میکروگرم به ازاء هر موش) و گروه حلال دارو (سالین). میانگین مدت زمان پاسخ به درد بین گروه باکلوفن (۱میکروگرم به ازاء هر موش) و گروه حلال دارو (سالین) ۱۰ دقیقه پس از تزریق درون صفاقی نالوکسان (۲ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن حیوان) در هر دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد (:p<۰/۰۰۱).***

بحث

گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA) یکی از مواد میانجی مهاری اصلی سیستم عصبی است که دارای گیرنده‌های A، B و C می‌باشد [۴]. باکلوفن 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 باکلوفن 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 باکلوفن مرکزی می‌باشد [۱۳] و با مهار رهاسازی مواد میانجی نورونی تحریکی چون گلوتامات، آسپارتات و کاتکولامین‌ها انجام می‌گیرد [۲۵، ۸-۷]. 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 داشته و سیستم گابا ارژیک و اوپیوییدی 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 اپیوییدی 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 (باکلوفن) 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 باکلوفن در سایر بخش‌های سیستم عصبی است که در مطالعات دیگر گزارش شده است [۲۵، ۱۶، ۸-۷].

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

گزارشات اثرات ضد دردی ناشی از تزریق درون بطنی CGP۳۵۳۴۸ به اثرات مهار پیش سیناپسی آن نسبت داده شده است [۱۶]. از آن جایی که اثرات ضد دردی مرفین با اثرات ضد دردی 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 اوپیوییدی 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 اوپیوییدی تأثیری بر اثرات ضد دردی باکلوفن در آزمون فرمالین نداشت، در حالی که تزریق داخل بطنی نالوکسان اثرات ضد دردی موسیمول و باکلوفن را تحت تأثیر قرار داده و پاسخ ضد دردی القاء شده توسط آن‌ها را به طور معنی‌داری حذف کرده است [۱۶]. از دلایل احتمالی این نتایج که نالوکسان نتوانسته اثرات ضد دردی باکلوفن را کاهش دهد یکی این که مواد میانجی دیگری به جز اوپیوییدها 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 اوپیوییدی 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 اوپیوییدی 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.

References

[1] Zemlan FP, Behbahani MM. Nucleus cuneiformis and pain modulation: anatomy and behavioral pharmacology. *Brain Res*, 1988; 453(1-2): 89-102.

[2] Behbehani MM, Pomeroy SL. Effect of morphine injected in periadueductal 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 opiod- 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 venteromedial 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 volvement. *Psychopharmacology*. 1999; 142: 426-31.

[10] Behbehani 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.

[۱۹] رضوانی‌پور م، صفری ط، عباس‌نژاد 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 excilation 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.

[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 proceding for the 3rd FAONS congress. 2002; 11(22): 78.