

## اثر تجویز داخل مغزی داروهای مؤثر بر گیرنده‌های گابا و نقش سیستم اپیوئیدی در اثر ضد دردی این مواد

میترا محمودی، محمدرضا زرین دست

دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فارماکولوژی

### چکیده

در مطالعه حاضر تأثیر آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های سیستم گابا (گاما آمینو بوتیریک اسید) بر بی‌دردی ناشی از مرفین در موش صحرایی از طریق آزمون فرمالین بررسی شده است. تزریق داخل صفاقی (i.p.) مقادیر مختلف مرفین (۱، ۳، ۶، ۹ mg/kg) و تزریق داخل بطن مغزی (i.c.v.) مقادیر مختلف موسیمول (۰/۵، ۱ و ۲ µg/rat) یا باکلوفن (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ µg/rat) به صورت وابسته به مقدار در هر دو مرحله آزمون فرمالین سبب بی‌دردی شده است. بی‌دردی حاصل از موسیمول و باکلوفن در هر دو مرحله به ترتیب توسط بیکوکولین و CGP35348 کاهش یافته است. مرفین همراه با مقادیر مختلف موسیمول و باکلوفن اثر ضد دردی بیشتری را نشان داده است. نالوکسون (آنتاگونیست گیرنده‌های مخدر) سبب کاهش اثر ضد دردی آگونیست گیرنده‌های گابا شده است. احتمالاً تحریک گیرنده‌های گابا A و گابا B در آزمون فرمالین سبب بی‌دردی می‌شود و قسمتی از بی‌دردی ایجاد شده توسط آگونیست‌های گیرنده‌های گابا احتمالاً از طریق مکانیسم‌های گیرنده‌های مخدر وساطت می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بی‌دردی، آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های گابا، آزمون فرمالین.

### مقدمه

میانجی عصبی در اعصاب حسی می‌باشد. ریشه‌های نخاعی از طریق سیستمی شدیداً وابسته به سدیم می‌توانند باعث تجمع گابا شوند [۲۰]. گیرنده‌های گابا روی فیبرهای آوران اولیه نیز جایگاه پیش سیناپسی دارند [۱۸]. گابا در آثار فارماکولوژیک گوناگونی از جمله اثر ضد دردی دخالت دارد [۹].

باکلوفن از طریق گیرنده‌های گابا B در مراکز نخاعی و مغزی می‌تواند سبب مهار راه‌های حس درد شود در صورتی که در مورد دخالت گیرنده‌های گابا A و ایجاد اثر بی‌دردی، مراکز مغزی مهمتر هستند [۱۴].

گاما آمینو بوتیریک اسید (گابا) یک میانجی عصبی مهمی در مغز است که در تمام قسمت‌های مغز انسان یافت می‌شود. گابا می‌تواند با دو و احتمالاً سه زیر مجموعه گیرنده‌ای از گیرنده‌های گابا تحت عناوین گابا A، گابا B و گابا C، تداخل نماید [۱۵]. هر دو گیرنده گابا A و B در طناب نخاعی موش صحرایی نیز وجود دارند. قبلاً ثابت شده است که تعداد زیادی از اعصاب حسی در عقده‌های ریشه عقبی نخاع موش صحرایی در قسمت سینه‌ای و کمری نخاع و نیز عقده‌های تری ژمینال و ندوزا حاوی گابا می‌باشد که احتمالاً دلیل دخالت این

زیر می‌باشد:  $AP = -0.8 \text{ mm}$  از برگما،  $L = 1.6 \text{ mm}$  از برگما،  $V = 4 \text{ mm}$  از دورا، میله بینی  $3.5 \text{ mm}$  از خط اینترا اورال.

کانول توسط یک پیچ و سیمان دندان پزشکی در مجسمه ثابت می‌گردید. یک قطعه سیم فلزی فولاد ضدزنگ برای حفاظت کانول از گرفتگی، درون آن قرار داده می‌شد. بعد از گذاشتن کانول حیوانات مدت یک هفته برای بهبود جراحات به حال خود رها می‌شدند.

۳- تزریق داخل بطن جانبی مغز - حیوان را در دست به آرامی محصور کرده و سیم فلزی داخل کانول را درآورده سپس با کمک سر سوزن ( $30 \text{ gauge}$ ) که طول آن به اندازه‌ای است که  $1 \text{ mm}$  عمیق‌تر از طول کانول قرار می‌گیرد و با لوله پلی اتیلن به سرنگ هاملتون  $25 \mu\text{l}$  اتصال دارد، محلول تزریقی در حجم  $3 \mu\text{l}$  به آرامی تزریق می‌گردد، سر سوزن مدت  $60$  ثانیه پس از تزریق داخل کانول باقی می‌ماند تا محلول دارو کاملاً وارد مغز شود.

۴- ثبت رفتار بی‌دردی - به منظور انطباق با محیط آزمایش موش‌ها به مدت  $30$  دقیقه پیش از تزریق دارو در محیط به حال خود رها می‌شدند. بعد از تزریق داروها محلول فرمالین  $5\%$  به مقدار  $50$  میکرولیتر به صورت زیر جلدی به پنجه پای عقب و چپ موش با میکروسرنگ‌های  $26 \text{ gauge}$  تزریق می‌شدند.  $30$  دقیقه قبل از آزمایش، حیوان به تنهایی در استوانه شیشه‌ای ( $20 \text{ cm}$  قطر،  $25 \text{ cm}$  ارتفاع) که روی یک سطح شیشه‌ای قرار داشت، گذاشته می‌شدند. آینه‌ای با زاویه  $45^\circ$  زیر سطح شیشه‌ای گذاشته می‌شد تا بتوان پنجه حیوان را بطور دقیق مشاهده کرد. کل زمانی را که حیوان مشغول لیسیدن یا گاز گرفتن پنجه مورد تزریق است، در فاصله زمانی  $5-0$  و  $45-15$  دقیقه به عنوان معیاری از درد در نظر گرفته

آزمون فرمالین می‌تواند سبب افزایش حساسیت به درد ( $\text{hyperalgesia}$ ) در مغز شود [۷] و درد مشابه دردهای کلینیکی ایجاد کند [۶].

امروزه یکی از مشکلات عمده درمان، دردهای مختلف بخصوص دردهای مزمن و ادامه دار است که ناتوان کننده بوده و بیماران بسیاری از آن رنج می‌برند. بنابراین نیاز به تحقیق در زمینه ایجاد بی‌دردی از عمده نیازمندی‌ها می‌باشد و مطالعه اخیر برای سنجش اثر مغزی گیرنده‌های گابا روی مسیرهای درد و نقش گیرنده‌های اپیوئیدی، با استفاده از موش صحرایی و آزمون فرمالین انجام شده است.

## مواد و روش‌ها

۱- حیوانات مورد آزمایش - در این مطالعه از موش‌های صحرایی نژاد ویستار به وزن ( $250-200$  گرم) خریداری شده از مؤسسه پاستور، استفاده شده است. موش‌ها به تعداد  $5$  عدد در قفس‌هایی با ابعاد ( $45 \times 30 \times 15 \text{ cm}$ ) در دمای محیط  $23 \pm 2^\circ \text{C}$  و دوره روشنایی - تاریکی  $12$  ساعته نگهداری می‌شدند و آب و غذا به غیر از زمان آزمایش به میزان کافی در اختیار آنها قرار داشت. در آزمایش‌ها از گروه‌های  $8$  عددی رات استفاده شده است. هر حیوان یک بار آزمایش و بعد از آن فوراً کشته شده است.

۲- طریقه گذاشتن کانول - حیوانات توسط کتامین هیدروکلراید ( $50 \text{ mg/kg}$ ) همراه با زایلازین هیدروکلراید ( $4 \text{ mg/kg}$  رامپون) بیهوش شده و مجسمه آنان توسط دستگاه استریوتاکس (David Kopf Instrument) ثابت می‌گردید. کانول از جنس فولاد ضد زنگ ( $22 \text{ gauge}, 5 \text{ mm}$ ) در مغز قرار داده می‌شد. محل قرار دادن کانول از اطلس پاکسینوس بر اساس مختصات

می‌شود [۷، ۸].

۵- داروها - داروهای مورد استفاده شامل :

۱- موسیمول (سیگما، انگلستان)

۲- باکلوفن (سیبا گایگی، سوییس)

۳- بیکوکولین (+) (سیگما، انگلستان)

۴- CGP35348 (سیبا گایگی، سوییس)

۵- مرفین سولفات (تماد، ایران)

۶- نالوکسون هیدروکلراید (سیگما، آمریکا)

۷- کتامین هیدروکلراید (پارک دیویس، آمریکا)

۸- زایلازین هیدروکلراید (بایر، آلمان)

مرفین، موسیمول یا باکلوفن روی موش‌های صحرایی در آزمون فرمالین می‌باشد.

شکل A اثر تزریق داخل صفاقی مقادیر مختلف مرفین (۱، ۳، ۶ و ۹ mg/kg) در آزمون فرمالین را نشان می‌دهد. ANOVA یک طرفه نشان دهنده اثر ضد دردی القائی شده توسط مرفین در فاز اول [F(4,35)=44.9, P<0.0001] و در فاز دوم آزمون [F(4,35)=126.4, P<0.0001] می‌باشد بیشترین پاسخ ضد دردی در هر دو فاز توسط مقدار ۶ mg/kg مرفین به دست آمده است.

شکل B اثر تزریق داخل بطن مغزی مقادیر مختلف (۰/۵، ۱ و ۲ μg) موسیمول (آگونست گیرنده گابا A) در آزمون فرمالین را نشان می‌دهد. ANOVA یک طرفه نشان دهنده اثر ضد دردی موسیمول در فاز اول [F(3,28)=19.6, P<0.0001] و در فاز دوم آزمون [F(3,28)=31.9, P<0.0001] می‌باشد. بیشترین پاسخ ضد دردی در فاز اول با مقادیر (۱ و ۲ μg) و در فاز دوم با مقدار ۲ μg موسیمول ایجاد شده است.

شکل C پاسخ ضد دردی القاء شده توسط مقادیر مختلف (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ μg) باکلوفن (آگونست گیرنده گابا B) را نشان می‌دهد. ANOVA یک طرفه در فاز اول [F(3,28)=19.5, P<0.0001] و در فاز دوم آزمون [F(3,28)=29.4, P<0.0001] نشان دهنده اثر ضد دردی می‌باشد. بیشترین پاسخ در هر دو فاز با مقدار ۱ μg از دارو به دست آمده است.

همه داروها محلول در سالیین بودند به غیر از بیکوکولین که در (۱ ml) سالیین به علاوه قطره‌ای اسید استیک گلاسیال حل گردید. گروه‌های کنترل، سالیین و یا حامل دریافت کردند. آنتاگونیست‌ها ۱۰ دقیقه و آگونست‌ها ۵ دقیقه قبل از فرمالین تزریق شدند. تمام داروها داخل بطن جانبی راست مغز در حجم ۳ μl به غیر از مرفین که داخل صفاقی در حجم 5 ml/kg تزریق گردیدند.

۶- آنالیز آماری - مقایسه بین گروه‌های آزمایشی با ANOVA و متعاقب آن آزمون Newman-Keuls انجام شد. اختلاف با احتمال کمتر از ۰/۰۵ بین گروه‌های آزمایشی از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شده است. هر نقطه میانگین ± انحراف معیار ۸ موش مورد آزمایش است.

## نتایج

۱- اثرات ضد دردی مرفین و آگونست گیرنده‌های

گابا در آزمون فرمالین

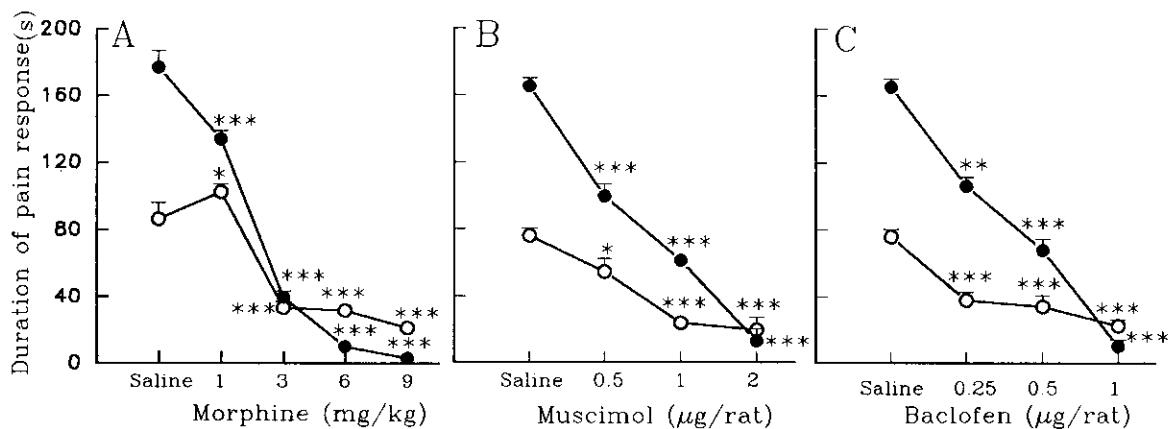
نمودار ۱ (A، B و C) نشان دهنده اثر بی دردی

۲- اثر آنتاگونیست گیرنده‌های گابا بر پاسخ بی دردی

حاصل از آگونست گیرنده‌های گابا در آزمون فرمالین

شکل ۲ اثر تزریق داخل بطن مغزی بیکوکولین

(آنتاگونیست گیرنده گابا A) را در مقادیر (۱ و ۲ μg) به



شکل ۱- اثر ضد دردی مقادیر مختلف مرفین، موسیمول و باکلوفن در آزمون فرمالین :

A - مقادیر (۱، ۳، ۶ و ۹ mg/kg) از مرفین داخل صفاقی، B - مقادیر (۰/۵ و ۱ و ۲ μg) از موسیمول به صورت تزریق داخل بطن جانبی مغز و C - مقادیر (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ μg) از باکلوفن به صورت تزریق داخل بطن جانبی مغز می‌باشند. اثرات ضد دردی بین ۵-۰ دقیقه (مرحله اول آزمون: ○) و ۴۵-۱۵ دقیقه (مرحله دوم آزمون: ●) بعد از تزریق فرمالین محاسبه شده است. هر نقطه میانگین ± انحراف معیار برای ۸ موش صحرایی می‌باشد.

\*  $P < 0/05$  ، \*\*  $P < 0/01$  ، \*\*\*  $P < 0/001$  تفاوت گروه‌ها از گروه کنترل که سالیین دریافت کرده‌اند.

می‌دهد. آنالیزهای بعدی نشان می‌دهد که CGP35348 به تنهایی اثر ضد دردی دارد و نیز باعث پاسخ ضد دردی باکلوفن در فاز اول می‌گردد.

۳- اثر آگونیست گیرنده‌های گابا در حضور آگونیست یا آنتاگونیست گیرنده مخدر در آزمون فرمالین

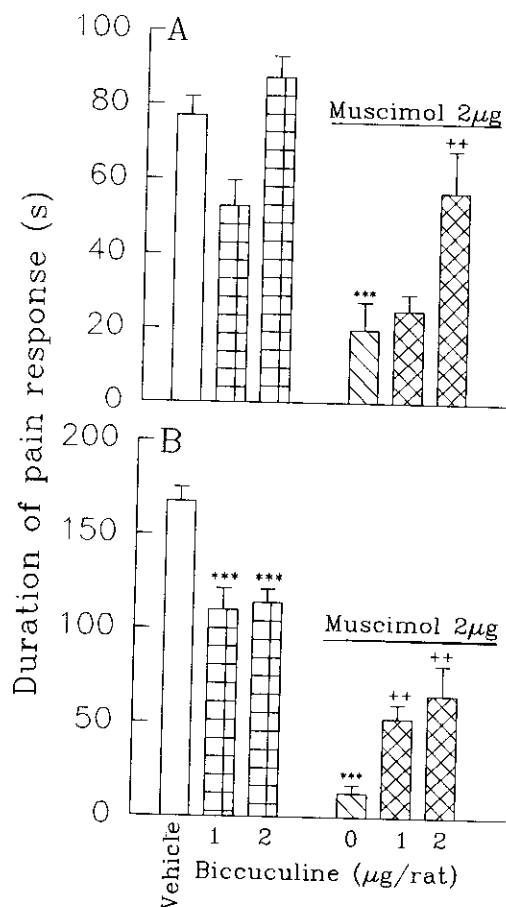
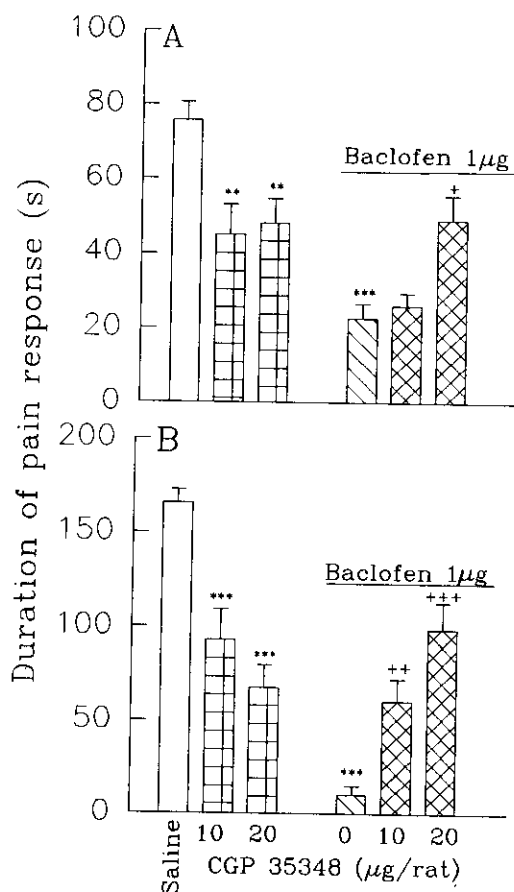
شکل ۴ اثر مقادیر مختلف موسیمول را به تنهایی یا در حضور مرفین نشان می‌دهد. ANOVA دو طرفه نشان دهنده تداخل میان تزریق داخل بطن مغزی مقادیر مختلف (۰/۵، ۱ و ۲ μg) موسیمول و مرفین داخل صفاقی ۳ mg/kg در فاز اول [F(3,56)=8.1,  $P < 0.0001$ ] و در فاز دوم [F(3,56)=12.7,  $P < 0.0001$ ] می‌باشد. آنالیزهای بیشتر نشان می‌دهد کمترین مقدار موسیمول پاسخ مرفین را در هر دو فاز آزمون فرمالین افزایش می‌دهد.

نشان می‌دهد. ANOVA دو طرفه تداخلی را میان پاسخ ایجاد شده توسط مقادیر مختلف بیکوکولین و موسیمول در فاز دوم آزمون نشان می‌دهد [F(2,42)=107.3,  $P < 0.0001$ ] ولی در فاز اول تداخل ندارد [F(2,42)=2.5,  $P > 0.05$ ]. آنالیزهای بعدی نشان می‌دهد که پاسخ ایجاد شده توسط موسیمول در فاز دوم توسط بیکوکولین کاهش می‌یابد و بیکوکولین به تنهایی اثر ضد دردی مشخص ندارد.

شکل ۳ اثر تزریق داخل بطن مغزی CGP35348 (آنتاگونیست گیرنده گابا B) را در مقادیر (۱۰ و ۲۰ μg) به تنهایی یا ۱۰ دقیقه قبل از باکلوفن ۱ μg در آزمون فرمالین نشان می‌دهد. ANOVA دو طرفه تداخلی را میان پاسخ تولید شده توسط باکلوفن و مقادیر مختلف CGP35348 در فاز اول [F(2,42)=11.2,  $P < 0.0001$ ] و در فاز دوم [F(2,42)=33.7,  $P < 0.0001$ ] نشان

مرفین داخل صفاقی (۳ mg/kg) را نشان می‌دهد. ANOVA دو طرفه نشان دهنده تداخل میان باکلوفن و

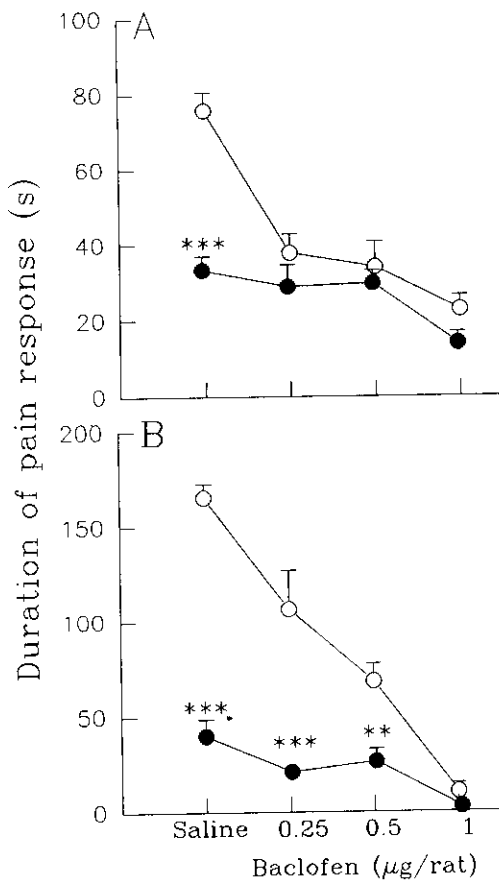
شکل ۵ - پاسخ تجویز داخل بطن مغزی مقادیر مختلف (۱/۵، ۱ و ۲۵ μg) باکلوفن به تنهایی یا در حضور



شکل ۳- اثر ضد دردی مقادیر مختلف CGP35348 (۱۰ و ۲۰ μg) به تنهایی یا در حضور باکلوفن (۱ μg) در آزمون فرمالین: مقادیر مختلف CGP35348، ۱۰ دقیقه قبل از باکلوفن و سالین (۳ μl) به صورت داخل بطن جانبی مغز تزریق شده‌اند. درد در فاصله ۵-۱۰ دقیقه (شکل A ۳)، مرحله اول) و ۴۵-۱۵ دقیقه (شکل B ۳، مرحله دوم) اندازه‌گیری شده است. هر نقطه میانگین ± انحراف معیار برای ۸ موش می‌باشد.  $P < 0.01$  \*\*,  $P < 0.001$  \*\*\* تفاوت گروه‌ها از گروه کنترل که سالین دریافت کرده‌اند.  $P < 0.05$  +,  $P < 0.01$  ++,  $P < 0.001$  +++ تفاوت گروه‌ها از گروه کنترل که باکلوفن دریافت کرده‌اند.

شکل ۴- اثر ضد دردی مقادیر مختلف بیوکولین (۱ و ۲ μg) به تنهایی یا همراه با موسیمول (۲ μg) در آزمون فرمالین: مقادیر مختلف بیوکولین ۱۰ دقیقه قبل از موسیمول و حامل (یک قطره اسید استیک گلاسیال در ۱ میلی‌لیتر سالین) به صورت داخل بطن جانبی مغز تجویز شده‌اند. درد در فاصله ۵-۱۰ دقیقه (شکل ۲A)، مرحله اول آزمون) و ۴۵-۱۵ دقیقه (شکل ۲B، مرحله دوم آزمون) بعد از تزریق فرمالین اندازه‌گیری شده است. هر نقطه میانگین ± انحراف معیار برای ۸ موش است.  $P < 0.001$  \*\*\* تفاوت گروه‌ها از گروه کنترل که حامل دریافت کرده‌اند.  $P < 0.01$  ++ تفاوت گروه‌ها از گروه کنترل که موسیمول دریافت کرده‌اند.

بعدی نشان دهنده افزایش اثر مرفین با کمترین مقدار باکلوفن در فاز دوم آزمون می‌باشد.



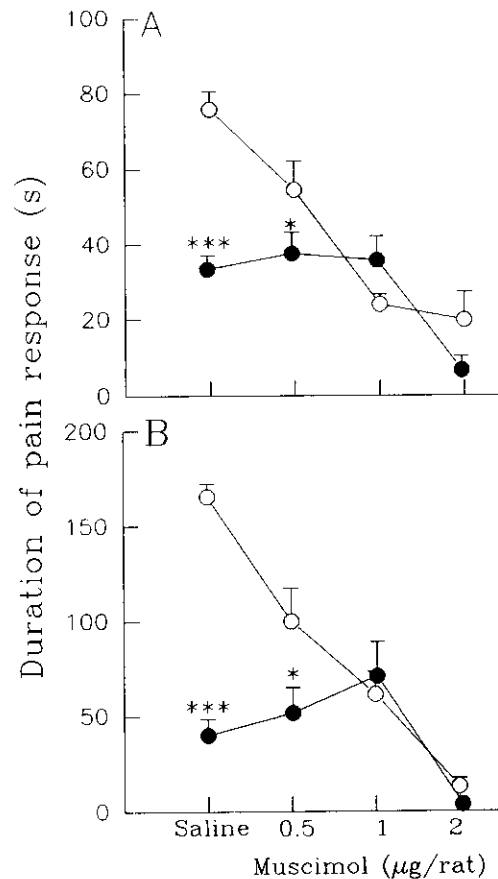
شکل ۵- اثر ضد دردی باکلوفن به تنهایی یا در حضور مرفین در آزمون فرمالین :

باکلوفن (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ μg)، ۵ دقیقه قبل از فرمالین به صورت داخل بطن مغزی و مرفین (۳ mg/kg) داخل صفاقی، ۱۵ دقیقه قبل از فرمالین تزریق شده اند. درد در فواصل ۵-۱۰ دقیقه (شکل A، مرحله اول) و ۴۵-۱۵ دقیقه (شکل B، مرحله دوم) محاسبه شده است. هر نقطه میانگین ± انحراف معیار ۸ موش است.

(○) مقادیر مختلف باکلوفن تنها) و (●) مقادیر مختلف باکلوفن همراه با مرفین (۳ mg/kg)

باکلوفن می‌باشد.  $P < 0.01$  \*\*,  $P < 0.001$  \*\*\* تفاوت گروه‌ها از گروه کنترل

مرفین در فاز اول [F(3,56)=6.99, P<0.0001] و در فاز دوم [F(3,56)=15.1, P<0.0001] است. تحلیل‌های



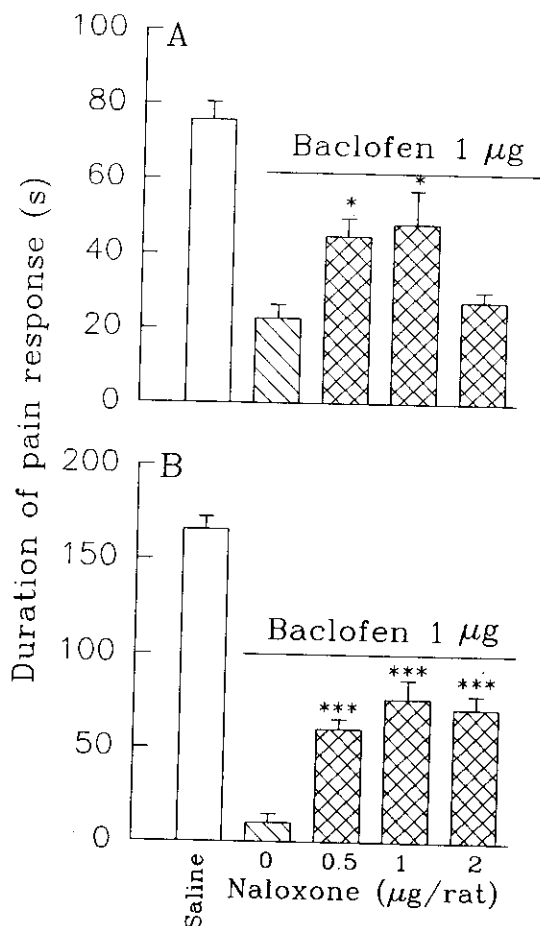
شکل ۴- اثر ضد دردی موسیمول به تنهایی یا در حضور مرفین در آزمون فرمالین :

مرفین (۳ mg/kg) به صورت داخل صفاقی، ۱۵ دقیقه قبل از فرمالین تزریق شده است. موسیمول (۰/۵ و ۱ μg) به صورت داخل بطن مغز ۵ دقیقه قبل از فرمالین تزریق شده است. درد در فاصله ۵-۱۰ دقیقه (شکل A، مرحله اول) و ۴۵-۱۵ دقیقه (شکل B، مرحله دوم) اندازه گیری شده است. هر نقطه میانگین ± انحراف معیار ۸ موش است.

(○) مقادیر مختلف باکلوفن تنها) و (●) مقادیر مختلف باکلوفن همراه با مرفین (۳ mg/kg)

موسیمول می‌باشد.  $P < 0.01$  \*\*,  $P < 0.001$  \*\*\* تفاوت گروه‌ها از گروه کنترل

شکل ۷ پاسخ تزریق داخل بطن مغزی باکلوفن (۱ μg) به تنهایی یا در حضور مقادیر مختلف داخل بطن مغزی (۰/۵ و ۱ و ۲ μg) نالوکسون می‌باشد. ANOVA یک طرفه اختلاف مشخصی میان پاسخ به باکلوفن به تنهایی و باکلوفن همراه با نالوکسون در فاز اول [F(4,35)=14.99, P<0.0001] و در فاز دوم [F(4,35)=61.6, P<0.0001] نشان می‌دهد. تحلیل‌های

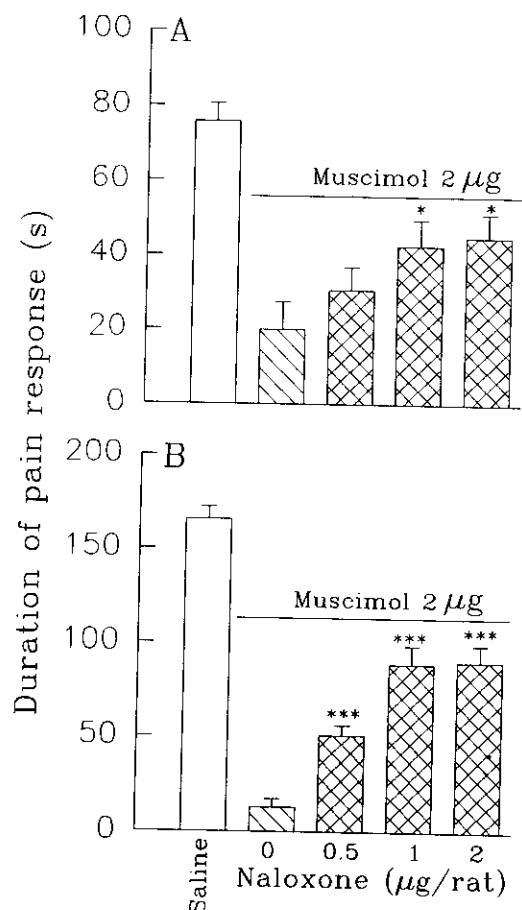


شکل ۷- تأثیر نالوکسون بر اثر ضد دردی ناشی از باکلوفن در آزمون فرمالین :

نالوکسون با مقادیر (۰/۵ و ۱ و ۲ μg)، ۱۰ دقیقه قبل از باکلوفن (۱ μg) به صورت داخل بطن مغز تزریق شده‌اند. درد در فواصل ۵-۰ دقیقه (شکل ۷ A، مرحله اول) و ۱۵-۵ دقیقه (شکل ۷ B، مرحله دوم) اندازه گیری شده است. هر نقطه میانگین ± انحراف معیار ۸ موش بعد از تزریق باکلوفن می‌باشد.

تفاوت گروه‌ها از گروه کنترل باکلوفن می‌باشد. \* P< ۰/۰۵, \*\*\* P< ۰/۰۰۱

شکل ۶ اثر تزریق داخل بطن مغزی موسیمول (۲ μg) به تنهایی یا در حضور تزریق داخل بطن مغزی مقادیر مختلف (۰/۵ و ۱ و ۲ μg) نالوکسون نشان می‌دهد. ANOVA یک طرفه در فاز اول [F(4,35)=10.6, P<0.0001] و در فاز دوم [F(4,35)=59.9, P<0.0001] نشان دهنده کاهش پاسخ موسیمول توسط نالوکسون به صورت وابسته به مقدار می‌باشد.



شکل ۶- اثر نالوکسون بر بی دردی ناشی از موسیمول در آزمون فرمالین :

نالوکسون با مقادیر (۰/۵ و ۱ و ۲ μg)، ۱۰ دقیقه قبل از موسیمول (۲ μg) به صورت داخل بطن مغز تجویز شده‌اند. درد در فواصل ۵-۰ دقیقه (شکل ۶ A، مرحله اول) و ۱۵-۵ دقیقه (شکل ۶ B، مرحله دوم) اندازه گیری شده است. هر نقطه میانگین ± انحراف معیار ۸ موش بعد از تجویز موسیمول می‌باشد.

تفاوت گروه‌ها از گروه کنترل موسیمول می‌باشد. \* P< ۰/۰۵, \*\*\* P< ۰/۰۰۱

غیر از این دو گروه گیرنده محل اتصال سومی به نام گابا C نیز مشخص شده که شبیه گیرنده‌های گابا می‌باشد اما بیکوکولین روی آن اثر ندارد [۱۴].

اطلاعات ما نشان می‌دهد پاسخ ضد دردی موسیمول، آگونیسست گیرنده گابا A [۴] در مرحله دوم آزمون توسط بیکوکولین آنتاگونیسست گیرنده گابا A [۲۱] کاهش می‌یابد و می‌توان نتیجه گرفت که اثر ضد دردی موسیمول در مرحله دوم آزمون از طریق گیرنده گابا A وساطت می‌گردد در حالیکه اثر ضد دردی دارو در مرحله اول آزمون می‌تواند از طریق مکانیسم‌های دیگری القاء شده باشد.

دردهای مختلف نوروپاتیک مزمن نسبت به آگونیسست گابا B حساسیت نشان داده‌اند [۱]. چنین دردهای عصبی به نظر می‌رسد بر اساس تغییراتی در اعصاب اوران بوجود آیند و پاسخ‌های ناشی از جراحات فوری نمی‌باشند (برای مثال آزمون فرمالین). اطلاعات ما نشان می‌دهد اثر ضد دردی باکلوفن (آگونیسست گیرنده گابا B) [۴] توسط CGP35348 (آنتاگونیسست گیرنده گابا B) [۱۶] در هر دو مرحله از آزمون فرمالین کاهش می‌یابد. باکلوفن در دردهای ناشی از ضایعات نخاعی نیز تأثیر داشته است [۱۹]. مناطق مختلف مغزی در بی‌دردی ناشی از تحریک گیرنده گابا A مهم است ولی در مورد اثر ضد دردی باکلوفن هم مناطق مغزی و هم نخاعی مهم هستند [۱۴].

بر اساس اثر آگونیسست‌های گابا (احتمالاً از طریق عملکرد پیش سیناپسی) روی اعصاب اوران کوچک، تحریکات مرحله اول آزمون فرمالین کاهش می‌یابد در حالیکه بر اساس اعمال مهارتی گابا در نخاع می‌توان پیش‌بینی کرد عوامل مؤثر روی گیرنده‌های گابا A و گابا B بتوانند تحریکات مرحله دوم آزمون فرمالین را نیز

بعدی بیانگر آن است که نالوکسون اثر ضد دردی باکلوفن را کاهش می‌دهد.

## بحث

آزمون فرمالین مدلی از تحریک مغزی درد در جوندگان می‌باشد که نخستین بار توسط Dennis و Dubuisson تعریف شده است [۸]. تزریق زیر پوستی محلول رقیق فرمالین به یکی از پاهای عقب جوندگان پاسخ دو مرحله‌ای را ایجاد می‌کند که مرحله اول آن با درد شدید کوتاه مدت از مرحله دوم آن که تحریکات ادامه دار است، توسط یک مرحله کوتاه بینابینی مشخص می‌شود [۱۱]. آزمون فرمالین جهت ایجاد درد مشابه دردهای کلینیکی بهتر از دیگر روش‌های ایجاد درد از قبیل آزمون‌های tail-flick یا hot-plate می‌باشد [۶]. در مطالعه حاضر تزریق داخل صفاقی مرفین و یا تزریق مغزی موسیمول یا باکلوفن در هر دو مرحله آزمون فرمالین موجب بی‌دردی شده است. از آنجائیکه اثر ضد دردی هر دو نوع گیرنده گابا از طریق تجویز مغزی بوجود آمده است، بنابراین به نظر می‌رسد پاسخ ضد دردی از طریق مکانیسم‌های مغزی ایجاد شده باشد. پیش از این نیز پاسخ‌های ضد دردی گیرنده‌های گابا گزارش شده بود [۱۹]. همچنین اثرات ضد دردی موسیمول و باکلوفن در آزمون‌های گوناگون از قبیل tail-flick, arthritis, writhing, hot-plate و shock titration قبلاً نشان داده شده است [۱۳].

ترکیبات گابا‌ترژیک می‌توانند با گیرنده‌های مختلف گابا به نام‌های گابا A و گابا B واکنش دهند [۱۵]. گیرنده گابا A مستقیماً با کانال‌های کلر مرتبط است در حالیکه گیرنده گابا B از طریق پروتئین و پیامبر ثانویه با کانال‌های کلسیم و پتاسیم متصل است [۳]. به



آمده است.

شواهدی وجود دارد دال بر این که فعالیت گیرنده‌های اپیوئیدی  $\mu$  مستقیماً فعالیت اعصاب گابائوترژیک (از جمله اعصاب درگیر در اثر ضددردی مغزی اپیوئیدی) را در مغز تنظیم می‌نماید. در مقابل گیرنده‌های اپیوئیدی دلتا به صورت غیر مستقیم فعالیت اعصاب گابائوترژیک را تنظیم می‌نمایند [۱۲]. مطالعه دیگری نشان داده است که تزریقات میکرواز بیکوکولین به داخل ماده خاکستری اطراف قنات سیلویوس (PAG) منجر به کاهش پاسخ عصب نسبت به گرما می‌گردد و توسط آنتاگونیست‌های انتخابی گیرنده اپیوئیدی  $\mu$  و نالوکسون اثر بیکوکولین بر عکس می‌شود [۵]. برای روشن شدن تداخل میان گیرنده‌های اپیوئیدی با مکانیسم‌های گیرنده گابا A یا گابا B تجارب بیشتری مورد نیاز است.

کاهش دهند. در عین حال تداخل گابا با سیستم‌های فعال مهار (مثلاً اعصاب بینابینی مهار کننده) می‌تواند سبب تسهیل پاسخ شود [۷]. در مطالعه حاضر CGP35348 سبب پاسخ بی‌دردی شده است. اثر ضد دردی این دارو در آزمون فرمالین قبلاً نیز نشان داده شده است [۱۷]. آنتاگونیزه کردن گیرنده‌های پیش سیناپسی گابا B احتمالاً سبب آزاد شدن گابا می‌شود [۲] بنابراین اثر ضددردی CGP35348 احتمالاً به این دلیل می‌باشد. مطالعات ما نشان دهنده آن است که موسیمول و باکلوفن در مقادیر کمتر، پاسخ مرفین را افزایش می‌دهند. این یافته با مطالب دیگران در مورد تقویت اثر ضد دردی مرفین توسط باکلوفن در دردهای پس از جراحی، توافق دارد [۱۰]. استفاده از نالوکسون در مقابل موسیمول و باکلوفن در آزمون فرمالین منجر به کاهش اثر آگونیست‌های گابا شده است بنابراین حداقل قسمتی از پاسخ ضددردی آگونیست‌های گابا از طریق گیرنده‌های اپیوئیدی بوجود

### منابع

- [1] Anghinah, R., Oliveria, A.S. and Gabbai, A.A., Effect of baclofen on pain in diabetic neuropathy (Letter), *Muscle Nerve*, 17 (1994) 958-959.
- [2] Bittiger, H., Froestl, W., Hall, R., Karlsson, G., Klebs, K. and et al. Biochemistry, electrophysiology and pharmacology of a new GABA<sub>B</sub> antagonist: CGP35348. In: N.G., Bowery, H., Bittiger, and H.R., Olpe (Eds.) *GABA<sub>B</sub> receptors in mammalian function*, Wiley, London, (1990) 47-60
- [3] Bormann, J., Electrophysiology of GABA<sub>A</sub> and GABA<sub>B</sub> receptor subtypes, *Trends Neurosci.* 11 (1988) 112-116.
- [4] Bowery, N.G., Price, G.W., Hudson, A.L., Hill, D.R., Wilkin, G.P. and Turnbull, M.J., GABA receptor multiplicity: Visualization of different receptor types in the mammalian *Neuropharmacology*, 23 (1984) 219-231.
- [5] Budai D. and Fields H.L., Endogenous opioid peptides acting at mu-opioid receptors in the dorsal horn contribute to midbrain modulation of spinal nociceptive neurons, *J. Neurophysiol.*, 79 (1998) 677-678.
- [6] Clavelou P., Radhouane D., Thierry O., Alain W. and Patrich R., The orofacial formalin test in rat, effect of different formalin concentrations, *Pain*, 62 (1995) 295-301.
- [7] Dirig D.M. and Yaksh T.L., Intrathecal Baclofen and Muscimol, but not Midazolam, are antinociceptive using the rat-formalin model, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 275 (1995) 219-227.
- [8] Dubuisson, D. and Dennis, S.G., The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats, *Pain*, 4 (1977) 161-174.

- [9] Enna, S.J., GABA receptors. In: S.G. Enna (Ed.), *The GABA receptors*, Human Press, Clifton, New Jersey, (1983) 1-23.
- [10] Gordon, N.C., Gear, R.W., Heller, P.H., Paul, S., Miaskowski, C. and Levine, J.D., Enhancement of morphine analgesia by the GABA<sub>B</sub> agonist baclofen, *Neurosci.*, 69 (1995) 345-349.
- [11] Jett, M.F. and Michelson, S., The formalin test in rat: Validation of an automated system, *Pain*, 64 (1996) 19-25.
- [12] kalyuzhny A.E. and Wessendorf M.W., Relationship of mu- and delta-opioid receptors to GABAergic neurons in the central nervous system, including antinociceptive brain stem circuits, *J. Comp. Neurol.*, 392 (1998) 528-547.
- [13] Levy, R.A. and Proudfit, H.K., The analgesic action of baclofen *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 202 (1977) 437-445.
- [14] Malcangio, M. and Bowery, N.G., GABA and its receptors in the spinal cord, *Trends Pharmacol. Sci.*, 17 (1996) 457-462.
- [15] Obrietan, K. and Van Den Pol, A.N., GABA<sub>B</sub> receptors-mediated inhibition of GABA<sub>A</sub> receptor calcium elevations in developing hypothalamic neurons, *J. Neurophysiol.*, 79 (1998) 1360-1370.
- [16] Olpe, H.R., Karlsson, G., Pozza, M.F., Brugger, F., Steinmann, N., and et al. CGP35348: a centrally active blocker of GABA<sub>B</sub> receptors, *Eur. J. Pharmacol.*, 187 (1990) 27-38.
- [17] Sabetkasai, M., Khansefid, N., Yahyavi, S.H. and Zarrindast, M.R., Baclofen and antidepressant-induced antinociception in formalin test: possible GABA<sub>B</sub> mechanism involvement *Psychopharmacology*, 142 (1999) 426-431.
- [18] Sakatani, K., Chesler, M. and Hassan, A.Z., GABA<sub>A</sub> receptors modulate axonal conduction in dorsal columns of neonatal rat spinal cord, *Brain Res.*, 542 (1991) 273-279.
- [19] Sawynok, J., GABAergic mechanisms of analgesia: an update, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 26 (1987) 463-474.
- [20] Szabat, E., Sojnila, S., Happola, O., Linnala, A. and Virtanen, I., A new monoclonal antibody against the GABA-protein conjugate shows immunoreactivity in sensory neurons of the rat., *Neuroscience*, 47 (1992) 409-420.
- [21] Ticku, M.K. and Maksay, G., Convulsant/depressant site of action at the allosteric benzodiazepine-GABA receptor-ionophore complex, *Life Sci.*, 33 (1983) 2363-2375.