



Effect of intracerebroventricular injection of baclofen and CGP35348 on pain sensitivity during the estrous cycle

Mahnaz Taherianfard^{1*}, Mahdi Fazeli², Farzad Saremi³, Hooman Bozorgi³

1. Dept. Physiology, School of Vet. Med. Shiraz University, Shiraz, Iran

2. Dept. Pharmacology, School of Vet. Med. Shiraz University, Shiraz, Iran

3. Graduate of School of Vet. Med. Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 10 Jun 2008

Revised: 4 Jan 2009

Accepted: 21 Jan 2009

Abstract

Introduction: In female rats sensitivity to antinociceptive treatment varies during different stages of the estrous cycle. The role of GABA through GABA_B receptor in nociception has been established. The aim of the present study is to investigate the effect of intracerebroventricular injection of GABA_B receptor agonist (baclofen) and GABA_B antagonist (CGP35348) on pain sensitivity during different stages of the estrous cycle.

Methods: Forty adult female rats weighing 200-220 g were used. Rats were maintained on 12 h reversed light/dark cycle, and standard temperature $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Food and water were available ad libitum. Pain sensitivity was evaluated by formalin test, performed by subcutaneous injection of 50 μl formalin solution (2.5%) into the hind paw in each stage of the estrous cycle. Data were analyzed by two-way ANOVA and Tukey test as post-hoc test. The level of significance was $P < 0.05$.

Results: Our data showed that baclofen significantly decreased pain sensitivity in all stages of estrous cycle ($P < 0.05$). The analgesic effect of baclofen was significantly higher during metestruse and diestruse as compared to proestruse and estrus ($P < 0.05$). CGP35348 significantly increased pain sensitivity in all stages of estrous cycle ($P < 0.05$). The hyperalgesic effect of CGP35348 was significantly lower during metestruse and diestruse than proestruse and estrus ($P < 0.05$). Administration of baclofen in pretreated rats with CGP35348 did not induce any significant change in pain sensitivity ($P > 0.05$).

Conclusion: We have demonstrated that GABA through GABA_B receptor can modulate pain sensitivity during the estrous cycle.

Keywords: GABA; Pain; Baclofen; CGP35348; Estrous cycle.

* Corresponding author e-mail: taherian@shirazu.ac.ir

Available online @: www.phypha.ir/ppj

اثر تزریق داخل بطن مغزی باکلوفن و CGP ۳۵۳۴۸ بر حساسیت به درد در مراحل مختلف سیکل استروس

مهناز طاهریانفرد^{۱*}، مهدی فاضلی^۲، فرزاد صارمی^۳، هومن بزرگی^۳

۱. بخش فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز

۲. بخش فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز

۳. دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز

دریافت: ۲۰ خرداد ۸۷ بازبینی: ۱۴ دی ۸۷ پذیرش: ۱ بهمن ۸۷

چکیده

مقدمه: در موش صحرایی ماده حساسیت به درد به مرحله سیکل جنسی بستگی دارد. نقش گابا از طریق گیرنده $GABA_B$ در کنترل تجربی درد بررسی شده است. لذا هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تزریق داخل بطن مغزی آگونیست $GABA_B$ (باکلوفن) و آنتاگونیست $GABA_B$ (CGP ۳۵۳۴۸) بر حساسیت به درد در مراحل مختلف سیکل استروس می‌باشد.

روش‌ها: ۴۰ موش صحرایی ماده با وزن ۲۲۰-۲۰۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت. موش‌های صحرایی در سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت استاندارد 22 ± 2 درجه سانتیگراد نگهداری شدند و غذا و آب آزادانه در اختیار آنها بود. حساسیت به درد توسط تست فرمالین ارزیابی گردید. تست فرمالین با تزریق ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد در پای عقبی حیوان در هر یک از مراحل سیکل استروس انجام شد. داده‌ها توسط Two ways ANOVA measuring و تست تشخیصی Tucky بررسی شدند. سطح معنی‌داری، $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: داده‌ها نشان داد که باکلوفن در تمام مراحل مختلف سیکل استروس بطور معنی‌داری باعث کاهش حساسیت به درد شد ($P < 0/05$). بی‌دردی حاصل از باکلوفن در مراحل مت استروس و دای استروس در مقایسه با مراحل پرواستروس و استروس بطور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0/05$). CGP ۳۵۳۴۸ در مراحل مختلف سیکل استروس بطور معنی‌داری باعث افزایش حساسیت به درد شد ($P < 0/05$). پردردی حاصل از CGP ۳۵۳۴۸ در مراحل مت استروس و دای استروس در مقایسه با مراحل پرواستروس و استروس بطور معنی‌داری کمتر بود ($P < 0/05$). با بکار بردن توام باکلوفن و CGP ۳۵۳۴۸ تغییرات معنی‌داری در حساسیت به درد در هیچکدام از مراحل مختلف سیکل استروس مشاهده نگردید ($P > 0/05$).

نتیجه‌گیری: تحقیق حاضر نشان می‌دهد که گابا می‌تواند از طریق گیرنده $GABA_B$ حساسیت به درد را در ضمن سیکل استروس تنظیم کند.

واژه‌های کلیدی: گابا؛ درد؛ باکلوفن؛ CGP ۳۵۳۴۸؛ سیکل استروس.

مقدمه

از عوامل محرک بوجود می‌آید. این حس مکانیسم دفاعی بدن است که هر زمان بافتی دچار آسیب شود فرد را وادار می‌سازد که از خود واکنش نشان دهد و محرک مولد درد را از میان بردارد. درجه واکنش هر فرد نسبت به درد متغیر است. این امر تا حدودی ناشی از توانایی مغز برای کنترل پیام‌های ورودی به سیستم عصبی توسط فعال کردن یک سیستم کنترل درد

درد یک حس نامطلوب است که تحت تأثیر دامنه وسیعی

taherian@shirazu.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

مواد و روش‌ها

۴۰ سر موش صحرایی ماده بالغ از نژاد Sprague Dawley به وزن ۲۲۰-۲۰۰ گرم تهیه و در شرایط نوری استاندارد ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و درجه حرارت 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. حیوانات آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند.

تعیین سیکل استروس در موش صحرایی ماده به روش سیتولوژی: از ترشحات واژنی نمونه‌گیری گردید. نمونه بدست آمده زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰ مشاهده و سپس بر طبق نوع سلولها مطابق با فرانس [۱۸] مراحل مختلف سیکل استروس تشخیص داده شد.

نحوه جراحی و کانول گذاری در مغز حیوان: موش‌ها توسط داروی نمبوتال با دوز ۴۵ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن هوش بری شده و پس از تراشیده شدن سر، در دستگاه استرنوتاکسی قرار گرفتند. جراحی بر اساس اطلس استرنوتاکس [۲۹]، انجام و کانول راهنما در بطن جانبی قرار داده شد؛ یک هفته بعد از جراحی آزمایشات شروع شد. بعد از خاتمه آزمایش، برای اطمینان از صحت کانول گذاری، ۲ میکرو لیتر رنگ کریستال ویولت از طریق کانولای راهنما تزریق گردید، پس از کشتن حیوان با دوز بالای اتر، مغز جدا شده و در فرمالین ده درصد قرار گرفت. پس از یک هفته از مغز برش‌های نازکی تهیه گردید و در صورت صحت قرار گرفتن کانولای راهنما در بطن مغزی از نتایج مربوط به حیوان مورد نظر استفاده می‌گردید.

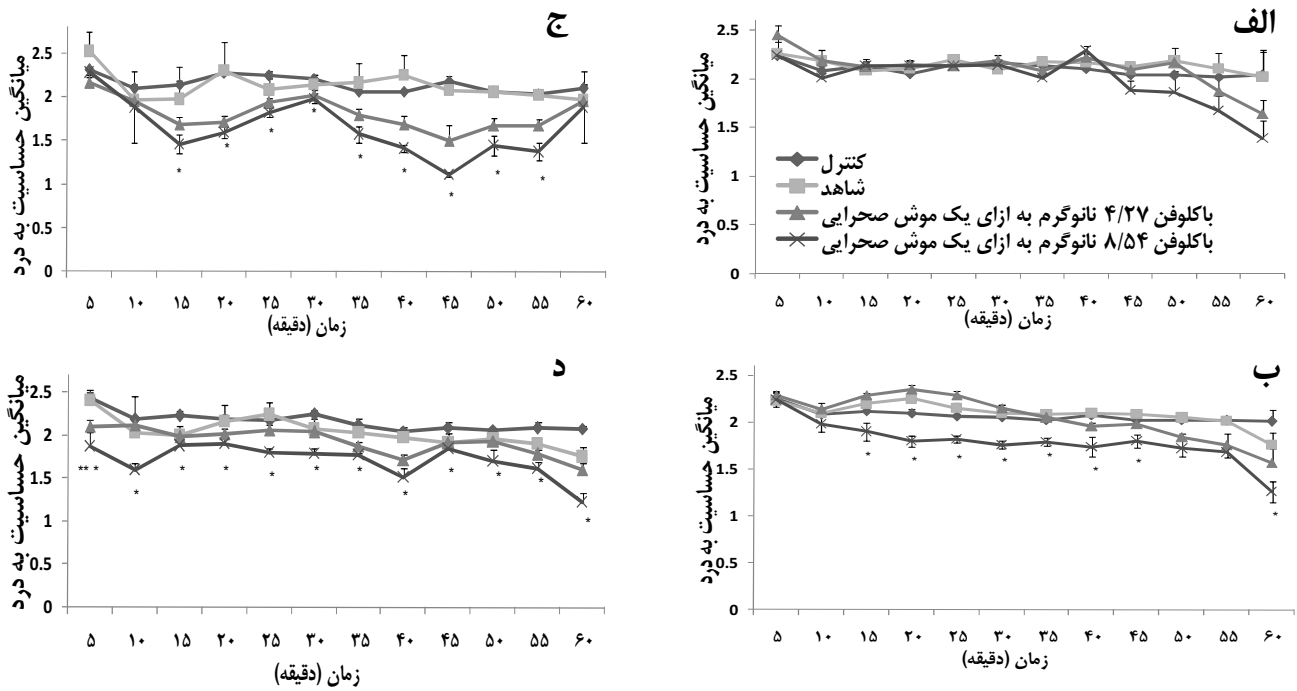
آزمون فرمالین: ۵۰ میکرو لیتر فرمالین ۲/۵ درصد به ناحیه قدامی کف پای خلفی، در فاصله انگشتان کف پا بصورت زیر جلدی تزریق گردید. حیوان در یک قفس به طول، عرض و ارتفاع ۳۰ سانتی متر قرار گرفت، که در زیر قفس آن یک آینه با زاویه ۴۵ درجه جهت مشاهده رفتار حیوان قرار داشت و رفتارهای حیوان هر ۱۵ ثانیه یک بار بمدت ۶۰ دقیقه ثبت و نمره گذاری شد. رفتارهای دردناک که عبارت از لیسیدن و گاز گرفتن و تکان دادن پای تزریق شده بود با نمره ۳+؛ رفتارهای درد متوسط شامل بالا نگه داشتن پای تزریق شده؛ بنحوی که هیچگاه با کف قفس تماس پیدا نکند با نمره ۲+؛ رفتاری که پای حیوان در تماس مختصری با کف قفس قرار داشت با نمره ۱+ و رفتاری که حیوان وضعیت عادی داشت با نمره صفر

موسوم به سیستم ضد درد (Analgesic system) می‌باشد [۱۷].

مطالعات زیادی بر روی تفاوت احساس درد بین دو جنس نر و ماده انجام شده که تفاوت احساس و تحمل درد را در دو جنس نر و ماده تأیید می‌کند [۹، ۱۰، ۱۲، ۱۶]. تفاوت‌های جنسی در خواص ضد دردی داروها در انسان و حیوانات گزارش شده، که این تفاوت‌ها را به هورمون‌های جنسی می‌توان نسبت داد [۱۳، ۲۳، ۲۸، ۳۰]. همچنین اختلاف آستانه درد در مراحل مختلف سیکل استروس، زمان بارداری، زایمان و شیردهی بیانگر تفاوت در حس درد در مراحل مختلف زندگی جنس ماده است [۱۰]. گرچه میزان و مکانیسم هورمون‌های تخمدانی بر روی شدت درد هنوز مشخص نشده است، ولی به نظر می‌رسد که آنها در کنترل درد با گیرنده‌های داخل سلولی باند نشده، بلکه به گیرنده‌های گابا متصل می‌شوند و این پدیده مکانیسم دیگری از کنترل درد را برای این هورمون‌ها پیشنهاد می‌کند. Frye و همکاران گزارش کردند که پروژسترون و متابولیت‌های مختلف آن اثرات متفاوتی بر حس درد دارند. بطوریکه بعضی از متابولیت‌ها از جمله 3α hydroxyl- 5α pregnan-20-one باعث افزایش حساسیت به درد شده و بعضی دیگر از متابولیت‌ها مثل 7α Progesterone تأثیری بر درد نداشتند و اثرات از طریق گیرنده گابا می‌باشد [۱۵].

از طرفی گابا که عمده‌ترین واسطه شیمیایی مهارتی موجود در مغز می‌باشد، از طریق دو گیرنده $GABA_A$ و $GABA_B$ حساسیت به درد را تنظیم می‌کند. گابا در غشاء پیش سیناپسی با گیرنده $GABA_B$ متصل می‌گردد و با مهار کانال‌های وابسته به ولتاژ یون کلسیم ترشح گابا را متوقف می‌کند [۲۵]. گیرنده $GABA_B$ در بخش‌هایی از سیستم عصبی در غشاء پس سیناپسی نیز وجود دارد که اتصال گابا باعث فعال کردن کانال‌های پتاسیمی و در نتیجه مهار پس سیناپسی می‌شود [۴].

هدف مطالعه حاضر بررسی اثر آگونیست گیرنده $GABA_B$ (باکوفن) و آنتاگونیست گیرنده $GABA_B$ (CGP 35348) بر حساسیت به درد در مراحل مختلف سیکل استروس در موش صحرایی ماده می‌باشد.



شکل ۱- اثر باکلوپن بر میزان حساسیت به درد در الف- مرحله پرواستروس ب- مرحله استروس ج- مرحله مت استروس د- مرحله دای استروس سیکل استروس * معنی داری باکلوپن دوز ۵ میکروگرم به ازای یک موش صحرایی نسبت به کنترل و شاهد ** معنی داری باکلوپن دوز ۳ میکروگرم به ازای یک موش صحرایی نسبت به کنترل و شاهد

مغزی تزریق و آزمون فرمالین در مراحل مختلف سیکل استروس بعد از تزریق داروها انجام گرفت. در تمام گروه‌های آزمایشی قبل از تست فرمالین نمونه‌گیری واژنی انجام و مراحل سیکل استروس تعیین گردید. در ضمن تزریق دارو یا مایع مغزی- نخاعی مصنوعی ۲۰ دقیقه قبل از شروع تست فرمالین انجام گرفت.

روش‌های آماری: برای بررسی حساسیت به درد در مراحل مختلف سیکل استروس و زمان‌های ۱۲ گانه و گروه‌های مختلف از Two ways ANOVA measuring و تست تشخیصی Tucky استفاده گردید. مقادیر ذکر شده در شکل‌ها بر اساس میانگین \pm خطای معیار و سطح معنی داری، $P < 0.05$ در نظر گرفته شدند.

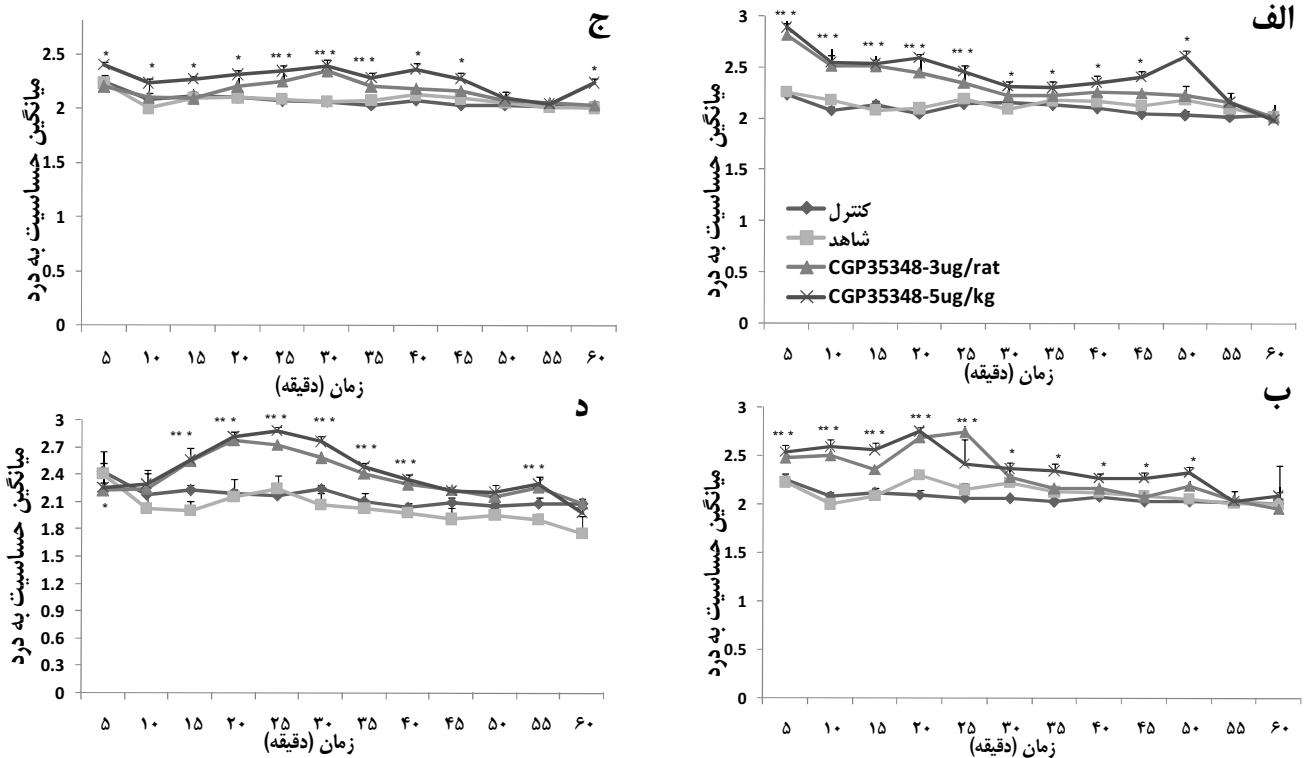
یافته‌ها

در مرحله پرواستروس باکلوپن در فاز ۱ و ۲ تست فرمالین و در دو دوز مورد مطالعه تغییر معنی داری نسبت به گروه کنترل و شاهد ایجاد نکرد ($P > 0.05$) (شکل ۱).

در مراحل استروس و مت استروس بدنبال تجویز باکلوپن در فاز یک تست فرمالین در دو دوز مورد مطالعه تغییر معنی داری

مشخص گردیدند. میانگین تغییرات مشاهده شده در هر ۵ دقیقه در بررسی آماری بعنوان اعداد خام مورد استفاده قرار گرفت.

گروه‌های مورد آزمایش: در این تحقیق حیوانات در ۵ گروه مورد بررسی قرار گرفتند که و در گروه کنترل و شاهد ۵ حیوان و در سایر گروه‌ها ۱۰ حیوان یعنی هر دوز دارو ۵ حیوان مورد استفاده قرار گرفت. ۱- گروه کنترل، حیوانات بدون تزریق که در مراحل مختلف سیکل استروس آزمون فرمالین در آنها انجام گرفت. ۲- گروه شاهد، پس از تزریق ۲ میکرو لیتر مایع مغزی نخاعی مصنوعی بصورت داخل بطن مغزی در مراحل مختلف سیکل استروس آزمون فرمالین انجام گرفت. ۳- گروه آزمایشی ۱، پس از تزریق ۲ میکرو لیتر باکلوپن با دوزهای ۴/۲۵ و یا ۸/۵۴ نانوگرم بازای یک موش صحرایی بصورت داخل بطن مغزی آزمون فرمالین در مراحل مختلف سیکل استروس انجام گرفت. ۴- گروه آزمایشی ۲، پس از تزریق ۲ میکرو لیتر CGP۳۵۳۴۸ با دوزهای ۳ و یا ۵ میکروگرم بازای یک موش صحرایی بصورت داخل بطن مغزی آزمون فرمالین در مراحل مختلف سیکل استروس انجام گرفت. ۵- گروه آزمایشی ۳، ۲ میکرو لیتر باکلوپن با دوز ۸/۵ نانوگرم بازای یک موش صحرایی ده دقیقه بعد از تجویز ۲ میکرو لیتر CGP ۳۵۳۴۸ با دوزهای ۳ و یا ۵ میکروگرم بازای یک موش صحرایی بصورت داخل بطن



شکل ۲- اثر CGP ۳۵۳۴۸ بر میزان حساسیت به درد در الف- مرحله پرواستروس ب- مرحله استروس ج- مرحله مت استروس د- مرحله دای استروس سیکل استروس * معنی داری CGP ۳۵۳۴۸ دوز ۵ میکروگرم به ازای یک موش صحرایی نسبت به کنترل و شاهد ** معنی داری CGP ۳۵۳۴۸ دوز ۳ میکروگرم به ازای یک موش صحرایی نسبت به کنترل و شاهد

پردردی ناشی از CGP ۳۵۳۴۸ در هر دو دوز و در فاز یک و دو تست فرمالین در مراحل مت استروس و دی استروس بطور معنی داری نسبت به مراحل پرواستروس و استروس کمتر بود ($P < 0.05$).

بکار بردن باکلوفن با دوز ۸/۵ نانوگرم بازای یک موش صحرایی بعد از CGP ۳۵۳۴۸ در دو دوز ۳ و ۵ میکروگرم بازای یک موش صحرایی در مراحل مختلف سیکل استروس تغییر معنی داری در حساسیت به درد ایجاد نکرد، در واقع CGP ۳۵۳۴۸ اثر بی پردردی باکلوفن را خنثی کرد ($P > 0.05$) (شکل ۳).

بحث

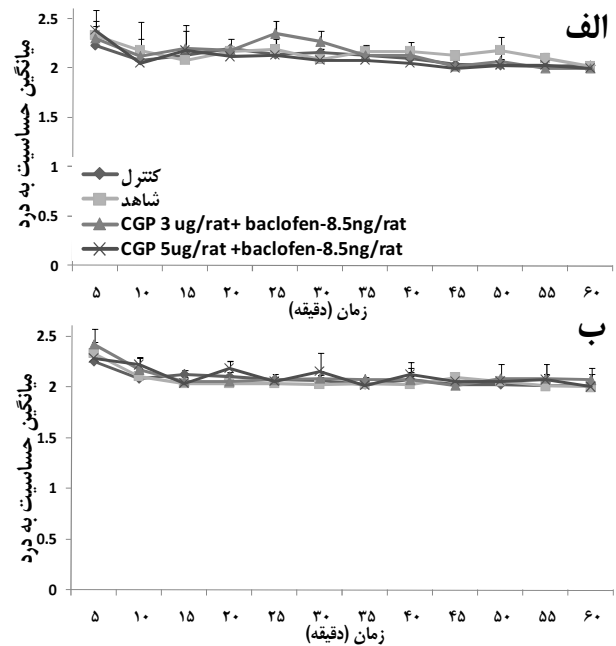
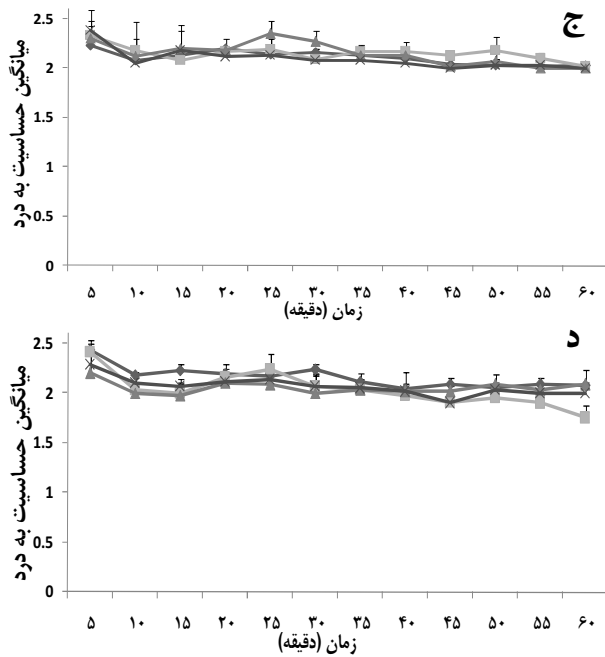
باکلوفن اغلب بعنوان داروی موثر برای برطرف کردن اسپاسم بکار می رود، ولی در کنار این اثر گاهی این آگونیست $GABA_B$ در مدل حیوانی بعنوان ضد درد بکار گرفته می شود. یکی از اثرات مهم باکلوفن اثرات ضد پردردی از طریق مهار ترشح گلوتامات و کنترل درد است (۳).

نسبت به گروه کنترل و شاهد مشاهده نگردید ($P > 0.05$). در حالی که در فاز دو تست فرمالین با دوز ۸/۵ نانوگرم بازای یک موش صحرایی کاهش معنی داری در حساسیت به درد نسبت به گروه کنترل و شاهد دیده شد ($P < 0.05$) (شکل ۱).

در مرحله دی استروس باکلوفن در فاز یک تست فرمالین در دو دوز مورد مطالعه، کاهش معنی دار در حساسیت به درد نسبت به گروه کنترل ایجاد کرد ($P < 0.05$). در فاز دو تست فرمالین باکلوفن با دوز ۸/۵ نانوگرم بازای یک موش صحرایی سبب کاهش معنی داری در حساسیت به درد نسبت به گروه کنترل و شاهد گردید ($P < 0.05$) (شکل ۱).

بی پردردی حاصل از باکلوفن در هر دو دوز و در فاز یک و دو تست فرمالین در مراحل مت استروس و دی استروس بطور معنی داری نسبت به مراحل پرواستروس و استروس بیشتر بود ($P < 0.05$).

در مراحل پرواستروس، استروس، مت استروس و دای استروس در فاز یک و دو تست فرمالین، CGP ۳۵۳۴۸ در دوز مورد مطالعه باعث افزایش معنی داری در حساسیت به درد نسبت به گروه کنترل و شاهد شد ($P < 0.05$) (شکل ۲).



شکل ۳- اثر توام باکلوفن و CGP ۳۵۳۴۸ بر میزان حساسیت به درد در الف- مرحله پرواستروس ب- مرحله استروس ج- مرحله مت استروس د- مرحله دای استروس سیکل

استفاده از باکلوفن انجام دادند، نشان دادند که اثرات ضددردی باکلوفن بعلت فعالیت دارو بر روی جایگاه‌های نخاعی و فوق نخاعی صورت می‌پذیرد. گیرنده $GABA_B$ با فعال کردن پروتئین G باعث افزایش فعالیت کانال‌های پتاسیمی یکطرفه به سمت داخل سلول یا کاهش فعالیت کانال‌های کلسیم می‌شود. آنها دلیل پایین آمدن فعالیت ضد دردی باکلوفن را در موش‌های نر جهش یافته فاقد $GIRK_2$ چنین بیان کردند که این نتایج احتمالاً بعلت بسته شدن مسیر پس سیناپسی گیرنده‌های $GABA_B$ است. در حالیکه در موش‌های ماده جهش یافته این اثر ضددردی در شرایط فقدان $GIRK_2$ نیز دیده می‌شود، که بنظر می‌رسد این فعالیت از طریق واسطه‌های پیش سیناپسی گیرنده‌های $GABA_B$ و تنظیم کانال‌های کلسیم با کانال‌های دیگر $GIRK$ میسر می‌شود [۵]. Loscher و همکاران نشان دادند که در موش‌های فاقد $GIRK_2$ تا حدودی فعالیت متداول پس سیناپسی بوسیله باکلوفن انجام می‌گیرد. این فعالیت باقیمانده را می‌توان به وجود زیرواحدهای کانال‌های $GIRK_3$ به تنهایی یا توام با $GIRK_1$ نسبت داد [۲۴].

Kangra و همکاران گزارش کردند اثر ضددردی باکلوفن بعلت فعالسازی گیرنده‌های $GABA_B$ موجود در قسمت‌های پیش سیناپسی و پس سیناپسی نورون‌ها است. وظیفه این گیرنده‌ها مهار انتقال پیام تحریکی در طول شاخ پستی نخاع

در این تحقیق باکلوفن در مراحل مختلف سیکل استروس باعث بی‌دردی شد. Wilson و همکاران در سال ۱۹۷۸ با استفاده از آزمایش تلنگر دمی و صفحه داغ در موش صحرایی اثر بی‌دردی باکلوفن را نشان دادند [۳۲]. Aran و Hammond در سال ۱۹۹۱ پیشنهاد کردند که یکی از مکانیسم‌های ممکن در مورد باکلوفن برای ایجاد اثر ضددردی مهار ترشح نوروترانسمیترهای محرک از فیبرهای آوران اولیه است [۲]. Patel و همکاران اعلام کردند که مصرف تک دور باکلوفن بصورت زیرجلدی یا داخل نخاعی اثرات دردزای مکانیکی نوروپاتی را کم می‌کند ولی تأثیری بر روی اثرات دردزای مکانیکی التهابی ندارد [۲۷]. France و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش کردند که بالا رفتن آستانه تحریک درد به وسیله باکلوفن کاملاً وابسته به دوز است و همچنین مشخص کردند که باکلوفن یک آگونیست اختصاصی برای گیرنده‌های هپتاهلیکال $GABA_B$ است. آنها اعلام کردند که این حالت وابسته به دوز بعلت عدم وجود یک حالت اشباع در مورد نورون‌های گابارژیک است. در نتیجه در کنار کاهش میزان نورون‌های گابارژیک یا جایگاه‌های اتصال با دارو، ممکن است فاکتورهای دیگری نقش مهمی در ایجاد اثر ضددردی باکلوفن داشته باشند [۱۴]. در تحقیقی که Blednov و همکاران در سال ۲۰۰۳ بر روی موش‌های نر جهش یافته فاقد $GIRK_2$ با

نشان دادند؛ که این عملکرد تا حدودی به عملکرد داروهای ضدافسردگی شباهت دارد [۲۰]. Malan و همکاران در سال ۲۰۰۲ گزارش کردند، کاربرد داخل نخاعی آنتاگونیست‌های گیرنده‌های $GABA_B$ مانند فالكوفن در موش‌های صحرایی طبیعی باعث ایجاد آلودینای لامسه‌ای و افزایش درد وابسته به حرارت می‌گردد. این اثرات بعلت کاهش عملکرد گابا است. کاهش عملکرد گیرنده‌های $GABA_B$ باعث می‌شود فرد در مقابل آستانه تحریکی مکانیکی و گرمایی پایین‌تری واکنش نشان دهد [۲۵]. Bowery در سال ۲۰۰۶ اعلام کرد، اطلاعات مربوط به آنتاگونیست‌های گیرنده‌های $GABA_B$ نشان داده‌اند این داروها می‌توانند دارای فعالیت اصلاح حافظه، فعالیت ضدافسردگی و ضد تشنج باشند. ایشان نشان داد که این داروها اصولاً تشنج‌زا هستند ولی دوزی از این داروها که می‌تواند بصورت ضد تشنج عمل کند، اختلاف زیادی با دوز تشنج‌زای آنها دارد [۶].

Diring و همکاران در سال ۱۹۹۵ اعلام کردند که بکارگیری هر کدام از آنتاگونیست‌های $GABA_A$ یا $GABA_B$ به تنهایی نمی‌تواند اثر افزایشی در فعالیت‌های اعصاب انتقال دهنده درد نشان دهد [۱۱]. در مطالعه حاضر با به کار بردن باکولون در دوز ۸/۵ نانوگرم بازای یک موش صحرایی بعد از CGP ۳۵۳۴۸ در دوز ۳ و ۵ میکروگرم بازای یک موش صحرایی تغییر معنی داری در حساسیت به درد مشاهده نشد، که بنظر میرسد که بکار بردن CGP ۳۵۳۴۸ قبل از باکولون اثرات ضد دردی باکولون را بطور کامل از بین می‌برد. Bittiger و همکاران در سال ۱۹۹۳ از داروی CGP ۳۵۳۴۸ بعنوان آنتاگونیست رقابتی گیرنده‌های $GABA_B$ به صورت داخل نخاعی استفاده کرده و این کار باعث مهار اثر ضددردی باکولون شد [۴]. همچنین وقتی Hammond و همکاران CGP ۳۵۳۴۸ را ۵ دقیقه قبل از استعمال باکولون استفاده کردند، یک کاهش شدید در فعالیت مهارتی باکولون بر فیبرهای عصبی $A\delta$ و C مشاهده کردند [۱۹]. Stringer و همکاران در سال ۱۹۹۱ اعلام کردند بکارگیری CGP ۳۵۳۴۸ باعث از بین بردن اثر باکولون در مهار انتقال پالس می‌شود [۳۱]. در سال ۲۰۰۰ Ataka و همکاران اعلام کردند که اثر مهارتی باکولون بر روی فیبرهای C بیشتر از فیبرهای $A\delta$ است. شاید دلیل این امر اختلاف در تعداد گیرنده‌های $GABA_B$ در این دو نقطه باشد.

است. آنها با سنجش میزان اثر باکولون در دو منطقه پیش‌سیناپسی و پس‌سیناپسی اثبات کردند که گیرنده‌های پیش‌سیناپسی از اهمیت بیشتری نسبت به گیرنده‌های پس‌سیناپسی برخوردار است. در همین تحقیق آنها نشان دادند که باکولون باعث مهار انتقال پیامهای تحریکی برخاسته از ریشه پشتی در نورون‌های شاخ پشتی نخاع می‌شود. اگرچه مشخص نیست میزان این فعالیت در کدامیک از فیبرهای عصبی $A\delta$ یا C بیشتر است [۲۲]. Bowery و همکاران پیشنهاد کردند ممکن است اثر ضددردی باکولون بر اساس فعالیت گیرنده‌های $GABA_B$ موجود در پایانه اعصاب آوران واقع در لایه دو قابل تفسیر باشد [۷].

در تحقیق حاضر اثرات بی‌دردی باکولون در دو دوز مورد مطالعه در مراحل مت‌استروس و دای‌استروس نسبت به پرواستروس و استروس بیشتر بود. بنابراین می‌توان بیان کرد که در مرحله فولیکولار باکولون اثر بی‌دردی کمتری نسبت به مرحله لوتتال داشته است، در این راستا al-Dahan و همکاران اعلام کردند که میزان اتصال باکولون به گیرنده‌های $GABA_B$ در کورتکس مغز موش در مراحل مختلف سیکل استروس متفاوت است و میزان باند شدن در مرحله استروس کمتر از سایر مراحل است [۱].

Concas و همکاران نشان دادند که تغییر در تراکم گیرنده‌های $GABA$ ارتباط مستقیم با تغییرات فیزیولوژیکی در غلظت پلاسمایی پروژسترون و متابولیت‌های آن دارد [۸]. Herbison و همکاران در سال ۱۹۹۵ نشان دادند که نوسان مقطعی سطح mRNA باعث تغییر در میزان انتقال دهنده‌های گابا می‌شود [۲۱].

CGP ۳۵۳۴۸ تقریباً در تمام مراحل مختلف سیکل استروس باعث افزایش حساسیت به درد شد. در سایر مطالعاتی که بر روی اثر CGP ۳۵۳۴۸ انجام شده بود، اکثر مطالعات بررسی اثر این دارو بر خنثی کردن باکولون بود و مطالعات خیلی کمی در خصوص اثر مستقیم CGP ۳۵۳۴۸ بر درد وجود داشت.

Marescaux و همکاران در سال ۱۹۹۲ اعلام کردند آنتاگونیست‌های گیرنده‌های $GABA_B$ باعث ایجاد حمله‌های ناگهانی عصبی می‌شوند [۲۶]. Heese و همکاران در سال ۲۰۰۰ نقش آنتاگونیست‌های گیرنده‌های $GABA_B$ در افزایش سطح فاکتور رشد نورون و فاکتورهای نوروتروپیک مغزی را

گیرنده‌های $GABA_B$ در مرحله فولیکولار نسبت به مرحله لوتئال کمتر است، بنابراین آگونیست $GABA_B$ اثرات خود را بهتر نشان می‌دهد.

با توجه به اینکه در مراحل مختلف سیکل جنسی میزان اتصال گابا با گیرنده $GABA_B$ متفاوت است، بنظر میرسد که تغییر در هورمون‌های جنسی جریان خون باعث تغییر در عملکرد گیرنده $GABA_B$ می‌شود. لذا در این تحقیق اثرات باکلوفن در مرحله لوتئال و اثرات $CGP\ 35348$ در مرحله فولیکولار بیشتر است.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله، بدین وسیله تقدیر و تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه شیراز که تحقیق حاضر را از جهت مالی حمایت کرده است، ابراز می‌دارند.

آنها نتوانستند مشخص کنند که اثر $CGP\ 35348$ از طریق کدام یک از دو نوع فیبر اعمال می‌شود [۳]. بکارگیری فاکلوفن بعنوان یک آنتاگونیست قبل از باکلوفن باعث شد اثرات باکلوفن بر روی آلودینیای لامسه‌ای بصورت ناقص کاهش یابد، ولی با استفاده از $SCH50911$ بعنوان یک آنتاگونیست اختصاصی نشان داده شد که این اثرات باکلوفن بصورت کامل مهار می‌شوند. شاید این مسئله بعلت ناقص بودن خاصیت آنتاگونیستی فاکلوفن برای باکلوفن است [۲۵].

در تحقیق حاضر $CGP\ 35348$ در مراحل پرواستروس و استروس نسبت به مراحل متاستروس و دای استروس پر دردی بیشتری را نشان داد. با توجه به این موضوع می‌توان اینگونه نتیجه گرفت که $CGP\ 35348$ در دو دوز مورد مطالعه در مرحله فولیکولار از سیکل جنسی تأثیر بیشتری بر میزان افزایش حساسیت به درد دارد و در مرحله لوتئال تأثیر آن ناچیز است. بر طبق نظر $al-Dahan$ و همکاران میزان اتصال گابا به

References

- [1] al-Dahan MI, Jalilian Tehrani MH, Thalmann RH, Regulation of gamma-aminobutyric acidB (GABAB) receptors in cerebral cortex during the estrous cycle. *Brain Res* 640 (1994) 33-39.
- [2] Aran S, Hammond DL, Antagonism of baclofen-induced antinociception by intrathecal administration of phaclofen or 2-hydroxy-saclofen, but not delta-aminovaleric acid in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 257 (1991) 360-368.
- [3] Ataka T, Kumamoto E, Shimoji K, Yoshimura M, Baclofen inhibits more effectively C-afferent than Adelta-afferent glutamatergic transmission in substantia gelatinosa neurons of adult rat spinal cord slices. *Pain* 86 (2000) 273-282.
- [4] Bittiger H, Froestl W, Mickel S, Olpe HR, GABA_B receptor antagonists: from synthesis to therapeutic applications. *Trends Pharmacol Sci* 14 (1993) 391-394.
- [5] Blednov YA, Stoffel M, Alva H, Harris RA, A pervasive mechanism for analgesia: activation of GIRK2 channels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 (2003) 277-282.
- [6] Bowery NG, GABA_B receptor: a site of therapeutic benefit. *Curr Opin Pharmacol* 6 (2006) 37-43.
- [7] Bowery NG, Hudson AL, Price GW, GABAA and GABAB receptor site distribution in the rat central nervous system. *Neuroscience* 20 (1987) 365-383.
- [8] Concas A, Mostallino MC, Porcu P, Follesa P, Barbaccia ML, Trabucchi M, Purdy RH, Grisenti P, Biggio G, Role of brain allopregnanolone in the plasticity of gamma-aminobutyric acid type A receptor in rat brain during pregnancy and after delivery. *Proc Natl Acad Sci USA* 95 (1998) 13284-13289.
- [9] Craft RM, Sex differences in opioid analgesia: "from mouse to man". *Clin J Pain* 19 (2003) 175-186.
- [10] Dawson-Basoa M, Gintzler AR, Gestational and ovarian sex steroid antinociception: synergy between spinal kappa and delta opioid systems. *Brain Res* 794 (1998) 61-67.
- [11] Dirig DM, Yaksh TL, Intrathecal baclofen and muscimol, but not midazolam, are antinociceptive using the rat-formalin model. *J Pharmacol Exp Ther* 275 (1995) 219-227.
- [12] Fillingim RB, Sex differences in analgesic responses: evidence from experimental pain models. *Eur J Anaesthesiol Suppl* 26 (2002) 16-24.
- [13] Fillingim RB, Ness TJ, Sex-related hormonal influences on pain and analgesic responses. *Neurosci Biobehav Rev* 24 (2000) 485-501.
- [14] Franek M, Vaculin S, Rokyta R, GABA(B) receptor agonist baclofen has non-specific antinociceptive effect in the model of peripheral neuropathy in the rat. *Physiol Res* 53 (2004) 351-355.
- [15] Frye CA, Van Keuren KR, Rao PN, Erskine MS, Analgesic effects of the neurosteroid 3 alpha-androstanediol. *Brain Res* 709 (1996) 1-9.
- [16] Gaumond I, Arsenault P, Marchand S, The role of sex hormones on formalin-induced nociceptive responses. *Brain Res* 958 (2002) 139-145.
- [17] Guyton AC, Hall JE, *Text book of Medical physiology*. Philadelphia: Elsevier Saunder 2005 .p. 598-607.
- [18] Hafez ESE, *Reproduction and Breeding techniques for laboratory animals*. New York: Raven 1970, p. 299-315.
- [19] Hammond DL, Washington JD, Antagonism of L-baclofen-induced antinociception by CGP 35348 in the spinal cord of the rat. *Eur J Pharmacol* 234 (1993) 255-262.
- [20] Heese K, Otten U, Mathivet P, Raiteri M, Marescaux C, Bernasconi R, GABA(B) receptor antagonists elevate both mRNA and protein levels of the neurotrophins nerve growth factor (NGF) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) but not neurotrophin-3 (NT-3) in brain and spinal cord of rats. *Neuropharmacology* 39 (2000) 449-462.
- [21] Herbison AE, Augood SJ, Simonian SX, and Chapman C, Regulation of GABA transporter activity and mRNA expression by estrogen in rat preoptic area. *J Neurosci* 15 (1995) 8302-8309.
- [22] Kangrga I, Jiang MC, Randic M, Actions of (-)-baclofen on rat dorsal horn neurons. *Brain Res* 562 (1991) 265-275.
- [23] Kayser V, Berkley KJ, Keita H, Gautron M, Guilbaud G, Estrous and sex variations in vocalization thresholds to hindpaw and tail pressure stimulation in the rat. *Brain Res* 742 (1996) 352-354.
- [24] Loscher W, Wahnschaffe U, Rundfeldt C, Honack D, Hoppen HO, Regional alterations in brain amino acids during the estrous cycle of the rat. *Neurochem Res* 17 (1992) 973-977.
- [25] Malan TP, Mata HP, Porreca F, Spinal GABA(A) and GABA(B) receptor pharmacology in a rat model of

- neuropathic pain. *Anesthesiology* 96 (2002) 1161-1167.
- [26] Marescaux C, Vergnes M, Bernasconi R, GABAB receptor antagonists: potential new anti-absence drugs. *J Neural Transm Suppl* 35 (1992) 179-188.
- [27] Patel S, Naeem S, Kesingland A, Froestl W, Capogna M, Urban L, Fox A, The effects of GABA(B) agonists and gabapentin on mechanical hyperalgesia in models of neuropathic and inflammatory pain in the rat. *Pain* 90 (2001) 217-226.
- [28] Sarton E, Olofsen E, Romberg R, den Hartigh J, Kest B, Nieuwenhuijs D, Burm A, Teppema L, Dahan A, Sex differences in morphine analgesia: an experimental study in healthy volunteers. *Anesthesiology* 93 (2000) 1245-1254.
- [29] Skinner JE, *Neuroscience: A laboratory manual*. Philadelphia: Saunders 1971, p. 195-237.
- [30] Stock HS, Caldarone B, Abrahamsen G, Mongeluzi D, Wilson MA, Rosellini RA. Sex differences in relation to conditioned fear-induced enhancement of morphine analgesia. *Physiol Behav* 72 (2001) 439-447.
- [31] Stringer JL, Lorenzo N, The reduction in paired-pulse inhibition in the rat hippocampus by gabapentin is independent of GABA(B) receptor activation. *Epilepsy Res* 33 (1999) 169-176.
- [32] Wilson PR, Yaksh TL, Baclofen is antinociceptive in the spinal intrathecal space of animals. *Eur J Pharmacol* 51 (1978) 323-330..