

تأثیر تجویز بیکوکولین پس از القای درد بر تعداد نورون‌های چندشکلی ناحیه پارابراکیال مغز موش‌های صحرائی

مهسا کمالی^{1,2}، کاظم جوانمردی³

چکیده

زمینه و هدف: هسته پارابراکیال مغز، در جنبه‌های شناختی و احساسی درد نقش مهمی دارد. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر مهارتی بیکوکولین به‌عنوان یکی از آنتاگونیست‌های گیرنده گابا A، بر تراکم عددی نورون‌های چندشکلی ناحیه پارابراکیال در موش‌های صحرائی نر بالغ در مدل درد تونیک بود.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، از تعداد 40 سر موش صحرائی نر بالغ از نژاد ویستار در محدوده وزنی 250-350 گرم استفاده شد. حیوانات بر اساس القا یا عدم القای درد، به 8 گروه مساوی (n=5) تقسیم گردیدند. حیوانات گروه‌های تجربی، بیکوکولین را با دوزهای 50، 100 و 200 نانوگرم/رت دریافت نمودند. با استفاده از تکنیک استریوتاکسی، بیکوکولین به ناحیه پارابراکیال مغز موش‌ها تزریق گردید. در این مطالعه، از آزمون فرمالین برای القای درد استفاده گردید؛ سپس برای بررسی بافت‌شناسی سلول‌های چندشکلی، از رنگ‌آمیزی گیمسا استفاده شد. داده‌های به‌دست‌آمده، با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نوبرایش 14) و با کمک آزمون‌های آماری t-student و One Way ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق بیکوکولین در دوزهای مختلف، بدون القای درد تأثیری بر تعداد سلول‌های چندشکلی در هسته پارابراکیال مغز حیوانات در مقایسه با گروه‌های کنترل نداشت ($P>0/05$). علاوه بر این، تعداد سلول‌های چندشکلی در هسته پارابراکیال گروه دریافت‌کننده بیکوکولین با دوز 50 نانوگرم/رت همراه با القای درد نیز نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌داری نداشت ($P>0/05$). با این وجود، در مقایسه با گروه کنترل، تعداد این سلول‌ها در حیوانات گروه‌های القای درد و دریافت‌کننده بیکوکولین با دوزهای 100 و 200 نانوگرم/رت، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل پیدا کرد ($P<0/05$).
نتیجه‌گیری: تحریکات دردها، سبب بروز تغییر در تعداد نورون‌های چندشکلی در هسته پارابراکیال می‌شود و استفاده از آنتاگونیست گیرنده گابا A در دوزهای بالا می‌تواند سبب جلوگیری از تغییر شکل نورونی در این بخش از مغز گردد. این نتایج می‌تواند بازگوکننده اثر بیکوکولین در کاهش احساس درد باشد.

واژه‌های کلیدی: ناحیه پارابراکیال، بیکوکولین، نورون چندشکلی، آزمون فرمالین، گیرنده گابا A

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. 1394؛ 22 (3): 229-237.

دریافت: 1394/02/03 پذیرش: 1394/06/18

¹ نویسنده مسؤل؛ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد چهرم، چهرم، ایران
آدرس: فارس - چهرم - میدان چمران - بلوار رضوان - دانشگاه آزاد اسلامی واحد چهرم
تلفن: 071-54336701 پست الکترونیکی: mhs.kamali@gmail.com
² باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد چهرم، فارس، ایران
³ استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

مقدمه

درد عمدتاً یک مکانیسم حفاظتی برای بدن است و زمانی ایجاد می‌شود که بافت‌ها آسیب دیده باشند؛ بدین ترتیب درد، شخص را وادار به واکنش برای برداشتن محرک دردزا می‌کند (1). درد به وسیله انواع متعددی از محرک‌ها که هیچ‌گونه وجه مشترکی با هم ندارند، نظیر: تحریک مکانیکی بافت، دمای بالا، Ph پایین، مواد شیمیایی (مثل مواد فعال‌کننده عصبی که در هنگام جراحت رها می‌شود) و محلول‌های هیپر اسموتیک ایجاد می‌شود (2). با توجه به تعدد محرک‌های ایجادکننده درد، پیچیدگی مکانیسم‌های ایجاد، هدایت و احساس درد و اینکه درد شایع‌ترین شکایت بالینی بیماران است، هنوز هم یافتن راه‌های غلبه بر درد مورد توجه محققان علوم زیستی در جهان می‌باشد. واضح است که انجام مطالعاتی در زمینه شناخت مراکز پردازش درد و گیرنده‌های مؤثر در این فرآیند، تأثیرات زیادی در جهت کاهش و تسکین درد بیماران و تولید داروهایی با اختصاصیت بالا خواهد داشت. درد به دو صورت حاد و مزمن خود را نشان می‌دهد که در هر دو حالت، مشکلاتی را به وجود می‌آورد که می‌تواند به‌عنوان یک عامل محدودکننده یا ناتوان‌کننده، مانع از انجام فعالیت‌های روزمره شود (3). درد حاد، ناشی از یک صدمه سریع و ناگهانی در یک عضو است که با از بین رفتن عامل ایجادکننده آن، درد هم از بین می‌رود. در حالی که درد مزمن، طولانی‌مدت بوده و ناشی از صدمه ایجادشده در طی زمان طولانی است که عوارض آن صدمه منجر به درد، مزمن می‌شود و تا عارضه باقی است، درد هم وجود دارد (3). در طی یک بررسی به‌عمل آمده توسط انجمن درد آمریکا، در این کشور حدود پنجاه میلیون نفر در سنین مختلف از درد، رنج می‌برند که برای کنترل کردن درد آنها، بیش از 100 میلیون دلار لازم است (4).

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

موسوم به سیستم ضد درد می‌باشد (5).

ناحیه پارابراکیال¹، در ناحیه خلفی جانبی ساقه مغز، در محل اتصال پل مغزی (در زیر مخچه) و مزانسفال (در زیر کالیکولوس تحتانی) قرار گرفته است. در حقیقت یک قسمت از پارابراکیال به داخل مزانسفال گسترش یافته و قسمت دیگر در پل مغزی قرار دارد (6، 7). دو ناحیه در پارابراکیال در بروز اعمال این ناحیه، از اهمیت بیشتری برخوردار است: یکی ناحیه جانبی پارابراکیال است که پیام‌های دردآور را از لایه‌ی یک شاخ خلفی نخاع دریافت می‌کند؛ دیگری ناحیه میانی پارابراکیال است که در حس چشایی نقش داشته و در قسمت میانی و قدامی نسبت به پایک مخچه‌ای فوقانی قرار گرفته است (7، 8). این ناحیه میانی پارابراکیال در بروز بعضی از پاسخ‌های سیستم اتونوم به‌خصوص پاسخ‌های سیستم اتونوم در هنگام درد نقش دارد. بسیاری از آوران‌هایی که از لایه یک و دو شاخ خلفی نخاع منشأ می‌گیرند، به این ناحیه میانی پارابراکیال ختم می‌شوند (9، 10).

بررسی‌ها نشان می‌دهند که گابا² در بروز بسیاری از اعمال ناحیه پارابراکیال نقش دارد. در بررسی‌های قبلی، نشان داده شده است که مهار گیرنده‌های گابا A در ناحیه پارابراکیال، سبب افزایش فعالیت نورونی در تالاموس می‌شود. علاوه بر این، به نظر می‌رسد که فعالیت نورونی در ناحیه پارابراکیال، تحت کنترل شدید نورون‌های گاباژریک می‌باشد. این‌گونه نورون‌ها در مناطقی از مغز که ورودی‌های خود را به ناحیه پارابراکیال می‌رسانند، به میزان زیادی یافت می‌شوند (11).

میزان استفاده از داروهای آنتاگونیست سیستم گاباژریک در کنترل درد، به دلیل ایجاد عوارض جانبی، محدودیت دارد. این مسئله شاید به خاطر پراکندگی زیاد گیرنده‌های گابا در مناطق مختلف مغزی و عملکردهای متفاوت آن در بخش‌های مختلف مغزی باشد؛ از سوی دیگر، مهار این

¹ Parabrachial area

² GABA: Gamma-Aminobutyric Acid

گیرنده‌ها با استفاده از داروهای مهارکننده گیرنده‌های گابا، در مناطقی از مغز می‌تواند اتفاق افتد که در کنترل درد نقش ندارند (12). بنابراین به نظر می‌رسد که شناسایی مناطق اختصاصی از مغز که در کنترل درد توسط سیستم گاباژئیک نقش دارند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این نوع بررسی‌ها می‌تواند زمینه‌سازی برای مطالعات آینده در نظر گرفته شود؛ به طوری که بتوان بدون ایجاد عوارض جانبی، به کنترل درد توسط داروهای گاباژئیک پرداخت.

با توجه به نقش اساسی شناخته‌شده هسته پارابراکیال در تعدیل درد، در این مطالعه به بررسی اثر بیکوکولین - به عنوان آنتاگونیست اختصاصی گیرنده گابا A - بر تراکم عددی نورون‌های چندشکلی در ناحیه پارابراکیال مغز موش‌های صحرایی نر در مدل درد تونیک پرداخته شد.

روش تحقیق

این مطالعه تجربی، بر روی 40 سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با محدوده وزنی 250 تا 350 گرم انجام شد. موش‌ها از حیوان‌خانه بخش فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی فسا تهیه شده و در طول دوره آزمایش در همان مکان نگهداری شدند. موش‌ها در تمام طول دوره آزمایش، در دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و در چرخه نوری 12 ساعت تاریکی و 12 ساعت روشنایی و در شرایط دسترسی آزاد به غذا و آب، قرار داشتند.

ابتدا موش‌ها به 8 گروه مساوی مطابق با جدول یک، تقسیم شدند. در ابتدای آزمایش، تمامی موش‌ها صحرایی بعد از توزین، با استفاده از داروی پنتوباریتال (40-55 میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند؛ سپس حیوانات به روی دستگاه استریوتاکسی منتقل و با شکافتن پوست سر، محل‌های برگما و لامبدا جمع‌هم آنها مشخص گردید. برای پیدا کردن نقطه مورد نظر و مختصات سه‌بعدی هسته پارابراکیال، از اطلس پاکسینوس - واتسون استفاده شد (8.8 mm caudal ، 2 mm lateral to و 7 mm below

جدول 1- نحوه گروه‌بندی حیوانات

آزمون	تزریق	گروه	آزمون
فرمالین	بیکوکولین		
-	-	کنترل	آزمون 1 (بدون القای درد)
-	+	تجربی 1	
-	+	تجربی 2	
-	+	تجربی 3	آزمون 2 (با القای درد)
+	-	کنترل	
+	+	تجربی 1	
+	+	تجربی 2	تجربی 3
+	+	تجربی 3	

به‌منظور بررسی نقش گیرنده‌های گابا A، یک هفته بعد از کانول‌گذاری، آنتاگونیست این گیرنده به‌نام بیکوکولین (توکریس، انگلستان)، به‌میزان 50، 100 و 200 نانوگرم در ناحیه پارابراکیال جانبی همه حیوانات گروه‌های تجربی تزریق شد. تزریق داروی بیکوکولین به داخل ناحیه پارابراکیال جانبی، از طریق سرسوزن شماره 30 و سرنگ هاملتون انجام گردید. حیوانات گروه کنترل نیز سالیین با حجم یکسان دریافت نمودند.

در ادامه مطالعه، برای انجام آزمون فرمالین و القای درد در حیوانات گروه‌های مربوط به آزمون 2، موش‌های صحرایی بر روی یک جایگاه ویژه شامل یک چهار پایه آلومینیومی که روی آن یک صفحه شیشه‌ای قرار داشت، مستقر شدند. پس از آن، مقدار 0/05 میلی‌لیتر فرمالین رقیق شده 2/5 درصد، با استفاده از سرنگ انسولین به زیر پوست کف پای چپ حیوان

آزمون آماری t-Student و برای مقایسه تعداد نورون‌های چندشکلی بین گروه‌های مختلف مورد مطالعه در یک آزمون، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد. سطح معنی‌داری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بررسی تعداد نورون‌های چندشکلی بدون القای درد

در این مطالعه، میانگین تعداد نورون‌های چندشکلی در هسته پارابراکیال گروه‌های دریافت‌کننده بیکوکولین با دوزهای 50، 100 و 200 نانوگرم، با تعداد این نورون‌ها در گروه کنترل در حیوانات بدون انجام آزمون فرمالین و القای درد، مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج این مقایسه در جدول 2 ارائه شده است. همانگونه که در این جدول مشاهده می‌شود، میانگین تعداد نورون‌های چندشکلی در گروه‌های بدون القای درد و دریافت‌کننده بیکوکولین با دوز 50 نانوگرم، در مقایسه با گروه کنترل تغییر معنی‌داری نداشت ($P \geq 0/05$) (جدول 2، شکل 1). همچنین در مقایسه میانگین تعداد نورون‌های چندشکلی در هسته پارابراکیال گروه‌های بدون القای درد و دریافت‌کننده دوزهای 100 نانوگرم و 200 نانوگرم بیکوکولین، در مقایسه با گروه کنترل تغییر معنی‌داری مشاهده نگردید ($P \geq 0/05$) (جدول 2، شکل 1).

تزریق شد. در این حالت و پس از تزریق فرمالین، حیوانات به مدت یک ساعت در معرض محرک درد قرار گرفتند (14). در انتهای آزمایش، برای اطمینان از صحت کانول‌گذاری، پس از بیهوش‌نمودن همه حیوانات با کلروفرم، به میزان 0/5 میکرولیتر متیلن‌بلو تزریق شد و از مغز آنها برش‌هایی به ضخامت 50 میکرومتر تهیه گردید.

بعد از تأیید صحت کانول‌گذاری، مغز حیوانات بعد از طی مراحل معمول بافتی، به روش گیمسا رنگ‌آمیزی و مورد مطالعه نهایی میکروسکوپی قرار گرفت. بنابراین از هر مغز موش، 20 برش منتخب از ناحیه هسته پارابراکیال با استفاده از میکروسکوپ مجهز به دوربین، تهیه شد. برای شمارش نورون‌ها، در هسته پارابراکیال مربعی به مساحت 90000 میکرومتر مربع در نظر گرفته شد و بررسی نهایی، فقط بر روی نورون‌هایی که در این محدوده قرار گرفته بودند انجام گرفت؛ بدین صورت که میانگین تعداد نورون‌های چندشکلی در این ناحیه محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل از این پژوهش، با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش 14) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و بر اساس میانگین \pm خطای معیار بیان گردیدند. برای مقایسه میانگین تعداد نورون‌های چندشکلی در هسته پارابراکیال مغز موش‌ها بین گروه‌های آزمون‌های مختلف، از

جدول 2- مقایسه تغییرات ناشی از تأثیر تزریق دوزهای 100، 50 و 200 نانوگرم بر تعداد سلول‌های چندشکلی در هسته پارابراکیال موش‌های صحرایی همراه و بدون القای درد نسبت به گروه کنترل

گروه‌های مورد بررسی	کنترل	بیکوکولین 50	بیکوکولین 100	بیکوکولین 200	سطح معنی‌داری آزمون ANOVA
بدون القای درد	70/01±17/15	65/11±14/26	65/17±11/12	62/14±15/39	$>0/05$ در مقایسه گروه‌ها با یکدیگر
با القای درد	70/12±18/10	65/00±19/09	*#45/08±16/16	*#30/27±15/94	$\leq 0/05$ در مقایسه بین گروه‌های با دوز 100 و 200
سطح معنی‌داری آزمون t-student	0/92	0/42	0/018	0/001	---

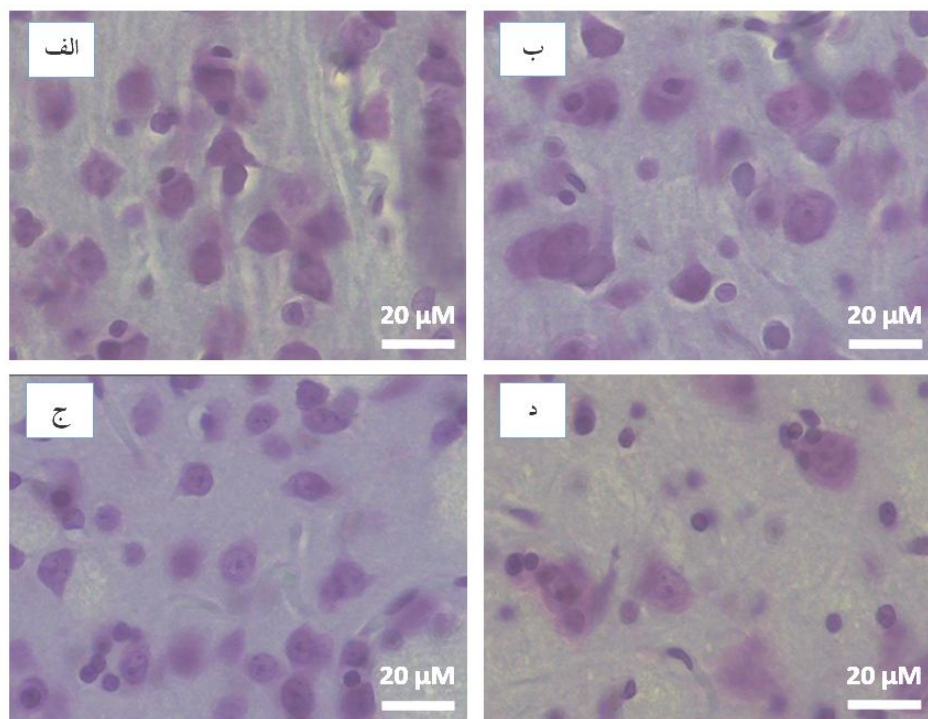
* در مقایسه با گروه کنترل $P \leq 0/05$

در مقایسه با آزمون بدون القای درد $P \leq 0/05$

در مقایسه کلی نتایج و با استفاده از آزمون آماری *t*-student، بین میانگین تعداد نورون‌های چندشکلی در گروه‌های کنترل همراه و بدون القای درد نیز تغییر معنی‌داری مشاهده نشد ($P \geq 0/05$) (جدول 2 و شکل 1). همچنین تغییر معنی‌داری در تعداد نورون‌های چندشکلی در گروه‌های دریافت‌کننده بیکوکولین با دوزهای 50 نانوگرم همراه و بدون القای درد و بعد از آن مشاهده نشد ($P \geq 0/05$) (جدول 2 و شکل 1). با این وجود میانگین تعداد نورون‌های چندشکلی در هسته پارابراکیال گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای 100 و 200 نانوگرم بیکوکولین در گروه‌های همراه و بدون القای درد، کاهش معنی‌داری یافت (برای هر کدام $P < 0/05$) (جدول 2 و شکل 1).

بررسی تعداد نورون‌های چندشکلی همراه با القای درد

در این مطالعه، میانگین تعداد نورون‌های چندشکلی در هسته پارابراکیال بعد از انجام آزمون فرمالین و القای درد نیز در گروه‌های مختلف مورد بررسی، محاسبه و با گروه کنترل مقایسه گردید. نتایج به‌دست آمده، در جدول 2 ارائه شده است. بر این اساس، میانگین تعداد نورون‌های چندشکلی در گروه‌های دریافت‌کننده بیکوکولین با دوز 50 نانوگرم همراه با القای درد، در مقایسه با گروه کنترل تغییر معنی‌داری نداشت ($P \geq 0/05$)؛ در عین حال، میانگین تعداد نورون‌های چندشکلی در هسته پارابراکیال مغز موش‌های گروه‌های با القای درد و دریافت‌کننده بیکوکولین با دوز 100 نانوگرم و 200 نانوگرم در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$) (جدول 2 و شکل 1).



شکل 1- تصاویر میکروسکوپی از تراکم نورون‌های چندوجهی در برش عرضی از هسته پارابراکیال مغز موش‌های صحرائی همراه با القای درد در گروه کنترل. الف) گروه دریافت‌کننده بیکوکولین با دوز 50 نانوگرم؛ ب) گروه دریافت‌کننده بیکوکولین با دوز 100 نانوگرم؛ ج) گروه دریافت‌کننده بیکوکولین با دوز 200 نانوگرم. د) رنگ‌آمیزی گیمسا

بحث

علت عدم همخوانی نتایج این بررسی با مطالعه حاضر می‌تواند به دلیل عدم نقش گیرنده‌های گابا در آزمون درد فرمالین در ناحیه RVM مغز باشد. Moreau و Fields (1986) در مطالعه خود نشان دادند که تزریق بیکوکولین در دوزهای 25 و 40 نانوگرم به داخل ماده خاکستری دور قنات سیلویوس، سبب مهار آزمون پس کشیدن دم و همچنین افزایش فعالیت خودبه‌خودی سلول‌های «off» و کاهش فعالیت سلول‌های «on» در RVM گردیده است (20).

گمان می‌رود که مکانیسم احتمالی تأثیر بیکوکولین به‌عنوان آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های گابا A بر هسته پارابراکیال بدین صورت است که تزریق بیکوکولین باعث ایجاد حالت بی‌دردی می‌گردد (16). این حالت بی‌دردی نیز احتمالاً به‌علت اشغال شدن گیرنده‌های گابا A توسط داروی بیکوکولین در نورون‌های واسطه هسته پارابراکیال انجام می‌شود و نهایتاً موجب مهار مسیر گابا آرژیک می‌گردد که به سلول‌های off-cell ختم می‌گردند. بدین ترتیب سلول‌های off-cell، از قید مهارشدگی نورون‌های گابا آرژیک رها و در نتیجه فعال شده و ایجاد حالت بی‌دردی می‌کنند. اما از آنجا که ناحیه پارابراکیال دارای قسمت‌های مختلفی می‌باشد، به همین دلیل ناحیه و نوع نورون واسطه داخل هسته پارابراکیال که داروی بیکوکولین بر آن اثر می‌کند، معلوم نیست (21).

در این پژوهش، به شناسایی و شمارش تعداد سلول‌های چندشکلی در دوزهای مختلف بیکوکولین همراه و بدون القای درد پرداخته شد. تغییر در تعداد این نورون‌ها نشان داد که احتمالاً این نورون‌های چندشکلی شاید یکی از نورون‌های درگیر در این مکانیسم باشد. با در نظر گرفتن اینکه تاکنون کار تحقیقاتی در زمینه بافتی در ارتباط با نقش داروهای آنتاگونیست گابا A بر این ناحیه از مغز و تعدیل درد در این زمینه صورت نگرفته است، انجام این‌گونه تحقیقات ضروری به‌نظر می‌رسد.

در مجموع، یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تزریق بیکوکولین با دوز 100 و 200 نانوگرم در ناحیه پارابراکیال همراه با القای درد، سبب تغییر در میانگین تعداد نورون‌های چندشکلی می‌شود؛ اما تزریق آن با دوز 50 نانوگرم، تغییری در تعداد نورون‌های چندشکلی ایجاد نمی‌نماید (جدول 2 و شکل 1).

درد عمدتاً یک مکانیسم حفاظتی برای بدن است و زمانی ایجاد می‌شود که بافت‌ها آسیب دیده باشند. بدین ترتیب درد شخص را وادار به واکنش برای برداشتن محرک درازا می‌کند. ناحیه پارابراکیال در مغز، ناحیه مهمی در تعدیل درد است (15). سیستم گابا آرژیک مغز نیز در تعدیل درد نقش مهم و اساسی دارد (12)؛ از سوی دیگر در ناحیه پارابراکیال مغز نیز محتوای بالای گیرنده‌های گابا A تشخیص داده شده است (11). بنابراین در این مطالعه به بررسی هیستولوژیک اثر بیکوکولین به‌عنوان آنتاگونیست اختصاصی گیرنده گابا A بر تراکم عددی نورون‌های چندشکلی در ناحیه پارابراکیال مغز موش‌های صحرایی نر در مدل درد تونیک پرداخته شد.

جوانمردی و همکاران (1392) در مطالعه خود مشخص نمودند که گیرنده گابا A موجود در ناحیه پارابراکیال، به شکل اندوژن فعال نبوده؛ ولی توانایی تأثیرگذاری بر روی تعدیل درد را دارد (16). در مطالعه دیگری، تزریق بیکوکولین در دوزهای بین 100-400 نانوگرم در هسته Submedius تلاموس، موجب بروز بی‌دردی در آزمون پس کشیدن دم در موش‌های صحرایی شد (17). به‌نظر می‌رسد بی‌دردی ایجادشده توسط تزریق بیکوکولین در این منطقه، ناشی از مهار پیش‌سیناپسی گیرنده گابا A باشد که می‌تواند موجب رهایش گابا و به‌دنبال آن موجب بروز بی‌دردی شده باشد (18). مطالعه Gilbert و همکاران (2001) نشان دادند که تزریق 50 نانوگرم بیکوکولین به‌داخل ناحیه RVM¹، سبب عدم پاسخ به درد در تست فرمالین شده است (19). احتمالاً

¹ Rostral ventromedial medulla

نتیجه گیری

کنترل درد توسط داروهای گاباژژیک پرداخت.

در مجموع می توان گفت که آنتاگونیست اختصاصی گابا A (بیکوکولین)، با تحریکات درد تونیک سبب کاهش تعداد نورون های چندشکلی در هسته پارابراکیال که به عنوان یکی از مراکز سیستم تعدیل درد عمل می کند، می شود. نتایج مطالعه حاضر می تواند زمینه سازی برای مطالعات آینده در نظر گرفته شود؛ به طوری که بتوان بدون ایجاد عوارض جانبی، به

تقدیر و تشکر

بدین وسیله، از پرسنل و اعضای محترم هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی فسا که در انجام این تحقیق همکاری نمودند، سپاس گذاری می گردد.

منابع:

- 1- Cleeland CS, Gonin R, Hatfield AK, Edmonson JH, Blum RH, Stewart JA, et al. Pain and its treatment in outpatients with metastatic cancer. *N Engl J Med*. 1994; 330(9): 592-6.
- 2- Patton HD, Fuchs AF, Hills AF, Scher AM and m Steiner, R. *Textbook of Physiology*. 21th ed. W.B. Saunders; 2003. Vol 1. pp: 770.
- 3- Wall PD, Melozoe R. *Text book of pain. Molecular Biology of Sensory Transduction*. 5th ed. Churchill livengstone; 2006. pp: 125-6.
- 4- Turk DC, Okifuji A. Pain terms and taxonomies. In: Loeser D, Butler SH, Chapman J, Turk DC. *Bonica's Management of Pain*. 3rd ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. pp: 18-25.
- 5- Guyton AC, Hall JE. *Text book of Medical physiology*. 11th ed. Philadelphia: Elsevier Saunder; 2005.
- 6- Holstege G. Anatomical evidence for a strong ventral parabrachial projection to nucleus raphe magnus and adjacent tegmental field. *Brain Res*. 1988; 447(1): 154-8.
- 7- Bernard JF. Parabrachial Hypothalamic and Amydaloid projections. In: Schmidt RF, Gebhart GF. *Encyclopedia of Pain*. Berlin: Springer; 2007. pp: 1761-6.
- 8- Li JL, Mizuno N. Parabrachial nucleus neurons providing axons to both the thalamus and the spinal cord in the rat. *Brain Res*. 1997; 745(1-2): 321-7.
- 9- Hermanson O, Blomqvist A. Subnuclear localization of FOS-like immunoreactivity in the rat parabrachial nucleus after nociceptive stimulation. *J Comp Neurol*. 1996; 368(1): 45-56.
- 10- Jergova S, Kolesar D, Cizkova D. Expression of c-Fos in the parabrachial nucleus following peripheral nerve injury in rats. *Eur J Pain*. 2008; 12(2):172-9.
- 11- Guthmann A, Fritschy JM, Ottersen OP, Torp R, Herbert H. GABA transporters, GABA (A) receptor subunits, and GAD mRNAs in the rat parabrachial and Kolliker-Fuse nuclei. *J Comp Neurol*. 1998; 400(2): 229-43.
- 12- Enna SJ, McCarson KE. The role of GABA in the mediation and perception of pain. *Adv Pharmacol*. 2006; 54:1-27.
- 13- Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates: Hard Cover Edition*. 6th ed. Academic press; 2007.
- 14- Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*. 1977; 4(2): 161-74.
- 15- Gauriau C, Bernard JF. Physiological Society Symposium Nociceptors as Homeostatic Afferents: Central Processing Pain pathways and parabrachial circuits in the rat. *Exp Physiol*. 2002; 87(2): 251-8.
- 16- Javanmardi K, soltanihekmat A, shekoohi M, hasanein P, bakhshi M, ghodsi R, et al. The role of parabrachial GABAA receptors in pain modulation in rats. *J Fasa Univ Med Sci*. 2013; 3(2):117-23. [Persian]
- 17- Jia H, Xie YF, Xiao DQ, Tang JS. Involvement of GABAergic modulation of the nucleus submedius (Sm) morphine-induced antinociception. *Pain*. 2004; 108(1-2): 28-35.

- 18- Nemmani KVS, Mogil JS. Serotonin-GABA interactions in the modulation of mu- and kappa-opioid analgesia. *Neuropharmacol.* 2003; 44(3): 304-10.
- 19- Gilbert AK, Franklin KB. GABAergic modulation of descending inhibitory systems from the rostral ventromedial medulla (RVM). Dose-response analysis of nociception and neurological deficits. *Pain.* 2001; 90(1-2): 25-36.
- 20- Moreau JL, Fields HL. Evidence for GABA involvement in midbrain control of medullary neurons that modulate nociceptive transmission. *Brain Res.* 1986; 397(1): 37-46.
- 21- Haghparast A, Naderi N, Khani A, Lashgari R, Motamedi F. Formalin-Induced Differential Activation of Nucleus Cuneiformis Neurons in the Rat: An Electrophysiological Study. *J Pain.* 2010; 11(1): 32-43.

The effect of GABA A receptor antagonist bicucullin administration on the number of multiform neurons in the brain parabrachial nucleus due to pain induction of adult male rats

Mahsa Kamali^{1,2}, Kazem Javanmardi³

Background and Aim: A lot of biological investigations are aimed to find pain decreasing or relieving substances that appear in various diseases. Parabrachial nucleus plays an important role in cognitive and emotional aspects of pain. The present study was designed to evaluate the inhibitory effect of bicuculline- as a GABA A receptor antagonist- on the number of multiform neurons in Parabrachial region of adult male rats in tonic pain model.

Materials and Methods: This experimental study was carried out on 40 Wistar male rats. Based on the pain induction, the animals were divided into 8 groups (n=5). Bicuculline was administrated in doses of 50, 100, and 200 ng/rat. Using stereotaxic method, Bicuculline was administrated to the rats' brain parabrachial area. The present study utilized Formalin test as a standard method for pain stimulations. Thereafter, Gimsa staining method was applied for histological determination of multiform cells. The obtained data was analyzed using statistical tests including Student-t and one-way ANOVA.

Results: Our data showed no significant changes in the number of multiform cells in Parabrachial nucleus between the animals administrated by bicuculline at the dose of 50 ^{ng}/_{rat} compared with the controls (P>0.05). Nevertheless, the number of these cells was decreased significantly in the animals administrated by bicuculline at the doses of 100 and 200 ^{ng}/_{rat} when compared to the controls (p<0.05).

Conclusion: It was found that nociceptive stimulations cause changes in the number of multiform neurons in para-brachial nucleus. Nevertheless, higher dose administration of GABA A receptor antagonist has preventive effects on neuronal dysmorphogenesis at this brain area.

Key Words: Parabrachial region, Bicuculline, Multiform neurons, Formalin Test, GABA A receptor

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2015; 22 (3): 229-237.

Received: April 23, 2015 Accepted: September 9, 2015

¹ Corresponding author, Department of Biology, Islamic Azad University, Jahrom, Fars, Iran

mhs.kamali@gmail.com

² Young Researcher club Elite, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

³ Assistant professor, Department of physiology, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Shiraz, Iran