

بررسی اثر تزریق داخل هسته میخی شکل آگونیسیت و آنتاگونیسیت گابا A بر اثرات ضد دردی مورفین با آزمون فرمالین در موش صحرایی

دکتر مظفر رضوانی پور^۱، طاهره صفری^۲، دکتر مهدی عباس نژاد^۳

خلاصه

در پژوهش حاضر اثرات آگونیسیت و آنتاگونیسیت گیرنده گابا A بر اثر ضددردی القاء شده توسط مورفین در هسته میخی شکل با آزمون فرمالین در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته است. تزریق ۱۰ میکروگرم مورفین به ازای هر موش و نیز ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم بیکوکولین به ازای هر موش موجب بروز اثر ضددردی در مرحله اول و دوم آزمون فرمالین شد. تزریق ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ نانوگرم موسیمول به ازای هر موش فقط در مرحله دوم آزمون فرمالین موجب بروز اثرات ضددردی شد. استفاده همزمان موسیمول و مورفین اثرات ضددردی را تقویت کرد، در حالی که چنین اثری در مورد استفاده همزمان بیکوکولین و مورفین دیده نشد. پاسخ القاء شده توسط موسیمول با بیکوکولین تحت تأثیر قرار نگرفت. نالوکسان (آنتاگونیسیت گیرنده اپیوئیدی) پاسخ ضددردی القاء شده توسط موسیمول را در هیچیک از دو مرحله آزمون فرمالین کاهش نداد. می توان چنین نتیجه گیری کرد که تحریک گیرنده های گابا A در هسته میخی شکل موجب القاء ضددردی در آزمون فرمالین شده و اثر ضددردی بیکوکولین تا اندازه ای به واسطه مکانیسم های مربوط به گیرنده های اپیوئیدی هسته میخی شکل میانجی گری می شود. علایم ظاهری کاهش پاسخ به درد ناشی از تزریق درون هسته ای موسیمول ممکن است به علت تحت تأثیر قرار گرفتن بخش منقاری هسته میخی شکل و کاهش فعالیت حرکتی بوده و در نتیجه ارتباطی با اثر ضددردی واقعی آن نداشته باشد.

واژه های کلیدی: هسته میخی شکل، مورفین، موسیمول، بیکوکولین، درد

۱- استادیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کرمان ۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند

۳- استادیار فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

مقدمه

هسته میخی شکل (Cuneiformis= CnF) که در بخش شکمی جانبی ماده خاکستری دور قنات مغزی قرار دارد بخشی از سیستم نزولی تعدیل درد را تشکیل می‌دهد.

ماده خاکستری دور قنات مغزی (PAG)، ناحیه جلویی بصل‌النخاع شکمی - میانی (RVM) و هسته میخی شکل (CnF) در میان سیستم عصبی مرکزی مکان‌هایی هستند که حاوی گیرنده‌های اپیوئیدی بوده و به اثرات ضد دردی آنها حساس می‌باشند (۱۶).

تحقیقات انجام شده نشان می‌دهند که عمل ضددردی نورون‌های PAG عمدتاً از طریق ارتباط با گیرنده‌های اپیوئیدی میانجی‌گری می‌شود (۱۷). این ناحیه محتوی تعداد زیادی گیرنده اپیوئیدی است و تزریق مورفین در مقیاس میکرو (microinjection) به داخل آن موجب بروز اثرات ضددردی می‌شود (۱۷) و همچنین عملکردهای ضد دردی این ناحیه در RVM تقویت می‌گردد (۱).

CnF حاوی نورون‌هایی است که دارای گیرنده‌های اسیدهای آمینه تحریکی گلوتامات (۲۰)، استیل کولین (۲) و گیرنده مهارتی گابا (۱۴، ۱۵) می‌باشند. از طرفی RVM منبع اصلی آکسون‌هایی است که از تنه مغز شروع شده و از طریق دسته تار پشتی - جانبی (DLF) به شاخ خلفی نخاع که محل آوران‌های اولیه درد می‌باشد ختم می‌شوند (۲۰، ۹).

هسته CnF یکی از مناطق فوق نخاعی دخیل در سیستم نزولی کنترل کننده درد می‌باشد و تحریک الکتریکی آن باعث فعال شدن سیستم نزولی تعدیل درد می‌گردد (۳). با توجه به نقش گابا در PAG (۱۸) و استفاده داخل نخاعی موسیمول برای کنترل درد (۴، ۱۱) و خروجی‌های CnF به RVM، هسته مرکزی آمیگدال، PAG و سایر نواحی مغز قدامی (۳) و به خصوص نقش نواحی مربوط به مغز قدامی در تأثیر بر اثر ضددردی مورفین در آزمون فرمالین (۸)، به نظر می‌رسد که سیستم نزولی کنترل درد که از CnF شروع می‌شود یک مسیر گابارژیک باشد، و احتمالاً یک واکنش متقابل بین گیرنده‌های اپیوئیدی و گابا در این هسته وجود دارد. با عنایت به موارد فوق و با توجه به اینکه نقش مهار کننده‌های گیرنده گابا A بر اثرات ضددردی مورفین در هسته CnF در درد حاد به کمک رفلکس پس کشیدن دم بررسی شده است (۱۹)، هدف از انجام این مطالعه بررسی نقش هسته CnF در درد مزمن و

میزان دخالت گیرنده‌های گابا A بر اثرات ضددردی اپیوئیدها در این هسته با آزمون فرمالین می‌باشد.

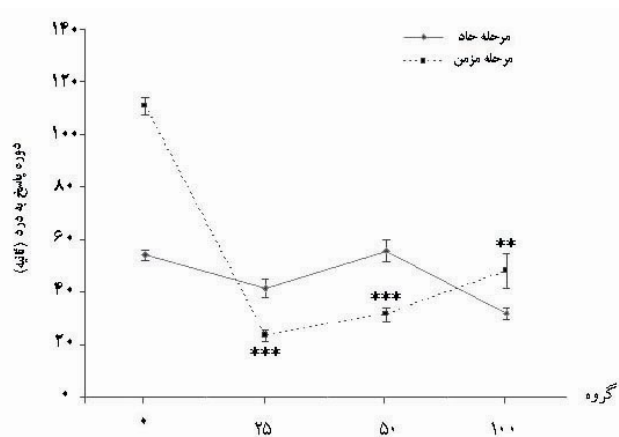
روش کار

در این مطالعه از ۱۰ گروه موش صحرایی استفاده شد. بعضی گروه‌ها شامل چندین زیر گروه بوده و جمعاً ۱۳۶ سر موش صحرایی از نژاد ویستار در ۱۷ گروه ۸ تایی مورد استفاده قرار گرفتند. بعد از کانول گذاری در هسته میخی شکل (CnF) با استفاده از اطلس پاكسینوس و واتسون به مختصات ۵- تا ۵/۸- میلی متر در عقب برگما، ۱/۵ تا ۱/۷ میلی متر سمت راست خط وسط و عمق ۵/۵ تا ۶/۵ میلی متر از سطح نرم شامه و گذشت یک هفته از بهبودی حیوانات (۱۱)، آزمایشات لازم انجام گرفت.

داروهای مورد استفاده در این پژوهش با روش پیش راندن حباب به روش میکرونی به داخل هسته CnF تزریق شده و پس از آن آزمون فرمالین برای بررسی درد انجام گرفت. دستگاه مخصوص آزمون فرمالین شامل یک جعبه پلکسی گلس (plexiglass) به ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی متر می‌باشد که در کف آن یک آینه با زاویه ۴۵ درجه قرار داده شده است که امکان مشاهده بهتر پای حیوان را می‌دهد. قبل از انجام آزمون به حیوان اجازه داده می‌شد که ۳۰ دقیقه با محیط انجام آزمون آشنا شود. بعد از این مدت ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۵ درصد (۱۲، ۱۳) با کمک سرنگ انسولین و سر سوزن شماره ۲۷ به سطح پشتی کف پنجه عقبی سمت مقابل کانول گذاری شده در مغز به صورت زیر جلدی تزریق می‌شد. سپس حیوان به جعبه برگردانده شده و با کمک یک زمان سنج ثانیه شمار مدت زمانی را که حیوان صرف لیس زدن و گاز گرفتن پنجه مورد نظر می‌کرد اندازه گرفته و به عنوان دوره پاسخ به درد در نظر گرفته می‌شد. میانگین زمان صرف شده \pm خطای معیار (Mean \pm SEM) بین دقیقه صفر تا ۵ به عنوان مرحله حاد و بین دقیقه ۱۵ تا ۴۵ به عنوان مرحله مزمن آزمون در نظر گرفته شده است (۱۳، ۱۰).

داروهای مورد استفاده در این پژوهش سولفات مورفین خالص (تماد)، موسیمول (سیگما)، بیکوکولین (سیگما) و نالوکسان (تولید دارو) می‌باشند.

داده‌ها بر اساس میانگین \pm خطای معیار میانگین بیان گردیده است و با استفاده از نرم افزار SPSS 11 مورد تجزیه



درمان ها: دوزهای مختلف موسیمول بر حسب ng/rat

نمودار ۱: مقایسه میانگین مدت زمان پاسخ به درد با دوزهای متفاوت موسیمول

میانگین مدت زمان پاسخ به درد بین گروه‌های موسیمول و گروه سالین در مرحله حاد آزمون فرمالین اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ولی در مرحله دوم آزمون فرمالین بین گروه سالین و گروه‌های موسیمول ۲۵، ۵۰ نانوگرم و گروه موسیمول ۱۰۰ نانوگرم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (** P<۰/۰۱ و *** P<۰/۰۰۱).

استفاده از نالوکسان (آنتاگونیست گیرنده اپیوئیدی) نتوانست اثرات ضددردی موسیمول را کاهش دهد. کاربرد هم‌زمان موسیمول (۱۰۰ نانوگرم) و بیکوکولین (۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم) در مقایسه با گروه موسیمول در مرحله اول اختلاف معنی‌داری را نشان نداد در حالی که در مرحله دوم مدت زمان پاسخ به درد به طور معنی‌داری کاهش و اثرات ضددردی موسیمول تقویت شد ($P<۰/۰۵$ ، نمودار ۴).

اختلاف کاربرد هم‌زمان موسیمول و بیکوکولین با گروه حلال دارو در هر دو مرحله آزمون فرمالین معنی‌دار می‌باشد (در مرحله حاد با $P<۰/۰۰۱$ و در مرحله مزمن برای بیکوکولین ۵۰ و موسیمول ۱۰۰ با $P<۰/۰۱$ و برای بیکوکولین ۱۰۰ و موسیمول ۱۰۰ با $P<۰/۰۰۱$) (نمودار ۵).

و تحلیل قرار گرفته‌اند. برای مقایسه اختلاف پاسخ به درد در مراحل حاد و مزمن آزمون فرمالین بین دو یا چند گروه مختلف به ترتیب از t-test و آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه استفاده شده است.

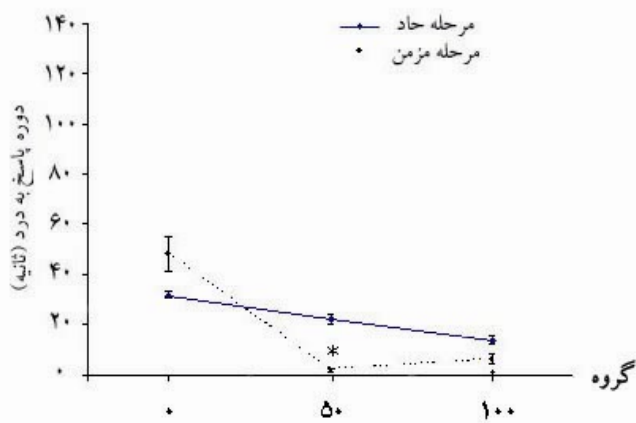
نتایج

بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش میانگین مدت زمان پاسخ به درد در گروه‌های سالین و مورفین در هر دو مرحله آزمون فرمالین اختلاف معنی‌داری داشت. به طوری که میانگین پاسخ به درد گروه مورفین (۲۱/۷۵ ثانیه در مرحله حاد و ۵۸/۷۵ ثانیه در مرحله مزمن) به صورت معنی‌داری کمتر از گروه سالین (۵۴/۱۲ ثانیه در مرحله حاد و ۱۱۰/۶۲ ثانیه در مرحله مزمن) بود ($P<۰/۰۱$).

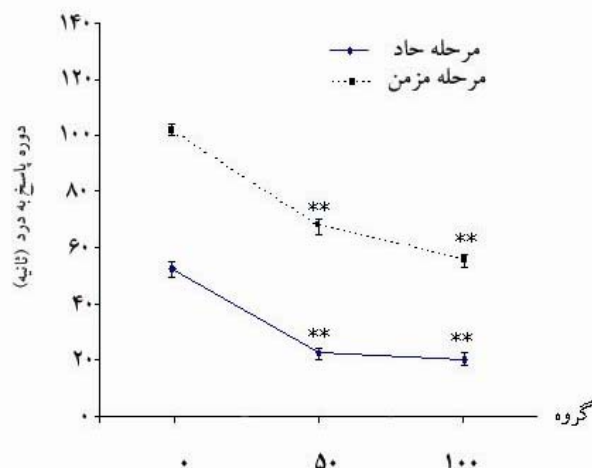
دوزهای مختلف موسیمول (آگونیسیت گیرنده گابا A) در مرحله اول آزمون فرمالین تأثیری روی میانگین مدت زمان پاسخ به درد نداشت در حالی که در مرحله دوم میانگین پاسخ به درد را به صورت معنی‌داری کاهش داد ($P<۰/۰۰۱$ و $P<۰/۰۱$ ، نمودار ۱).

بیکوکولین (آنتاگونیست گیرنده گابا A) با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم در هر دو مرحله آزمون فرمالین میانگین پاسخ به درد را به طور معنی‌داری کاهش داد ($P<۰/۰۱$ ، نمودار ۲).

میانگین پاسخ به درد در گروه‌های بیکوکولین و موسیمول همراه با مورفین در هیچ‌کدام از دوزهای استفاده شده اختلاف معنی‌داری را با گروه مورفین نشان نداد. بیکوکولین به همراه مورفین در هیچ‌یک از دو مرحله آزمون فرمالین نتوانست اثرات ضددردی مورفین را تقویت کند. در حالی که موسیمول در مرحله اول اثرات ضددردی مورفین را تحت تأثیر قرار نداد اما در مرحله دوم اثر ضددردی مورفین را به طور معنی‌داری تقویت کرد ($P<۰/۰۰۱$ ، نمودار ۳).



درمان‌ها: موسیمول ۱۰۰ mg/rat + دوزهای مختلف بیکو کولین بر حسب ng/rat



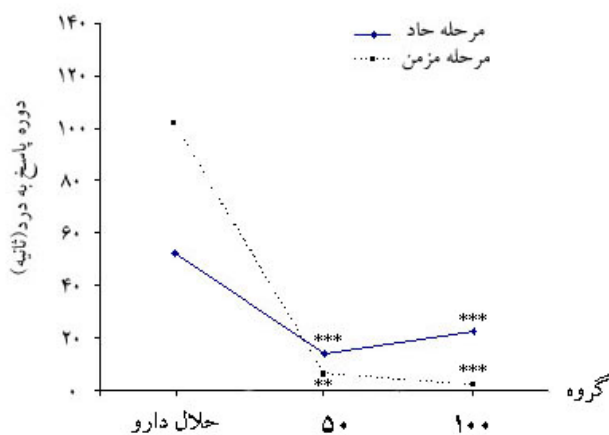
درمان‌ها: دوزهای مختلف بیکو کولین ng/rat

نمودار ۱: مقایسه میانگین مدت زمان پاسخ به درد در گروه‌های بیکو کولین و موسیمول ۱۰۰ نانوگرم با گروه موسیمول ۱۰۰ نانوگرم با آزمون فرمالین

مقایسه میانگین مدت زمان پاسخ به درد بین گروه‌های موسیمول ۱۰۰ نانوگرم و بیکو کولین ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم با گروه موسیمول ۱۰۰ نانوگرم در مرحله اول آزمون فرمالین اختلاف معنی داری را نشان نمی‌دهد در حالی که این اختلاف در مرحله دوم معنی دار است ($P < 0.05$).

نمودار ۲: مقایسه میانگین مدت زمان پاسخ به درد در گروه‌های بیکو کولین (۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم) و گروه حلال دارو با آزمون فرمالین

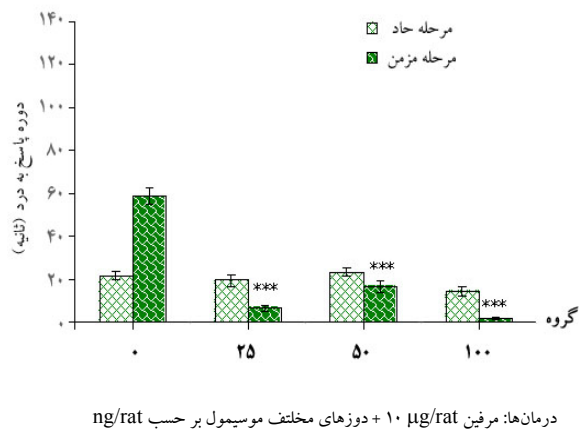
مقایسه میانگین مدت زمان پاسخ به درد بین گروه‌های بیکو کولین (۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم) و گروه حلال دارو در هر دو مرحله آزمون فرمالین اختلاف معنی داری را نشان می‌دهد ($P < 0.01$).



درمان‌ها: حلال دارو، موسیمول ۱۰۰ ng/rat و دوزهای مختلف بیکو کولین بر حسب ng/rat

نمودار ۳: مقایسه میانگین مدت زمان پاسخ به درد در گروه‌های بیکو کولین و موسیمول با گروه حلال دارو با آزمون فرمالین

مقایسه میانگین پاسخ به درد بین گروه‌های بیکو کولین و موسیمول با گروه حلال دارو اختلاف معنی داری را در مرحله حاد و مزمن نشان می‌دهد ($P < 0.01$ و $P < 0.001$).



درمان‌ها: مورفین ۱۰ μg/rat + دوزهای مختلف موسیمول بر حسب ng/rat

نمودار ۴: مقایسه میانگین مدت زمان پاسخ به درد در گروه موسیمول همراه با مورفین و گروه مورفین با آزمون فرمالین

مقایسه میانگین پاسخ به درد بین گروه موسیمول همراه با مورفین و گروه مورفین در مرحله اول آزمون فرمالین اختلاف معنی داری را نشان نمی‌دهد. در مرحله مزمن این اختلاف معنی دار می‌باشد ($P < 0.001$).

بحث

در مطالعه حاضر تزریق میکرونی موسیمول با دوزهای مختلف، مدت زمان پاسخ به درد را در مرحله اول آزمون فرمالین کاهش داد که این نتایج با نتایج حاصل از اثرات ضددردی ناشی از تزریق داخل نخاعی (۴) و درون هسته RVM (۷) موسیمول و تزریق داخل بطنی موسیمول که در هر دو مرحله آزمون فرمالین موجب کاهش پاسخ به درد شده (۱۳) موافق است.

با در نظر گرفتن این موضوع که تزریق آگونست گابا A داخل CnF موجب کاهش پاسخ به درد شده و با توجه به این که تعدادی از نورون‌های هسته CnF گابارژیک می‌باشند (۱۴) و تحریک الکتریکی این هسته باعث فعال شدن یک سیستم نزولی مهار درد می‌شود، می‌توان گفت که احتمالاً بخشی از اثرات ضددردی ایجاد شده به وسیله هسته CnF به واسطه گیرنده گابا A در این هسته اعمال می‌شود.

تزریق درون هسته‌ای CnF بیکوکولین (آنتاگونست رقابتی گیرنده گابا A) در این پژوهش مدت زمان پاسخ به درد را به صورت معنی‌داری کاهش داد. با توجه به اینکه تعدادی از نورون‌های خروجی هسته CnF به RVM، nRM و PAG گابارژیک می‌باشند (۱۴)، اثرات اعمال شده از طریق هسته CnF بر این بخش‌ها می‌تواند ناشی از اثرات مهارتی گابارژیک باشد.

بیکوکولین با انسداد پیش سیناپسی گیرنده‌های گابا A می‌تواند موجب رهایش گابا و با فعال کردن گیرنده‌های پس سیناپسی گابا B موجب بی‌دردی شود. اثرات بیکوکولین در القاء ضددردی می‌تواند ناشی از پیشبرد رهایش مواد میانجی ضددردی از قبیل سروتونین توسط سیستم ضددردی پایین‌رونده درد نیز باشد (۱۵، ۶).

تجویز هم‌زمان موسیمول و مورفین در مرحله اول اثرات ضد دردی مورفین را تحت تأثیر قرار نداده است اما در مرحله دوم مدت زمان پاسخ به درد کاهش پیدا کرده است که این نتایج با نتایج حاصل از تجویز هم‌زمان موسیمول و مورفین در RVM (۹) در تضاد است.

دوزهای موسیمول بیشتر از ۷۵ نانوگرم در RVM موجب کاهش فعالیت حرکتی شده است و کاهش پاسخ به درد در این دوزها ممکن است ناشی از کاهش فعالیت حرکتی حیوان باشد (۷). در این مطالعه نیز دوزهای

مختلف از جمله دوز ۱۰۰ نانوگرم موسیمول در نقطه وسط مختصات گزارش شده تزریق شده، اما احتمال نشت آن به بخش منقاری هسته که ارتباط عمده‌ای با نواحی حرکتی دارد (۲۱) وجود دارد و بنابراین تشدید ظاهری اثرات ضددردی مورفین توأم با موسیمول شاید ناشی از این کاهش فعالیت حرکتی باشد.

کاربرد هم‌زمان بیکوکولین و مورفین در هسته میخی شکل روی بی‌دردی ناشی از مورفین در مرحله اول و دوم آزمون فرمالین تأثیری نداشته است. فقدان اثر بیکوکولین روی اثر ضددردی مورفین می‌تواند ناشی از این مسئله باشد که این دو عامل از طریق یک مسیر مشترک عملکردهای ضددردی خود را اعمال می‌کنند و فعال شدن این مسیر با دوزهای بالای یک دارو با تجویز هم‌زمان داروی دیگر تشدید نمی‌گردد. این نتایج با نتایج حاصل از تجویز هم‌زمان بیکوکولین و مورفین در این هسته در آزمون پس کشیدن دم (۱۹) در تضاد است و حکایت از آن دارد که احتمالاً مکانیسم‌های فیزیولوژیک مؤثر در تعدیل درد حاد توسط هسته میخی شکل متفاوت است.

نتایج مطالعات موجود نشان می‌دهند که تجویز هم‌زمان موسیمول و بیکوکولین در مرحله اول آزمون فرمالین بر بی‌دردی ایجاد شده توسط موسیمول اثر نداشته است اما در مرحله دوم، تزریق درون هسته‌ای بیکوکولین اثر ضددردی القاء شده توسط موسیمول را افزایش داده است.

برخلاف این پژوهش، بر اساس گزارش‌های دیگر بیکوکولین به عنوان آنتاگونست گیرنده گابا در هر دو مرحله آزمون فرمالین اثرات ضد دردی موسیمول را کاهش داده است (۱۴، ۱۳). احتمالاً یکی از دلایلی که موجب شده تزریق میکرونی بیکوکولین اثرات ضددردی موسیمول را خنثی نکند بلوکه شدن پیش‌سیناپسی گیرنده‌های گابا و افزایش رهایش گابای اندوژن ناشی از آن می‌باشد (۱۳) و یا همان‌طوری که قبلاً ذکر شد، شاید نشت موسیمول به نواحی منقاری هسته میخی شکل با اختلالات حرکتی بوجود آورده، علائم ظاهری کاهش پاسخ به درد را از خود نشان داده است.

در این پژوهش تجویز نالوکسان به عنوان آنتاگونست غیراختصاصی گیرنده اپیوئیدی تأثیری بر اثرات ضد دردی موسیمول در آزمون فرمالین نداشت، در حالی که تزریق داخل بطنی نالوکسان اثرات ضددردی موسیمول و باکلوفن

به طور کلی بر اساس یافته‌های این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً هسته CnF مانند نواحی RVM و PAG حاوی سلول‌هایی است که تحت تأثیر گابا قرار دارند و حضور گابا برای عملکرد ضد درد این هسته ضروری می‌باشد.

تشکر و سپاسگزاری

بدین وسیله از مرکز تحقیقات علوم اعصاب معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان به دلیل فراهم نمودن اعتبار انجام این طرح پژوهشی تشکر و قدردانی می‌گردد.

(آگونیست گیرنده گابا B) را تحت تأثیر قرار داده و پاسخ ضد دردی القاء شده توسط موسیمول را به صورت معنی‌داری حذف کرد (۱۳). از جمله دلایل احتمالی که نالوکسان نتوانسته اثرات موسیمول را کاهش دهد، یکی دخالت مواد میانجی دیگری به جز اپیوئیدها در اثرات موسیمول در CnF می‌باشد و امکان دیگر این است که تزریق داخل صفاقی نالوکسان در این مطالعه موجب شده که این دارو به تمام نواحی عملکرد پپتیدهای اپیوئیدی درون‌زا نرسیده باشد.

Summary

A Study on the Effect of Intracuneiformis Nucleus Microinjection of GABA_A Receptor Agonist and Antagonist on Antinociceptive Effects of Morphine by Formalin Test in Rat

Rezvanipour M, PhD.¹, Safari T, MSc.² and Abasnejad M, PhD.³

1. Assistant Professor of Physiology, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran 2. Faculty Member, Physiology Department, Birjand University of Medical Sciences and Health Services, Birjand, Iran 3. Assistant Professor of Physiology, Biology Department, Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

In the present study, the effects of intracuneiformis nucleus microinjection of gamma-aminobutyric acid (GABA_A) receptor agonist and antagonist on antinociception induced by morphine were investigated with formalin test in rat. Intracuneiformis nucleus microinjection of morphine (10 μg/rat) and Bicuculline (50, 100 ng/rat) induced antinociception in the both first and second phases of formalin test. Muscimol (25, 50, 100 ngr/rat) produced antinociception only in the second phase of formalin test. Morphine in combination with muscimol but not with bicuculline elicited potentiation. The responses induced by muscimol were not affected by bicuculline. The opioid receptor antagonist (naloxone) did not reduce the response induced by muscimol in the both first and second phases of formalin test. It may be concluded that central GABA_A receptor stimulation induced antinociception in formalin test. However, the antinociception induced by GABA_A receptor agonist may be partly mediated through nucleus cuneiformis opioid receptor mechanisms. The apparent antinociceptive effects of muscimol may be due to its leakage to rostral portion of Cnf and reduction in motion activity, so have no relation to its real antinociceptive effects.

Key Words: Cuneiformis nucleus, Morphine, Muscimol, Bicuculline, Pain

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2004; 11(4): 212-218

References

- Behbehani MM and Pomeroy SL. Effect of morphine injected in periaqueductal gray on the activity of single units in nucleus raphe magnus of the rat. *Brain Res* 1978; 149(1): 266-269.
- Behbehani MM and Zemlan FP. Response of nucleus raphe magnus neurons to electrical stimulation of nucleus cuneiformis: role of acetylcholine. *Brain Res* 1986; 369(1-2): 110-118.
- Bernard JF, Peschanski M and Besson JM. Afferents and efferents of the rat cuneiformis nucleus: an anatomical study with reference to

- pain transmission. *Brain Res* 1989; 490(1): 181-185.
4. Dirig DM and Yaksh TL. Intrathecal baclofen and muscimol, but not midazolam, are antinociceptive using the rat-formalin model. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 275(1): 219-227.
 5. Drower EJ and Hammond DL. GABAergic modulation of nociceptive threshold: effects of THIP and bicuculline microinjected in the ventral medulla of the rat. *Brain Res* 1988; 450(1-2): 316-324.
 6. Gao K and Mason P. Serotonergic Raphe magnus cells that respond to noxious tail heat are not ON or OFF cells. *J Neurophysiol* 2000; 84(4): 1719-1725.
 7. Gilbert AK and 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.
 8. Gilbert AK and Franklin KB. The role of descending fibers from the rostral ventromedial medulla in opioid analgesia in rats. *Eur J Pharmacol* 2002; 449(1-2): 75-84.
 9. Heinricher MM, Morgan MM and Fields HL. Direct and indirect actions of morphine on medullary neurons that modulate nociception. *Neuroscience* 1992; 48(3): 533-543.
 10. Jourdan D, Ardid D, Bardin L *et al.* A new automated method of pain scoring in the formalin test in rats. *Pain* 1997; 71(3): 265-270.
 11. Kaneko M and Hammond DL. Role of spinal gamma-aminobutyric acid_A receptors in formalin-induced nociception in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 282(2): 928-938.
 12. Lee IO, Kong MH, Kim NS, Choi YS, Lim SH and Lee MK. Effects of different concentrations and volumes of formalin on pain response in rats. *Acta Anaesthesiol Sin* 2000; 38(2): 59-64.
 13. Mahmoudi M and Zarrindast MR. Effect of intracerebroventricular injection of GABA receptor agents on morphine-induced antinociception in the formalin test. *J Psychopharmacol* 2002; 16(1): 85-91.
 14. Nagai T, Maeda T, Imai H, McGeer PL and McGeer EG. Distribution of GABA-T-intensive neurons in the rat hind brain. *J Comp Neurol* 1985; 231(2): 260-9.
 15. Nemmani KV and Mogil JS. Serotonin- GABA interactions in the modulation of mu-and kappa-opioid analgesia. *Neuropharmacology* 2003; 44(3): 304-310.
 16. Pan ZZ and Fields HL. Endogenous opioid - mediated inhibition of putative pain-modulating neurons in rat rostral ventromedial medulla. *Neuroscience* 1996; 74(3): 855-862.
 17. Pomeroy SL and Behbehani MM. Physiologic evidence for a projection from periaqueductal gray to nucleus raphe magnus in the rat. *Brain Res* 1979; 176(1): 143-147.
 18. Renno WM and Beitz AJ. Peripheral inflammation is associated with decreased veratridine-induced release of GABA in the rat ventrocaudal periaqueductal gray: microdialysis study. *J Neurol Sci* 1999; 163(2): 105-110.
 19. Rezvanipour M, Milan H and Haghparast A. The role of a GABA_A receptor antagonist on morphine antinociception action in cuneiformis nucleus. *Experimental Neurobiology proceeding for the 3rd FAONS congress* 2002; 11(22): 78.
 20. Richter RC and Behbehani MM. Evidence for glutamic acid as a possible neurotransmitter between the mesencephalic nucleus cuneiformis and the medullary nucleus raphae magnus in the lightly anesthetized rat. *Brain Res* 1991; 544(2): 279-286.
 21. Zemlan FP and Behbehani MM. Nucleus cuneiformis and pain modulation: anatomy and behavioral pharmacology. *Brain Res* 1988; 453(1-2): 89-102.