اثر بی هوشی مکرر ناشی از تیوپنتال در دوره نوزادی بر تشنج القاء شده توسط پنتیلن تترازول و پاسخ های درد در زمان بلوغ در موش سفید آزمایشگاهی

فاطمه فقیه‌مجیدی *(M.Sc)، علی مقیمی (Ph.D)، مسعود فریدونی (Ph.D)

دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

چکیده

سابقه و هدف: تجویز داروهای هوش‌بر عمومی به‌ویژه در دوران‌های بحرانی رشد گاهی منجر بـه ناهنجـاری‌هـای جدی یا عوارض جانبی می‌شود. داروهای هوش‌بر می‌توانند در دوره بحرانی رشد، بر تکـوین و سـیناپتوژنز مغـز اثـر بگذارند. در مورد اثر باربیتورات‌ها (حفاظت‌کنندگی یا تخریب عصبی) تناقض وجود دارد. هدف از این پژوهش بررسی رابطه بی‌هوشی مکرر توسط تیوپنتال (آگونیست $GABA_A$) در دوره نوزادی با میزان تشنج‌پذیری القـاء شـده توسـط پنتیلن تترازول (PTZ) و میزان پاسخ به درد در دوران بلوغ در رت ویستار بود.

مواد و روش‌ها: ۴۰ رت نر نوزاد به ۲ گروه شم و تجربی تقسیم شدند. گروه تجربی (n=۲۰) روزانه با دوز ۳۰ mg/kg تیوپنتال تیمار در روزهای ۱۰ تا ۲۰ پس از تولد عمیقاً بی‌هوش شدند، برای گروه شم سرم فیزیولوژی استفاده شد. پس از بلوغ، حملات تشنجی با تزریق درون صفاقی پنتیلن تترازول (۴۵ mg/kg) القا شده و زمـان تـاخیر بـروز حمـلات تشنجی بعد از تزریق PTZ ثبت گردید. هم‌چنین پاسخ به درد به‌طور هم‌زمان با آزمون Tail-flick و آزمون فرمـالین ارزیابی شد.

یافته‌ها: تفاوت معنی‌داری در بروز حملات تشنجی و حساسیت به درد در دو مـدل آزمـون درد ذکـر شـده بـین گروه‌های شم و تجربی وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق مکرر داروی تیوپنتال به عنوان آگونیست گیرنـده‌های $GABA_A$ در دوره نوزادی بر تشنجات القاء شده ناشی از PTZ و میزان پاسخ های درد در دوران بلوغ اثری ندارد. فقـدان اثـر می تواند ناشی از رخداد مکانیسم های جبرانی محافظتی در طی تکامل مغز باشد.

واژه‌های کلیدی: بیهوشی، تیوپنتال، دوره نوزادی، حمله‌های تشنجی، پنتیلن تترازول، پاسخ‌های درد

مقدمه

میلیون‌ها بیمار در همه سـنین تحـت بـی‌هوشـی عمـومی استنشاقی یا وریدی قرار می‌گیرند. اگرچه مکـانیزم مولکـولی دقیق عمل‌کرد تمام آن‌ها مشخص نشده است اما تاثیر آن‌ها از طریق انواعی از کانـال‌هـای یـونی، رسپتورهای $GABA_A$ و NMDA به عنوان اهـداف اصـلی ایـن داروهـا مـورد توجـه می‌باشند [۱].

هوش‌برهایی ماننـد بـاربیتورات‌هـا در طیـف وسـیعی از اختلالات از کاهش اضطراب و القای بی‌هوشی گرفته تا مهار تشنجات کاربرد دارند. نقش اصلی این عوامل با اثر بر گیرنـده $GABA_A$ و افزایش کنداکتانس کانال کلری می‌باشـد کـه ایـن اثر را با کند نمودن جـدایی گابـا از رسـپتور و افـزایش ولـع گیرنده برای گابای درون‌زاد اعمال می‌کنند [۳،۲]. بـی‌هوشـی مکرر نوزادان یا کودکان به دلایل مختلف کلینیکی رایج است. شواهد نشان می‌دهد که دریافت عوامل هـوش‌بـر عمـومی در مراحل تکوین مغز پستان‌داران سبب آسیب‌های بعدی می‌شود.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۳۹۶۲۲۷۴ نمابر: ۸۷۶۲۲۲۷ - ۰۵۱۱

Email: f.f.majidi610@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۳/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۱/۵

برای مشخص کردن اثرات نوروتوکسیک داروها در مغز در حال تکوین، محققین از مدل‌های حیوانی مختلفی استفاده می‌کنند [۵،۴]. در طول رشد سیستم عصبی، بسیاری از نورون‌ها توسط مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌میرند. تئوری پذیرفته‌شده این است که جمعیت نورون‌های تولید شده بیش از حد می‌باشد، پس بین آن‌ها برای دریافت عوامل تروفیک رقابت صورت گرفته و در نهایت برآیند آن تعادل مناسب بین تعداد سلول‌های پیش‌سیناپسی و پس‌سیناپسی است. واضح است که سلول‌هایی که در طول تکوین برای ویژگی عملکرد سیستم عصبی لازم نیستند می‌میرند [۶]. رشد سریع مغز در گونه‌های مختلف پستانداران در زمان‌های متفاوتی رخ می‌دهد. در رت‌ها ۲ روز قبل از تولد تا ۱۴روزگی است. در حالی‌که در انسان از سه ماهه اول بارداری آغاز شده و ۲-۳ سال پس از تولد ادامه می‌یابد. پیک سیناپتوژنز در رت‌ها در روز ۷ پس از تولد می‌باشد [۷]. سیستم عصبی مرکزی نابالغ به میزان زیادی نسبت به محیط حساس بوده و توسط عوامل خارجی تحت تاثیر قرار می‌گیرد. زمانی‌که سد خونی- مغزی به طور کامل توسعه‌نیافته و نوروژنز و سیناپتوژنز به میزان بالایی می‌باشد تشکیل ارتباطات سیناپسی بین نورون‌ها فرایندی ضروری در تشکیل مدارات عصبی است. بهم‌ریختگی این فرایند منجر به ناهنجاری در تکوین سیستم عصبی مرکزی می‌شود. بی‌هوشی عمومی در حیوانات نابالغ سبب افزایش سطح آپاپتوز و کاهش در انشعابات سیناپسی و کاهش غیرطبیعی در تعداد نورون‌های باقی‌مانده می‌شود. اعتقاد بر این است که انواع بی‌هوشی عمومی در ارتباط با تغییر در انتقالات سیناپسی گابا یا رسپتور NMDA می‌باشد [۹،۸].

اساس فعالیت طبیعی قشر مغز انتقال در نورون‌های تحریکی گلوتاماترژیک است. فعالیت در این شبکه توسط مجموعه‌ای از اینترنورون‌های گاباارژیک کنترل می‌شود. عملکرد ناهنجار در هر کدام از این جمعیت‌ها اثرات متفاوتی بر دینامیک مغز دارد [۱۰]. علاوه بر این گیرنده $GABA_A$ در تنظیم درد در سیستم عصبی مرکزی نیز نقش دارد [۱۱]. یکی از مکان‌های اثر باربیتورات‌ها سیستم مهاری پایین‌رو است. ماده خاکستری دور قنات مغزی یک جز اصلی در سیستم پایین‌رو مهاری درد است که تحریک این ناحیه سبب بی‌دردی می‌شود. ماده خاکستری دور قنات مغزی حاوی شبکه‌ای از نورون‌های گاباارژیک است که با مهار این شبکه بی‌دردی حاصل می‌شود [۱۳،۱۲]. مکانیزم دیگر در تنظیم شدت درد نورون‌های سروتونرژیک می‌باشد که اینترنورون‌های شاخ پشتی نخاع را مهار می‌کند. در نتیجه اختلال در این سیستم آنالژزیک درون‌زاد، مهار پایین‌رو از بین رفته و باعث بروز پاسخ‌های اغراق‌آمیز نورون‌های شاخ پشتی به ورودی‌های تحریکی می‌شود [۱۵،۱۴]. داروهای هوش‌بر مثل باربیتورات‌ها پتانسیل کاهش اضطراب و القای بی‌هوشی و مهار تشنجات را دارند. این عوامل با اثر بر گیرنده $GABA_A$ مدت زمان باز بودن کانال را افزایش داده و سبب ورود یون‌ها به درون سلول می‌شوند. هم‌چنین این گیرنده‌ها در تنظیم درد نیز نقش دارند.

این‌که باربیتورات‌ها سبب افزایش یا کاهش در آستانه درد می شود هنوز جای بحث وجود دارد. هدف مطالعه حاضر این است که آیا مصرف باربیتورات‌ها (تیوپنتال) در دوره‌ی نوزادی آستانه‌ی درد و تشنج‌پذیری در بلوغ را تحت تاثیر قرار می‌دهد یا خیر.

مواد و روش‌ها

از ۷ رت ماده باردار نژاد ویستار استفاده شد. حیوانات در اتاق نگهداری با دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در قفس‌های مخصوص نگه‌داری می‌شدند. پس از زایمان ۴۰ نوزاد نر سالم به مدت ۱۰ روز در آزمایشگاه نگهداری شده و سپس به دو گروه تقسیم شدند. گروه تجربی (۲۰ سر نوزاد نر) از ۱۰ روزگی تا ۲۰ روزگی تحت تزریق داخل صفاقی تیوپنتال با دوز ۳۰mg/kg قرار گرفتند. نوزادان به مدت ۲-۴ ساعت در وضعیت بی‌هوشی عمومی عمیق مرحله سوم و چهارم قرار داشتند. گروه دوم نیز به تعداد ۲۰ نوزاد نر طی روزهای ۱۰ تا ۲۰ پس از تولد حلال تیوپنتال (سرم فیزیولوژی) دریافت

کردند و گروه شم آزمایشات بودند. پس از اتمام دوره تزریق (۲۰روزگی) حیوانات تا رسیدن به بلوغ (۲/۵ ماهگی) در محیط آزمایشگاه نگه‌داری شدند. پس از بلوغ رت‌های هر گروه به دو دسته تقسیم شدند. ۷ سر نر تجربی و ۷ سر نر شم تحت تزریق داخل صفاقی پنتیلن تترازول (تست تشنج) قرار گرفتند. گروه تجربی و شم دیگر (هر کدام ۷ سر) تحت تست درد Tail-Flick و پس از آن تحت تست فرمالین قرار گرفتند.

آزمایشات ایجاد تشنج شیمیایی. پس از رسیدن به ۲/۵ ماهگی به منظور ایجاد تشنج شیمیایی به رت‌های نر گروه شم و تجربی پنتیلن تترازول (۴۵ mg/kg) به صورت داخل صفاقی تزریق شد. ۲۵ mg پنتیلن تترازول در ۱ ml سرم فیزیولوژی حل شد. حجم محلول مورد تجویز برای هر رت با دوز ۴۵ mg/kg بر اساس وزن بدن محاسبه و به رت‌ها تزریق شد. پس از تزریق حیوان رفتار تشنجی نشان می‌دهد و به مدت ۶۰min، شدت و زمان بروز حملات تشنجی ثبت گردید [۱۶].

آزمایشات درد. تمام نرهای بالغ گروه تجربی و شم برای اندازه‌گیری آستانه درد تحت آزمون Tail flick (TF) قرار گرفتند. زمان واکنش حرکت دم در پاسخ به محرک نوری دردزا ثبت و به عنوان زمان تاخیرTF استفاده می‌شود [۱۹،۱۸]. آستانه درد سه بار با فاصله زمانی یک دقیقه برای هر رت اندازه‌گیری و ثبت شد.

پس از انجام تستTF ، محلول فرمالین به میزان ۰/۰۵ ml به صورت زیر جلدی در کف پا حیوانات تزریق و رفتار جانور با استفاده از جدول ۲ ثبت شد [۲۱]. تزریق فرمالین ۰/۰۵ cc در کف پا سبب درد شده درجه پاسخ به درد در هر رت در هر دقیقه ثبت شد سپس از هر ۵ دقیقه میانگین حاصل با گروه شم مقایسه گردید.

در کلیه مراحل آزمایشی و کار با حیوانات ضوابط اخلاق پژوهشی مصوب دانشگاه فردوسی مشهد و اصول پیشنهادی بین‌المللی رعایت گردید و پس از اتمام آزمایشات، حیوانات جهت مطالعات هیستولوژیک Euthanize شدند.

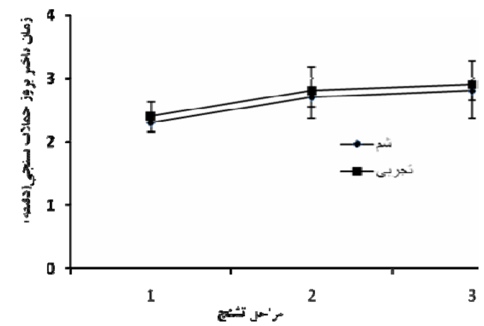
آنالیز آماری. برای تجزیه و تحلیل نتایج، محاسبه خطای میانگین (SEM) و مقایسه میانگین‌ها بین دو گروه شم و تجربی از روش آماری Independent t-test و نرم‌افزار آماری SPSS (16.0)استفاده شد. داده‌های تست فرمالین از طریق Repeated measure ANOVA آنالیز شد. نتایج به صورت Mean±SEM نشان داده شد (n=۷).

نتایج

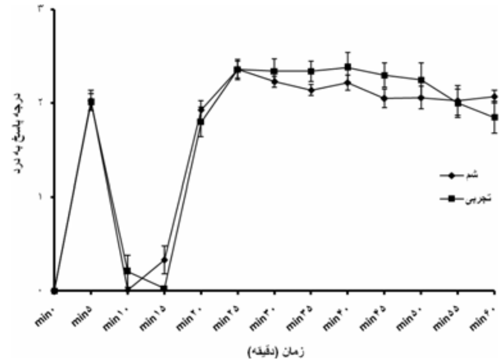
مقایسه زمان بروز حملات تشنجی مراحل I, II, III بین دو گروه شم و تجربی نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین دو گروه از نظر شدت تشنج وجود ندارد (p>۰/۰۵). بی‌هوشی مکرر با تیوپنتال از ۱۰روزگی تا ۲۰روزگی سبب تغییر در میزان تشنج‌پذیری نشده است. ابتدا در هر گروه میانگین زمان بروز حملات تشنجی پس از تزریق پنتیلن تترازول (PTZ) در رت‌ها محاسبه شد سپس زمان بروز حملات تشنجی مراحل I, II, III در دو گروه مقایسه گردید (شکل ۱).

زمان تاخیر TFبرای رت‌های هر گروه شم و تجربی محاسبه و میانگین حاصل بین گروه‌ها مقایسه گردید. بی‌هوشی مکرر با تیوپنتال در دوره نوزادی از ۱۰روزگی تا ۲۰روزگی تاثیری در آستانه درد در رت‌های بالغ نداشته است. مقایسه میانگین‌های دو گروه اختلاف معنی‌داری در زمان تاخیر بروز واکنش نشان نداد (P>۰/۰۵). میانگین زمان تاخیر برای گروه شم و تجربی هر کدام به ترتیب ۳/۹±۰/۲ دقیقه و ۳/۷±۰/۱ دقیقه می‌باشد.

دو گروه شم [F (۷۰،۱۱)=۳۲/۵، P<۰/۰۰۰۱] و تجربی [F (۷۰،۱۱)=۳۲/۵، P<۰/۰۰۰۱] در تست فرمالین دو مرحله مشخص درد را مشابه یک‌دیگر بروز دادند. بنابراین، بی‌هوشی مکرر در دوره نوزادی از ۱۰روزگی تا ۲۰روزگی تاثیری در میزان پاسخ به درد در دوره بلوغ ایجاد نمی‌کند. نمودار حاصل از این آزمون در دو فاز مشخص می‌شود (شکل ۲).



شکل ۱. بررسی اثر بیهوشی مکرر با تیوپنتال بر میزان تشنج پذیری. تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و شم از نظر زمان بروز تشنج وجود نداشت (P=0/8).



شکل ۲. بررسی اثر بیهوشی مکرر در دوره نوزادی بر میزان پاسخ به درد ناشی از فرمالین در بلوغ: مقایسه میانگین‌های دو گروه شم و تجربی تفاوت معنی داری آشکار نکرد($P>0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

تجویز مکرر باربیتورات‌ها در دوره نوزادی سبب تغییراتی مانند افزایش در حساسیت به حملات تشنجی می‌شود. ساختارهای زیادی در حساسیت به تشنج نقش دارند ولی هیپوکامپ ساختار اصلی در حساسیت به تشنج است. تزریق نوزادی باربیتورات‌ها از ۲-۲۱روزگی که سبب القای تشنج می‌شود، هم‌چنین سبب اختلال در نورون‌های پیرامیدال و گرانولار هیپوکامپ می‌شود. هنوز ارتباط بین سلول‌های گرانولی و پیرامیدال در رفتار تشنجی معلوم نیست [۲۲]. مصرف باربیتورات‌ها در موش‌های باردار از نهمین روز بارداری تا هجده روزگی باعث تغییر در حساسیت به تشنج نمی‌شود. اما منجر به کاهش نورونی شده که این امر در سلول‌های پیرامیدال هیپوکامپ نشان داده شده است [۲۳]. تزریق مزمن باربیتورات‌ها در سه هفته اول پس از تولد سبب کاهش کلسترول مغز می‌شود میزان کلسترول منعکس‌کننده میلین‌سازی است. کاهش در کلسترول نشان‌دهنده اثرات مخالف باربیتورات‌ها بر میلین‌سازی می‌باشد که سبب تغییر در هدایت ایمپالس نورونی گردیده و این کاهش در میلین‌سازی باعث افزایش در آستانه لازم برای بروز تشنج در رت‌هایی است که در دوره نوزادی تحت تیمار با باربیتورات‌ها بودند [۲۵،۲۴]. داروهای بی‌هوشی در مغز جوندگان نابالغ سبب افزایش حساسیت نورونی به مرگ آپاپتوتیک می‌شود. هم‌چنین این داروها با اثر بر عوامل نوروتروفیک در مغز باعث مهار سیستم حفاظت‌کنندگی درون‌زاد می‌شوند. فنوباربیتال سنتز فاکتور رشد عصبی مشتق از مغز (BDNF) را سرکوب می‌کند. این تغییرات باعث اختلال در بقا و عدم تعادل بین مکانیزم‌های حفاظت عصبی و تخریب عصبی در مغز می‌شود [۲۶]. پروتئین‌های سیناپسی مانند آمفیزین و سیناپتوفیزین در تشکیل و سازمان‌دهی سیناپسی به‌ویژه در طی تکوین نقش مهمی دارند و باعث ثبات و پایداری سیناپسی در طول تکوین هستند. تشکیل ارتباط سیناپسی مناسب برای بقای نورونی در طول تکوین مهم است به‌طوری‌که نورون‌های نابالغی که در تشکیل ارتباطات شکست می‌خورند به‌واسطه آپاپتوز می‌میرند. در تجویز مکرر عوامل هوش‌بر در طول دوره بحرانی مغز سبب اختلال در پروتئین‌های سیناپسی و آسیب مغزی می‌شود [۲۷]. قبل از بلوغ سیستم گاباارژیک به عنوان سیستم تحریکی در نورون‌های نابالغ است. فعال‌سازی رسپتور $GABA_A$ و جریان رو به بیرون کلر باعث دپلاریزاسیون می‌شود. دپلاریزاسیون ناشی از گابا منجر به باز شدن کانال کلسیمی حساس به ولتاژ و افزایش کلسیم درون سلولی می‌شود. جریان کلسیم به طور نرمال تروفیک است. فعال‌سازی رسپتور $GABA_A$ توسط عوامل بی‌هوشی در ۷ روزگی باعث بروز اثرات سایتوتوکسیک و مرگ سلولی می‌شود. این اثر ناشی از القای از دست دادن سیتوکروم C و فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ و آپاپتوز می‌باشد [۲۸]. هم‌چنین مرگ آپوپتوزی نورونی ناشی از عوامل بی‌هوشی در طول تکوین مغز به‌واسطه تنظیم کاهشی پروتئین‌های bcl-۲ و تنظیم افزایشی سیتوکروم C و فعالیت آنزیم کاسپاز ۹ در رت‌های ۷

روزه قابل اندازه‌گیری بوده است. اما در روز دهم این تغییرات غیرحساس شده و در روز ۱۴ (پایان سیناپتوژنز) دیده نمی‌شود. پیک حساسیت سیناپتوژنز در روز هفتم است و در روز ۱۴ کم‌ترین حساسیت را دارد. بروز آپاپتوز وابسته به زمان سیناپتوژنز است [۳۰،۲۹]. بنابراین با توجه به تنوع روش‌های ایجاد تشنجات، حساسیت و علائم بروز کرده در هر روش نیز متفاوت می‌باشد، لذا در صورت وجود تغییرات عمل‌کردی، لازم است با استفاده از سایر روش‌های ایجاد تشنج بررسی مجدد انجام شود. این استدلال برای درد نیز قابل ارائه می‌باشد. از طرفی دوران بحرانی تکوین مغز رت دو روز قبل از تولد تا ۱۴ روز پس از تولد و اوج آن در روز هفتم است. لذا در صورت اعمال بی‌هوشی در این دوران احتمال وقوع تغییرات در میزان تشنج‌پذیری و پاسخ به درد وجود دارد. مرگ سلولی بسته به جمعیت سلولی و موقعیت آن‌ها منجر به بروز اختلالاتی در سیستم عصبی در ارتباط با تشنج‌پذیری و یا حواسی مثل درد می‌شود که اگر پدیده جبرانی رخ ندهد حتی پس از بلوغ قابل ردیابی خواهد بود. لذا در این پژوهش مصرف داروی بی‌هوشی تیوپنتال (آگونیست رسپتور $GABA_A$) در دوره نوزادی از ۱۰روزگی تا ۲۰روزگی استفاده شده و اثر آن در تشنج‌پذیری و احساس درد پس از بلوغ مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان از عدم تغییر در این دو مورد داشت. بنابراین احتمالاً هر تغییری که توسط استفاده مکرر نوزادی از داروی تیوپنتال در هر نوزاد رخ داده اعم از مرگ و بروز آپاپتوز و بروز تغییرات میلینی اکسون‌ها و سیناپتوژنز در فرصت پس از آن تا بلوغ به‌نحوی جبران شده که تغییرات ایجاد شده احتمالی در تشنج‌پذیری و یا احساس درد به حالت عادی خود باز گشته است.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه با شماره ثبت ۲۰۳۱۰۳۵ و با هزینه دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد انجام شده است.

منابع

[1] Szmuk P, Olomuk P, Pop RB, Farrow-Gilespie AC. General anesthetics and neurotoxicity in the developing brain: a review of current literature. J Rom Anest Terap Int 2010; 17: 117-122.

[2] Tatsuo MA, Yokoro CM, Salgado JV, Pesquero SM, Santana MA, Francischi JN. Hyperalgesic effect induced by barbiturates, midazolam, and ethanol: pharmacological evidence for GABA-A receptor involvement. Braz J Med Biol Res 1997; 30: 251-256.

[3] Tanelian DL, Kosek P, Mody I, MacIver MB. The role of the GABAA receptor/chloride channel complex in anesthesia. Anesthesiology 1993; 78: 757-776.

[4] Olney JW, Young C, Wozniak DF, Ikonomidou C, Jevtovic-Todorovic V. Anesthesia-induced developmental neuroapoptosis. Does it happen in humans? Anesthesiology 2004; 101: 273-275.

[5] Anand KJ. Anesthetic neurotoxicity in newborns: should we change clinical practice? Anesthesiology 2007; 107: 2-4.

[6] Buss RR, Oppenheim RW. Role of programmed cell death in normal neuronal development and function. Anat Sci Int 2004; 79: 191-197.

[7] Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y, Benshoff ND, Dikranian K, Zorumski CF, et al. Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. J Neurosci 2003; 23: 876-882.

[8] Agrawal AK, Shapiro BH. Neonatal phenobarbital imprints overexpression of cytochromes P450 with associated increase in tumorigenesis and reduced life span. FASEB J 2005; 19: 470-472.

[9] Bajaj P. General anesthetic-induced neurotoxicity. Indian J Anaesth 2008; 52: 5-7.

[10] Ikonomidou C, Bittigau P, Koch C, Genz K, Hoerster F, Felderhoff-Mueser U, et al. Neurotransmitters and apoptosis in the developing brain. Biochem Pharmacol 2001; 62: 401-405.

[11] Yokoro CM, Pesquero SM, Turchetti-Maia RM, Francischi JN, Tatsuo MA. Acute phenobarbital administration induces hyperalgesia: pharmacological evidence for the involvement of supraspinal GABAA receptors. Braz J Med Biol Res 2001; 34: 397-405.

[12] Tatsuo MA, Yokoro CM, Salgado JV, Pesquero SM, Santana MA, Francischi JN. Hyperalgesic effect induced by barbiturates, midazolam, and ethanol: pharmacological evidence for GABAA receptor involvement. Braz J Med Biol Res 1997; 30: 251-256.

[13] Behbehani MM, Jiang MR, Chandler SD, Ennis M. The effect of GABA and its antagonists on midbrain periaqueductal gray neurons in the rat. Pain 1990; 40: 195-204.

[14] Archer DP, Ewen A, Roth SH, Samanani N. Plasma, brain, and spinal cord concentrations of thiopental associated with hyperalgesia in the rat. Anesthesiology 1994; 80: 168-176.

[15] Archer DP, Ewen A, Froelich J, Roth SH, Samanani N. Thiopental induced enhancement of somatic motor responses to noxious stimulation: influence of GABAA receptor modulation. Can J Anaesth 1996; 43: 503-510.

[16] Ma X, Liu G, Wang S, Chen Z, Lai M, Liu Z, Yang J. Evaluation of shingolipids changes in brain tissues of rats with pentylenetetrazol-induced kindled seizure using MALDI-TOF-MS. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2007; 859: 170-177.

[17] Zimmerman M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. Pain 1983; 16: 109-110.

[18] Nikenina EV, Abramov YB. Study of cognitive component of nociception by the tail flick method. Bull Exp Biol Med 2009; 147: 378-380.

[19] Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. Pharmacol Rev 2001; 53: 597-652.

[20] Monsef HR, Ghobadi A, Iranshahi M, Abdollahi M. Antinociceptive effects of peganum harmala L.alkaloid extract on mouse formalin test. J Pharm Pharm Sci 2004; 7: 65-69.

[21] Tatsuo MA, Salgado JV, Yokoro CM, Duarte ID, Francischi JN. Midazolam-induced hyperalgesia in rats: modulation via GABAA receptor at supraspinal level. Eur J Pharmacol 1999; 370: 9-15.

[22] Sun LS, Li G, Dimaggio C, Byrne M, Rauh V, Brooks-Gunn J, et al. Anesthesia and neurodevelopment in children. Anesthesiology 2008; 109: 757-761.

[23] Yanai J, Bergman A. Neuronal deficits after neonatal exposure to phenobarbital. Exp Neurol 1981; 73: 199-208.

[24] Reinisch JM, Sanders SA. Early barbiturate exposure: the brain, sexually dimorphic behavior and learning. Neurosci Biobehav Rev 1982; 6: 311-319.

[25] Schain RJ, Watanabe K. Effect of chronic phenobarbital administration upon brain growth of the infant rat. Exp Neurol 1975; 47: 509-515.

[26] Bittigau P, Sifringer M, Genz K, Reith E, Pospischil D, Govindarajalu S, et al. Antiepileptic drugs and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99: 15089-15094.

[27] Nikizad H, Yon JH, Carter LB, Jevtovic-Todorovic V. Early exposure to general anesthesia causes significant neuronal deletion in the developing rat brain. Ann N Y Acad Sci 2007; 1122: 69-82.

[28] Wilson CA, Davies DC. The control of sexual differentiation of the reproductive system and brain. Reproduction 2007; 133: 331-359.

[29] Anand KJ, Soriano SG. Anesthetic agents and the immature brain: are these toxic or therapeutic? Anesthesiology 2004; 101: 527-530.

[30] Nuñez JL, Alt JJ, McCarthy MM. A new model for prenatal brain damage I. GABAA receptor activation induced cell death in developing rat hippocampus. Exp Neurol 2003; 181: 258-269.

Effects of repeated anesthesia by thiopental in neonatal period on PTZ-induced convulsions and pain responses during maturation in rats

Fatemeh Faghih Majidi (M.Sc)*, Ali Moghimi (Ph.D), Masoud Fereidoni (Ph.D)
Dept. of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

(Received: 11 Jun 2011 Accepted: 25 Jan 2012)

Introduction: General anesthetics during critical periods of brain development may cause some serious malformations or side effects. Anesthetic drugs can involve in the brain development and synaptogenesis at the critical period of development. There are some controversy with regards the effects of (neurodegenerative or neuroprotective) barbiturates on brain. The aim of the present study was to investigate the possible relation between repeated induced thiopental (a GABAA agonist) anesthesia at the postnatal period and pentylentetrazol-induced convulsions and pain responses in adult in the Wistar rats.

Materials and methods: 40 male neonate rats were divided into experimental and sham groups. The experimental group (n=20) was deeply anesthetized with thiopental (30 mg/kg daily) during 10 to 20-days of post- natal period and physiologic serum was used for sham animals. After maturation of male rats, the **PTZ-induced seizures** were induced by daily interapritoneally injection of PTZ (45 mg/kg), and the latency of the appearance of generalized epileptiform behaviors was recorded. Pain responses were also evaluated using tail-flick and formalin tests.

Results: No significant differences were found in the lantency of the appearance of behavioural convulsions and pain sensitivity between experimental and sham groups.

Conclusion: Our findings indicate that prior exposure to thiopental during nenonatal stage has no effects on PTZ-induced seizures and also pain responses after maturation. Developmental compensatory mechanisms may protect the brian against the possible damage that induced by repeated thipopental during neonatal period.

Key words: Anesthesia, Thiopental, Seizure, Pentylenetetrazole, Pain responses, Neonatal period

* Corresponding author: Fax: +98 511 8762227; Tel: +98 09113962274
f.f.majidi610@gmail.com