

اثرات تعدیلی باربیتواتها و ترکیب دوتایی آنها بر گیرنده α_1 گلیسین انسانی بیان شده بر تخمک قورباغه *Xenopus Laevis*

دکتر مهسا هادیپور جهرمی^۱، دکتر استفان دانیالز^۲، دکتر محمود قاضی خوانساری^۳

^۱ استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران

^۲ استاد، گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی کاردیف، انگلستان

^۳ دانشیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

سابقه و هدف: به منظور یافتن محل اثر مشترک داروهای بیهوش کننده باربیتوراتی بر گیرنده α_1 گلیسین، اثرات منفرد و ترکیبات دوتایی داروهای تیوپنتال، پنتوباریتال و متوهگزیتال بر این گیرنده بیان شده بر روی تخمک قورباغه *Xenopus* با استفاده از روش اتصال با ولتاژ ثابت با دو الکترود *Two-electrode voltage-clamp* انجام پذیرفت.

روش بررسی: در مطالعه مداخله‌ای حاضر ژن مولد گیرنده مذکور بطور نوترکیب تهیه و mRNA حاصله به بخش سیتوپلاسمی تخمک قورباغه بطور میکرونی تزریق گردید. جهت مطالعات فارماکولوژیکی بر روی این گیرنده با اتصال به ولتاژ ثابت 60mV - جریانات القا شده (کانال کلر) مورد ارزیابی با دو الکترود قرار گرفت. سپس به مطالعه اثرات سه داروی باربیتوراتی بر گیرنده مذکور در حضور آگونیسست آن به تنهایی و بصورت ترکیب دوتایی پرداختیم.

یافته‌ها: تیوپنتال ($40\mu M$ -5) و پنتوباریتال ($40\mu M$ -25) (اما نه متوهگزیتال) جریانهایی حاصله از گلیسین با غلظت $50\mu M$ را بطور وابسته به دوز، حداکثر به میزان 220 و 400 درصد تقویت نمودند. ترکیب دوتایی متوهگزیتال با تیوپنتال و یا پنتوباریتال، اثر تقویتی دو داروی اخیر را در مقایسه با استفاده از هر یک به تنهایی بطور محسوسی کاهش داده که میزان آن به ترتیب 180 و 280 درصد گزارش شد. ترکیب دوتایی تیوپنتال با پنتوباریتال ($50\mu M$) باعث افزایش اثر تقویتی در مقایسه با استفاده از هر کدام از داروها به تنهایی شده است.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان می‌دهد دو داروی تیوپنتال و پنتوباریتال به‌عنوان تعدیل‌کننده‌های آلوستریکی مثبت بر روی گیرنده گلیسین اثر می‌کنند. در مقابل متوهگزیتال علی‌رغم بی‌اثر بودن بر تحریکات آگونیسست، به‌عنوان یک آنتاگونیست رقابتی در برابر اثرات تیوپنتال و پنتوباریتال عمل می‌نماید. بر اساس نتایج پیشنهاد می‌شود که سه داروی باربیتوراتی، از طریق اتصال به مکانهای مشترکی بر گیرنده گلیسین انسانی اثر می‌نمایند.

واژگان کلیدی: گیرنده گلیسین، بیهوشی، باربیتوراتها.

مقدمه

بیهوش کننده‌های عمومی از مهمترین و پرمصرفترین داروهای مورد استفاده در کلینیک می‌باشند. علی‌رغم استفاده بسیار از آنها، مکانیسم دقیق داروهای بیهوشی هنوز مورد بحث بوده و

به‌عبارتی به‌درستی مشخص نیست. بر خلاف بیشتر دسته‌های دارویی که از طریق اثر بر روی یک پروتئین گیرنده عمل می‌نمایند مکانیسم عمل بیهوش کننده‌ها را اغلب از طریق اثر بر مکانهای چندگانه غیراختصاصی بیان می‌کنند. برای مدتهای مدیدی دو لایهٔ چربی موجود در غشای عصبی را محل یا هدف اولیه این داروها در نظر می‌گرفتند اما به‌دنبال تحقیقات چند ساله اخیر، امروزه به‌نظر می‌رسد که محل اثر عمده داروهای

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران، گروه فارماکولوژی،

دکتر مهسا هادیپور جهرمی (email: jahromymh@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۲/۸/۱۶

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۴/۶/۲۵

DNA حاصله در پلاسمید Bluescript Sk/α. پس از کشت شبانه سلولهای نوترکیب با استفاده از روش Miniprep که بر اساس لیر قلیانی عمل می‌نماید، تهیه گردید. سپس توسط آنزیم EcoRV بصورت خطی تهیه شد plus SV Miniprap DNA (PROMEGA, wizard@purification System).

هضم کامل محصول فوق تولید یک باند منفرد با وزن ملکولی ظاهری ۴/۷ کیلو دالتون بر روی ژل آگاروز حاوی اتیدیوم بروماید می‌نماید. سپس cRNA با استفاده از پروموتور باکتریوفاژ T3 و کیت‌های مربوطه جهت ترانسفورماسیون، *in vitro* تهیه گردید (mCap mRNA Capping Kit, Stratagene). در نهایت cRNA حاصله را به وسیله دستگاه تزریق میکرونی هیدرولیکی به میزان ۵۰ ml از غلظت ۱ μg/μl، به هر تخمک (*Xenopus laevis* (فاز II و III رشد) که از قورباغه ماده بالغ گونه *Xenopus laevis* بدست آمده، تزریق کردیم.

تخمک قورباغه *Xenopus laevis* دارای قابلیت بالا جهت بیان ژن گیرنده گلیسین انسانی به صورت گیرنده-کانال یونی پس از هشت ساعت می‌باشد. تخمکها را در ظروف استریل حاوی محلول مخصوص تخمکها به نام محلول Barth نگهداری می‌نمودیم. محلول مذکور حاوی (mM): 100NaCl, 1KCl, 0.41CaCl₂, 0.33Ca(NO₃)₂, 0.82MgSO₄, 2NaHCO₃, 10HEPES, pH 7.4، به اضافه مقادیر مساوی (۱۰۰ nM/ml) از آنتی‌بیوتیکهای پنی‌سیلین و استرپتومایسین، می‌باشد.

تخمک‌های تزریق شده قبل از آماده شدن برای ثبت الکتریکی، دِفولیکوله شدند. این عمل را یا با استفاده از آنزیم کلاژناز A (SIGMA) به میزان ۰/۵mg/ml به مدت ۳۰ دقیقه (۱۱) و یا به طریقه دستی با استفاده از دو عدد پنس و محلول هیپراسمولار و پارگی لایه فولیکولی و جدا سازی آن، انجام دادیم. پاسخهای جریان نسبت به غلظتهای مختلف گلیسین با استفاده از تکنیک اتصال به ولتاژ ثابت با دو الکتروود، بر روی ثبات کاغذی تقویت کننده، ثبت گردید. پتانسیل نگهدارنده (ثابت) در تمامی آزمایشات ۶۰ mV- تعیین گردید. در ضمن ثبت الکتریکی، تخمکها مرتباً با محلول رینگر مخصوص بنام Frog Ringer تحت شستشو یا به عبارتی پرفیوژن قرار داشتند. محلول مذکور حاوی (mM): 120 NaCl, 2KCl, 10 CaCl₂, 10 HEPES, pH 7.4 می‌باشد.

داروهای بیهوشی قبل از استفاده در Frog Ringer محلول شده و سپس بر روی تخمک اثر داده می‌شدند. پودرهای تیوپنتال (Na) و پنتوباریتال از SIGMA و متوهگزیتال به فرم تجاری مورد استفاده وریدی که حاوی ترکیبی از متوهگزیتال

بیهوشی پروتئینهای عصبی، به خصوص کانالهای یونی وابسته به لیگاند باشند (۱-۳). در چند ساله اخیر، اثرات بیهوش-کننده‌ها بر کانالهای یونی وابسته به GABA (گاما-آمینوبوتریک اسید) و گلوتامات بسیار مورد بررسی قرار گرفته است (۱). نتایج حاصله بیان کننده اثر عمده این داروها (بخصوص فرمهای تزریقی بیهوش کننده‌ها) در غلظتهای رایج بالینی، از طریق تقویت عمل گابا برگیرنده GABA بوده است (۴،۵).

امروزه روشن شده است که اکثریت مسیرهای عصبی مهاری به خصوص در ساقه مغز و طناب نخاعی، از واسطه عصبی گلیسین استفاده می‌نمایند. به علاوه این واسطه شیمیایی گستردگی و پراکندگی وسیعی در تمامی سیستمهای عصبی مرکزی (CNS) دارد (۶،۷).

مطالعات دیگر نشان داده است که اکثریت بیهوش کننده‌های استنشاقی (۸) و برخی انواع وریدی، به عنوان تعدیل کننده‌های آلوستریکی مثبت گیرنده گلیسین حساس به استریکینین (۹-۱۱) عمل می‌کنند.

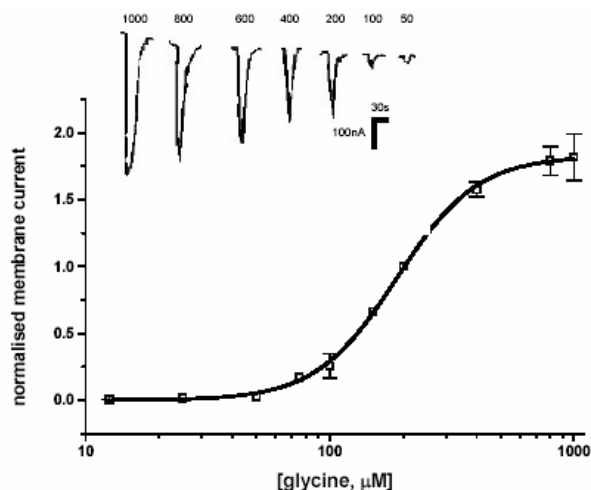
علاوه بر مطرح بودن این سؤال که چه گیرنده‌هایی در ایجاد بیهوشی دخالت دارند، دانستن اینکه آیا داروهای بیهوشی یک اثر مشترک را بر روی یک پروتئین گیرنده دارند یا مکانهای مشخصی مورد هدف هستند، نیز از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. یکی از روشهای مطالعه این سئوالات، بررسی اثرات ترکیبی (ترکیب دوتایی) این داروها به منظور مشاهده اثر رفتاری تجمعی (افزایشی) و یا غیر تجمعی است.

ما در این تحقیق مطابق آزمایشات انجام شده بر اساس سیستم بیان ژن بر روی تخمک قورباغه *Xenopus laevis*، اثرات ترکیبات دو تایی سه داروی باربیتوراتی مورد استفاده در بیهوشی شامل تیوپنتال، پنتوباریتال و متوهگزیتال را بر روی گیرنده گلیسین انسانی که به روش کلون سازی ژن تهیه گردید، را بررسی نمودیم. هر سه داروی استفاده شده از نظر ساختمانی مشابه یکدیگر می‌باشند.

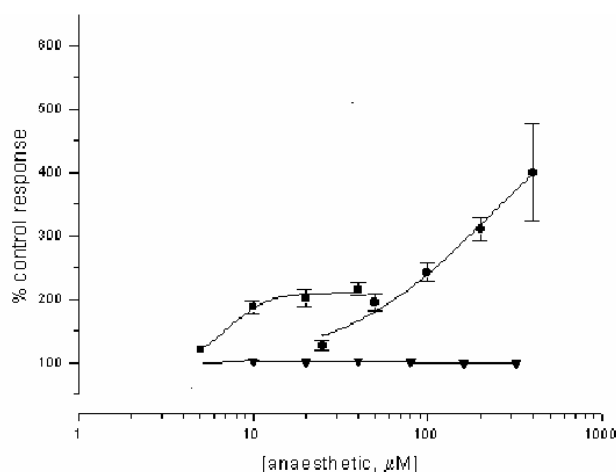
مواد و روشها

در مطالعه مداخله‌ای حاضر جهت تهیه ژن گیرنده گلیسین انسانی به تعداد زیاد، ابتدا cDNA حاوی ژن زیرواحد α از گیرنده گلیسین انسان بالغ که در قسمت EcoRI از پلاسمید نوع pBluescript SK واقع می‌باشد (اهدایی از Prof. Betz مرکز تحقیقات Max Plank) را در اختیار داشتیم. با استفاده از شوک گرمایی، آن را وارد باکتری E.coli نموده،

مختلف گلیسین ($10-1000 \mu\text{M}$) با یک جریان درونی یا ورودی به طرف داخل و وابسته به غلظت، پاسخ دادند. EC_{50} محاسبه شده و میزان آن $201 \pm 9 \mu\text{M}$ تعیین گردید که در شکل ۱ قابل مشاهده است. ضریب Hill نیز بر اساس برنامه Onigin-6 به میزان $2/6 \pm 0/1$ به دست آمد.



شکل ۱- منحنی غلظت-پاسخ گلیسین تخمک‌هایی که گیرنده‌های α_1 گلیسین انسانی بر آنها بیان شده است. جریانهای ورودی در تخمکها در ولتاژ -60 mV که نسبت به غلظتهای مختلف گلیسین آزمایش شده اندازه‌گیری شده‌اند. منحنی بالا، نشان‌دهنده غلظت گلیسین به کار رفته و زمان هر قسمت ۳۰ ثانیه می‌باشد. نقاط \square نشان‌دهنده میانگین پاسخ جریان است که نسبت به جریان ناشی از گلیسین با غلظت $200 \mu\text{M}$ به صورت نرمال در آمده است و حاصل ۲۰ آزمایش مستقل از یکدیگر می‌باشد. خطوط انحراف از میانگین نیز در هر نقطه نشان داده شده است. خط اصلی منحنی نشان‌دهنده بهترین fit نسبت به عمل نیمه لگاریتمی آن است که EC_{50} محاسبه شده معادل $201 \pm 9 \mu\text{M}$ ، $h = 2/6 \pm 0/1$ بوده $min = 0$ و $max = 1/8 \pm 0/1$ (fixed) در نظر گرفته شده است.



شکل ۲- درصد پاسخ کنترل (جریان) در حضور آگونیست. از تخمک‌هایی که گیرنده‌های α_1 گلیسین انسانی بر آنها بیان شده‌اند در حضور تیوپنتال (■)، پنتوباریتال (●)، متوهگزیتال (▼) استفاده شد. در تمامی موارد، نقاط نشان دهنده میانگین هشت سری آزمایش جداگانه با انحراف از میانگین است. اطلاعات آنالیز نیمه لگاریتمی به ترتیب عبارتند از: تیوپنتال $EC_{50} = 217 \pm 16/7 \mu\text{M}$ ، پنتوباریتال $EC_{50} = 3/5 \pm 0/1$ ، $h = 1 \pm 0/3$

سدیم (500 mg) و کربنات سدیم (30 mg) بود که از Eli Lilly خریداری گردید.

سنجش جریانات بر روی تخمک‌هایی انجام گرفت که یک تا سه روز از تزریق crRNA بر آنها سپری شده باشد. دستورالعمل آزمایش نهایی داروهای بیهوشی بر جریانات ناشی از گلیسین برگیرنده‌اش به قرار زیر است: به‌عنوان پاسخ کنترل، از گلیسین $50 \mu\text{M}$ که توسط محلول رینگر به فرم محلول در آمده استفاده شد و به مدت سی ثانیه پرفیوژن بر تخمک انجام گردید. بلافاصله داروهای بیهوشی (در رینگر) به تنهایی برای ۳۰ ثانیه و سپس دارو به اضافه گلیسین ($50 \mu\text{M}$) برای ۳۰ ثانیه دیگر بر تخمک انجام و در نهایت دومین پاسخ کنترل که همان گلیسین به تنهایی ($50 \mu\text{M}$) می‌باشد، انجام پذیرفت.

برای مطالعات اثرات دو داروی بیهوشی همزمان بر روی یک تخمک ابتدا اثر هر دارو به تنهایی و سپس به دنبال آن ترکیب هر دو دارو به تنهایی و به همراه گلیسین ($50 \mu\text{M}$) و در نهایت پاسخ کنترل یعنی همان گلیسین ($50 \mu\text{M}$) انجام شد.

برای هر تخمک پاسخهای جریان در حضور داروهای بیهوشی با توجه به پاسخ کنترل نسبت به گلیسین به صورت نرمال در آمده و در نهایت به‌عنوان درصد پاسخ کنترل معرفی و بیان شد.

در صورت نیاز، از منحنی‌های غلظت- پاسخ استفاده شد که در تهیه و آنالیز آن از مدل استاندارد لگاریتمی استفاده شد تا EC_{50} ، ضریب Hill (h) تعیین گردد (برنامه آماری Origin-6).

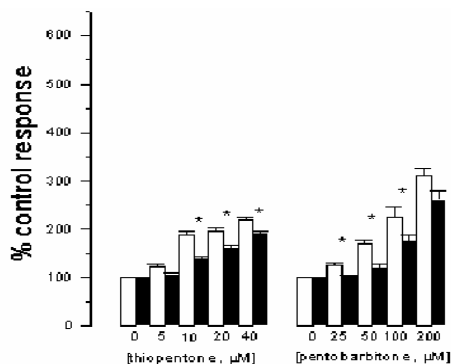
$$\text{Response} = \frac{\text{Min} - \text{max}}{1 + (x/EC_{50})^h} + \text{max}$$

که در معادله فوق min پاسخ حداقل یا اولیه، max پاسخ حداکثر یا پاسخ نهایی و x غلظت گلیسین (یا داروها) می‌باشد. آنالیزهای دیگر جهت یافتن تفاوتها در پاسخ، شامل ANOVA یک‌طرفه و student's t-test می‌باشد. تمامی ارقام به‌دست آمده در این مقاله به‌صورت میانگین \pm انحراف از میانگین بیان شده است. تعداد نمونه در هر سری آزمایش هشت عدد می‌باشد (بجز شکل شماره یک که نمودار غلظت-پاسخ گلیسین می‌باشد).

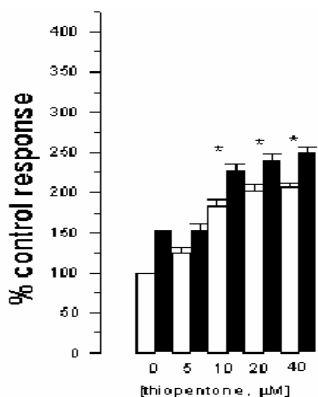
یافته‌ها

تخمک‌هایی که از قبل تزریق میکرونی crRNA (کدکننده ژن گیرنده α_1 گلیسین انسانی) در آنها انجام شده بود، در پتانسیل نگهدارنده -60 mV پس از اتصال به دو الکترود، به غلظتهای

مشخص و محسوس از نظر آماری ($p < 0.05$) بر روی سه غلظت متفاوت آن ($40, 20, 10 \mu\text{M}$) به میزان به ترتیب ۲۷٪، ۱۸٪ و ۱۳٪ شده است. کاهش اثر تقویتی این دارو در مقایسه با استفاده از آن دارو به تنهایی محاسبه و گزارش شده است.



شکل ۳- اثر متوهگزیتال بر درصد پاسخ کنترل (جریان). از تخمکهای که گیرنده $\alpha 1$ گلیسین انسانی بر آنها بیان شده است، در ولتاژ -60 mV در حضور آگونیست (گلیسین $50 \mu\text{M}$) و در حضور پنتوباریتال و تیوپنتال استفاده شد. در هر دو مورد ستونهای پررنگ نشان دهنده پاسخ داروهای باربیتوراتی در حضور متوهگزیتال $10 \mu\text{M}$ است و بیانگر میانگین پاسخهای حاصله از هشت سری آزمایش جداگانه است. انحراف از میانگین نیز در صورت وجود روی ستونها نشان داده شده است.



شکل ۴- اثر پنتوباریتال ($50 \mu\text{M}$) بر درصد پاسخ کنترل (جریان). از تخمکهای حاوی گیرنده گلیسین انسانی در ولتاژ -60 mV در حضور آگونیست (گلیسین $50 \mu\text{M}$) و در حضور تیوپنتال در غلظتهای بالینی استفاده شد. ستونهای پر رنگ نشان دهنده اثر دارو در حضور پنتوباریتال و ستونهای خالی بدون حضور پنتوباریتال است. اعداد نشان دهنده میانگین آزمایشات بر روی هشت سری تخمک جداگانه به اضافه انحراف از میانگین است. * نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار از نظر آماری ($p < 0.05$) بین اثرات تقویتی تیوپنتال با و بدون حضور پنتوباریتال می باشد.

همچنین اثر داروی متوهگزیتال با غلظت $10 \mu\text{M}$ بر روی پاسخهای تقویتی پنتوباریتال در حضور آگونیست ($EC5$) مورد بررسی قرار گرفته و نشان داده شد از نظر آماری پاسخهای پنتوباریتال در غلظتهای $25, 50, 100 \mu\text{M}$ به ترتیب به میزان ۱۸٪، ۲۲٪ و ۲۹٪ در مقایسه با استفاده از داروی پنتوباریتال به تنهایی، کاهش یافته است ($p < 0.05$).

ضریب Hill نشان دهنده وجود حداقل دو مکان برای گلیسین بر روی زیر واحد گیرنده می باشد.

داروهای بیهوشی به تنهایی هیچ پاسخی را بر روی جریانهای گیرنده ایجاد نمودند، اما این داروها پاسخ گیرنده گلیسین را در غلظتهای کم آگونیست (معادل $EC5$) به شدت تقویت کرده اند. این در حالیست که پاسخ گیرنده نسبت به داروهای بیهوشی در حضور غلظتهای بالای $EC50$ از آگونیست گیرنده پاسخ تعدیلی منفی است (۱۲) یا به عبارتی تضعیف جریانهای مشاهده شده است. بنابراین با توجه به مشاهده اثر دو گانه داروهای بیهوشی در حضور غلظتهای مختلف آگونیست گیرنده و از آنجایی که در سیستم عصبی همواره غلظت کم آگونیست در مجاورت گیرنده اش یافت شده است، در این تحقیق، اثرات داروهای بیهوشی را بر جریانهای ناشی از گلیسین با غلظت $50 \mu\text{M}$ که معادل تقریبی $EC5$ از منحنی غلظت- پاسخ گلیسین بر گیرنده اش می باشد، مورد آزمایش قرار گرفت.

اثر تقویتی داروهای بیهوشی به تنهایی بر گیرنده گلیسین:

پنتوباریتال ($40-25 \mu\text{M}$) و تیوپنتال ($40-5 \mu\text{M}$) جریانهای ناشی از گلیسین $50 \mu\text{M}$ را حداکثر به ترتیب تا میزان ۴۰٪ ($EC50 = 16/7 \mu\text{M}$) و ۲۰٪ ($EC50 = 8/1 \mu\text{M}$) تقویت نمودند. متوهگزیتال حتی در گستره وسیعی از غلظتهای به کار رفته ($30-10 \mu\text{M}$) هیچ اثری بر پاسخهای ناشی از گلیسین $50 \mu\text{M}$ نداشته است (شکل ۲). لازم به ذکر است که هیچ اثر تقویتی مشابه با اثر گلیسین در هیچ یک از غلظتهای به کار رفته از داروهای بیهوشی فوق، در مصرف آنها به تنهایی مشاهده نشد.

تقویت پاسخ گلیسین به واسطه تیوپنتال تقریباً در بین غلظتهای ($30-20 \mu\text{M}$) به صورت کفه (plateau) ظاهر شد که به میزان تقریبی ۲۵٪ محاسبه شده است. به علاوه به دنبال مصرف پنتوباریتال در غلظت $40 \mu\text{M}$ حداکثر پاسخ تقویتی برگلیسین ظاهر شد که به میزان ۴۰٪ می باشد.

عدم تقویت اثر گلیسین به واسطه استفاده از متوهگزیتال نظیر اثر فتوباریتال بر روی همین گیرنده است که قبلاً توسط مطالعات گذشته گزارش شده است (۱۲).

اثر تعدیلی داروهای بیهوشی بصورت ترکیب دوتایی برگیرنده گلیسین:

اثر ترکیب دوتایی داروهای متوهگزیتال با تیوپنتال و پنتوباریتال بر پاسخ گلیسین $50 \mu\text{M}$ مورد مطالعه قرار گرفته و در شکل ۳ نشان داده شده است. متوهگزیتال با غلظت $10 \mu\text{M}$ باعث کاهش اثر تقویتی تیوپنتال به صورت کاملاً

می‌رسد که به این گیرنده متصل نمی‌شوند. از طرف دیگر می‌توان تصور نمود که دو دارو به گیرنده تمایل یا Affinity لازم را دارند اما تغییرات ساختاری لازم را به دنبال اتصال به مکان خود در گیرنده ایجاد نمی‌نمایند یا توانایی فعال‌سازی گیرنده را ندارند، به عبارتی فاقد اثربخشی یا Efficacy می‌باشند.

در این مقاله نشان داده شد متوهگزیتال به‌طور واضح بر روی اثرات تعدیلی دو داروی تیوپنتال و پنتوباریتال (شکل ۳) تأثیر گذاشته و آنها را به شدت کاهش داده است، لذا می‌توان به جرأت ادعان داشت که متوهگزیتال به گیرنده باند می‌شود. از نظر ساختمانی، هر چهار داروی باربیتوراتی مشابه هستند و معقولترین فرضیه علمی این است که هر چهار دارو محل اتصال مشترک و مشابهی را بر گیرنده گلیسین داشته باشند. بنابراین فقدان اثر تعدیلی دو داروی متوهگزیتال و فتوباریتال بر روی گیرنده به علت شکست آنها در ایجاد نوآرایی فضایی گیرنده و متعاقباً جلوگیری از اثرات گلیسین می‌باشد.

وجود مکان مشترک برای برخی بیهوش‌کننده‌های فرار و الکلهای با تعداد کربنهای مختلف بر روی گیرنده $\alpha 1$ گلیسین انسانی گزارش شده است. در این زمینه وجود اسیدهای آمینه معینی در قطعه عرض غشایی دوم و سوم از گیرنده گلیسین شناسایی و به‌عنوان محل‌های اتصال مشترک آنها گزارش شده است (۱۶).

سئوالی که مطرح می‌شود این است که آیا تمامی باربیتوراتها و دیگر بیهوش‌کننده‌های تزریقی نیز مانند آنچه در بالا ذکر شده است دارای مکانهای مشترک اتصال بر گیرنده بر روی اسید آمینه‌های معینی هستند یا مکانهای متعددی در این روند دخالت دارند؟

در این تحقیق تا حدودی به این سؤال پاسخ داده می‌شود که احتمالاً یک مکان مشترک برای باربیتوراتها بدون در نظر گرفتن اثرات تعدیلی هر کدام به تنهایی، وجود دارد. به‌علاوه صرفاً به دلیل نداشتن و عدم مشاهده اثرات تعدیلی بر یک گیرنده نمی‌توان عدم اتصال به گیرنده و عدم وجود Binding Site را مطرح نمود.

مطالعات بیشتری در مورد اثرات دیگر داروهای بیهوشی تزریقی بر روی این گیرنده و بصورت ترکیبی با باربیتوراتها مورد نیاز است تا بتوان دقیقتر نسبت به محل اتصال مشترک آنها اظهار نظر نمود.

تداخل اثر دو داروی تیوپنتال ($40-50 \mu M$) و پنتوباریتال ($50 \mu M$) در شکل ۴ نشان داده شده است.

پنتوباریتال باعث تقویت اثرات تیوپنتال در تمامی غلظتهای مورد مطالعه شد که از نظر آماری معنی‌دار است ($p < 0.05$) و برای سه غلظت بالای تیوپنتال اثر تقویتی به ترتیب معادل ۲۵٪، ۱۹٪ و ۲۰٪ (در مقایسه با اثرات تیوپنتال به تنهایی) افزایش یافته است. به نظر می‌رسد که تداخل اثرات دو داروی فوق کمتر از اثر جمعی (Additive) محض باشد زیرا پاسخ غلظتهای $50, 100, 200 \mu M$ تیوپنتال بایستی در صورت وجود اثر جمعی، به میزان حداقل ۵۰٪ اثر تقویتی پنتوباریتال $50 \mu M$ افزایش می‌یافتند.

بحث

در این تحقیق اثرات داروهای تیوپنتال و پنتوباریتال را به تنهایی و به صورت ترکیبات دوتایی بر گیرنده گلیسین انسانی (در حضور آگونیست گیرنده و بدون حضور آن) که بر روی تخمک قورباغه *Xenopus* بیان شده بود، مورد بررسی قرار گرفت تا اثرات افزایشی و یا کاهش‌ی آنها بر یکدیگر در حضور آگونیست مورد مطالعه قرار گیرد.

اثر افزایش داروهای بیهوشی در کلینیک بسیار مورد مطالعه قرار گرفته و شناخته شده است (۱۳، ۱۴) و معمولاً از این نظر حائز اهمیت است که می‌توان با به‌کارگیری داروهای با اثر جمعی یا تقویتی بر یکدیگر، از میزان دوزهای مصرفی هر دارو به تنهایی کاسته و در نتیجه از عوارض جانبی وابسته به دوز آنها جلوگیری بعمل آورد (۱۵). به‌علاوه مدت دوره بیهوشی آمدن یا recovery را به میزان چشمگیری کاهش داد. اما اینکه آیا این داروها در یک محل از گیرنده خاص و یا مکان مشترکی اثرات جمعی خود را بروز می‌دهند و یا اثر افزایشی یک اثر تجمعی فیزیولوژیکی است، هنوز ناشناخته است.

تیوپنتال و پنتوباریتال هر دو از تعدیل‌گرهای آلوستریکی مثبت برای گیرنده $\alpha 1$ گلیسین هستند، مشروط بر اینکه این گیرنده قبلاً توسط مقادیر کم آگونیست گیرنده (گلیسین $50 \mu M = EC_{50}$) تحریک شده باشد. این مسئله با گزارشات اخیر (۱۶، ۱۷، ۱۲) کاملاً مطابقت دارد.

در این تحقیق ما نشان دادیم متوهگزیتال بر خلاف دو داروی هم‌گروه خود یعنی تیوپنتال و پنتوباریتال، قادر به تعدیل عمل و فعالیت گیرنده گلیسین نمی‌باشد و از این نظر مانند فتوباریتال (۱۲) عمل می‌نماید. اگرچه این دو دارو در تعدیل آلوستریکی عمل گیرنده گلیسین موفق نبوده‌اند، به نظر

REFERENCES

1. Harris RA, Mihic SJ, Dيدly-Mayfield JE, Machu TK. Action of anaesthetics on ligand-gated ion channels: role of receptor subunit composition. *FASEB J* 1995;9:1454-62.
2. Flood P, Krawowski M. Intravenous anaesthetics differentially modulate ligand-gated ion channels. *Anaesthesiology* 2000;92:1418-25.
3. Yamakura T, Bertaccini E, Trudell JR, Harris RA. Anaesthetics and ion channels: molecular models and sites of action. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:23-51.
4. Pistis M, Belelli D, Peters AJ, Lambert JJ. The interaction of general anaesthetics with recombinant GABAA and glycine receptors expressed in *Xenopus laevis* oocytes: a comparative study. *Br J Pharmacol* 1997;122:1707-19.
5. Patten D, Foxon GR, Martin KF, Halliwell RF. An electrophysiological study of the effects of propofol on native neuronal ligand-gated ion channels. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2001;28:451-58.
6. Snyder SH. The glycine synaptic receptor in the mammalian central nervous system. *Br J Pharmacol* 2000;131:103-14.
7. Tao L, Ye J. Inhibition of glycine receptor function of native neurons by aliphatic n-alcohols. *Br J Pharmacol* 2002;136:629-35.
8. Cheng G, Kending JJ. Pre- and postsynaptic volatile anaesthetic actions on glycinergic transmission to spinal cord motor neurons. *Br J Pharmacol* 2002;136:673-84.
9. Mihic SJ, Harris RA. Pharmacological effects of ethanol on the nervous system. 1st edition. New York: CRC Press, 1996;p:51-71.
10. Downie DL, Hall AC, Lieb WR, Franks NP. Effects of inhalational general anaesthetics on native glycine receptors in rat medullary neurons and recombinant glycine receptors in *Xenopus* oocytes. *Br J Pharmacol* 1996;118: 493-502.
11. Daniels S, Roberts RJ. Post-synaptic inhibitory mechanisms of anaesthesia; glycine receptors. *Toxicol Let* 1998;100-101:71-76.
12. Roberts RJ, Shelton CJ, Daniels S, Smith EB. Glycine activation of human homomeric $\alpha 1$ glycine receptors is sensitive to pressure in the range of the high pressure nervous syndrome. *Neurosci Let* 1996;208:125-28.
13. Vinik HR, Bradley EL, Kissin I. Isobolographic analysis of propofol-thiopental hypnotic interaction in surgical patients. *Anesth Analg* 1999;88:667-70.
14. Jones D, Prankerd R, Lang C. Propofol-thiopentone admixture-hypnotic dose, pain on injection effect on blood pressure. *Anesth Intensive Care* 1999;27:346-56.
15. Vuyk J, Lym T, Engbers FH. The pharmacokinetic interaction of propofol and alfentanil during lower abdominal surgery in women. *Anesthesiology* 1995;83:8-22.
16. Mihic SJ, Ye Q, Wick MJ, Koltchine VV, Krasowski MD, Finn SE, Mascia MP, et al. Sites of alcohol and volatile anaesthetic action on GABA(A) and glycine receptors. *Nature (London)* 1997;389:385-89.
17. Belelli D, Pistis M, Peters JA, Lambert JJ. The interaction of general anaesthetics and neurosteroids with GABAA and glycine receptors. *Neurochem Intern* 1999;34:447-52.