

بررسی اثر تزریق لیدوکائین به داخل هسته‌ی پاراژيگانتو سلولاریس جانبی بر روی درد ناشی از آزمون فرمالین صفحه‌ی داغ در موش صحرایی

دکتر حسن اژدری زرمهری^۱، ابوالفضل رحمنی^۲، سینا پوزش^۳، الهه ارمی^۴، دکتر محمد مهدی امام جمعه^۵

نویسنده‌ی مسؤل: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی قزوین hasan.azhdari@gmail.com

دریافت: ۹۱/۱/۲۶ پذیرش: ۹۱/۱۱/۲۹

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات زیادی برای شناخت مکانیسم‌های کنترل درد انجام شده است ولی سوالات زیادی در مورد مراکز عصبی دخیل در بروز رفتارهای درد و تعدیل درد وجود دارد. هسته‌ی پاراژيگانتو سلولاریس جانبی در اعمال مختلفی از قبیل تنظیم گردش خون، سندرم ترک و درد درد دخالت دارد. در این مطالعه بررسی اثر غیرفعال سازی هسته‌ی پاراژيگانتو سلولاریس جانبی بر روی درد ناشی از آزمون فرمالین به عنوان مدل درد مزمن و آزمون صفحه‌ی داغ به عنوان مدل درد حاد در موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه، از ۳۰ سر موش‌های صحرایی نر سفید به وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. اثرات غیر فعال کردن موقتی به وسیله‌ی لیدوکائین به داخل هسته پاراژيگانتو سلولاریس بر رفتارهای دردی القا شده توسط آزمون فرمالین (۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲ درصد) به عنوان مدل درد تونیک و آزمون صفحه‌ی داغ تنظیم شده در دمای 37 ± 0.1 درجه‌ی سانتی‌گراد به عنوان مدل درد حاد استفاده شد. همچنین حیوانات در چهارگروه کنترل، شم، تزریق سالیان و آزمایش برای آزمون فرمالین و تزریق سالیان و آزمایش برای آزمون صفحه‌ی داغ تقسیم بندی شدند. یک هفته پس از انجام جراحی، حلال و لیدوکائین به داخل هسته‌ی پاراژيگانتو سلولاریس تزریق شد و آزمون فرمالین و صفحه‌ی داغ انجام شده، رفتارهای دردی برای آزمون فرمالین و آزمون صفحه‌ی داغ ثبت شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون T -test و ANOVA و تست تعقیبی Tukey استفاده شد.

یافته‌ها: تزریق لیدوکائین به داخل هسته $LPGi$ در آزمون فرمالین سبب کاهش درد در مرحله‌ی اینترفاز و فاز یک و قسمت اول فاز دوم و در آزمون صفحه‌ی داغ باعث بی‌دردی معنی‌داری نسبت به گروه سالیان در دقیقه‌ی ۳۰ و ۶۰ شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق احتمال دخالت هسته‌ی $LPGi$ در تولید رفتارهای درد ناشی از آزمون فرمالین و همچنین درد حاد وجود دارد.

واژگان کلیدی: هسته‌ی پاراژيگانتو سلولاریس جانبی، لیدوکائین، آزمون فرمالین، آزمون صفحه‌ی داغ

۱- دکترای تخصصی فیزیولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی قزوین، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

۲- دانشجوی فوریتهای پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

۳- دانشجوی هوشبری، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

۴- کارشناس ارشد پرستاری گرایش داخلی - جراحی، مربی دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه

۵- دکترای تخصصی بهداشت محیط، استادیار دانشگاه علوم پزشکی قزوین

مقدمه

پاسخ مناسب به محرک‌های دردزا نقش محافظتی در مواجه شدن موجود زنده با صدمات مختلف دارد. با توجه به متفاوت بودن تجربیات درد در اشخاص مختلف و نیز به دلیل تفاوت در چگونگی دریافت، انتقال و تعدیل درد توسط سیستم عصبی (۱-۳). به نظر می‌رسد شناخت مراکز عصبی موثر در تعدیل درد در حل مشکلات ناشی از دردهای مزمن اهمیت داشته باشند. هسته‌ی پاراژینگانتوسلولاریس در بخش شکمی جانبی ساقه‌ی مغز قرار دارد و بخش وسیعی از تشکیلات مشبک را شامل شده، به دو قسمت پشتی و جانبی قابل تقسیم است. قسمت جانبی آن به نام پاراژینگانتوسلولاریس جانبی (LPGi) یک هسته‌ی مشبک واقع در قسمت سری بصل النخاع است. این ناحیه به عنوان حس‌گر شیمیایی بصل النخاع شناخته شده، روی اعمال قلبی عروقی و تنفسی، پاداش، رفتارهای جنسی، تعدیل درد و وابستگی به مرفین اثر می‌گذارد (۵-۱۰، ۴). هسته‌ی LPGi از مناطق مختلفی نظیر هسته‌ی لوکوس سرلئوس (LC)، آوران‌هایی از تشکیلات مشبک بصل النخاعی، هسته‌ی دستجات منزوی، هسته‌ی PAG و هسته‌ی رافه ورودی‌هایی دریافت می‌کند (۱۱)، که دخالت این هسته را در درد توجیه می‌کند. مهم‌ترین و واضح‌ترین خروجی عصبی از هسته‌ی LPGi به هسته‌ی LC می‌باشد (۱۲ و ۱۱). بیشترین نوروترانسمیتر رشته‌های وابران هسته‌ی LPGi در هسته‌ی LC، اسیدهای آمینه تحریکی گلوتامات می‌باشد و با به‌کاربردن مواد تخریب‌کننده‌ی نورون‌های گلوتاماترژیک و یا تخریب LPGi، رهایش گلوتامات در هسته LC مهار شده و پاسخ نورون‌های آن تغییر می‌کند (۹). نورون‌های هسته‌ی LPGi به‌عنوان بخشی از سیستم پایین رو کنترل درد معرفی شده‌اند (۱۳ و ۵) و انشعاب‌های عصبی مستقیم به نخاع می‌فرستند. این نورون‌ها ممکن است انتقال اطلاعات مربوط به پردازش درد را در سطح نخاع تعدیل نمایند. متعاقب

تخریب دوطرفه‌ی هسته‌ی LPGi، پاسخ به اثر بی‌دردی مرفین در داخل ماده‌ی خاکستری دور قنات مغزی از بین می‌رود (۱۴). سه روش برای غیر فعال کردن هسته‌های مغزی از جمله هسته‌ی LPGi وجود دارد که این سه روش عبارت از تخریب الکتریکی، لیدوکائین و استفاده از مواد شیمیایی است که ما در این مطالعه از لیدوکائین جهت غیر فعال کردن هسته‌ی LPGi استفاده کردیم (۱۴).

آزمون فرمالین به طور وسیعی به عنوان مدل درد حاد و مزمن استفاده می‌شود. رفتارهای درد برانگیخته شده توسط آزمون مشابهت زیادی با دردهای کلینیکی دارند (۱۷-۱۵، ۱۰). اولین مرحله‌ی درد سریعاً به دنبال تزریق فرمالین شروع می‌شود که نشان‌گر فعالیت مستقیم گیرنده‌های محیطی درد است. به دنبال مرحله‌ی اول، مرحله‌ی اینترفاز شامل رفتارهای درد مثل خم کردن پا، تکان دادن و لیس زدن پا که به تدریج کاهش یافته یا قطع می‌شوند. فاز دوم آزمون فرمالین حداکثر ۱۵ دقیقه بعد از تزریق شروع می‌شود که منعکس کننده‌ی فعالیت محیطی و افزایش حساسیت اعصاب مرکزی است (۱۶ و ۱۵). شناخت مکانیسم‌ها و مراکز عصبی درگیر در مرحله‌ی اول، اینترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین در شناخت مکانیسم‌های درد مزمن و سیستم تعدیل کننده‌ی نزولی درد مهم می‌باشد. در تست آزمون صفحه داغ درد حاد ناشی از گرما ایجاد می‌شود که متفاوت از درد ایجاد شده از آزمون فرمالین است که به وسیله‌ی تزریق ماده‌ی شیمیایی فرمالین ایجاد می‌شود. از این رو در این تحقیق اثر غیر فعال کردن هسته‌ی پاراژینگانتوسلولاریس (LPGi) را روی درد آزمون فرمالین و آزمون صفحه‌ی داغ بررسی کردیم.

روش بررسی

در این پژوهش از موش‌های صحرایی سفید نر نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم که از انستیتو رازی تهیه شده بود، استفاده گردید. حیوانات مورد استفاده در

گروه‌های هشت‌تایی در قفس‌های بزرگ به اندازه‌ی ۴۰×۶۰ سانتی‌متر و با دسترسی کامل به آب و غذا طبقه‌بندی شدند و به منظور جلوگیری از استرس‌های ناخواسته دمای محل نگهداری حیوانات در حد مناسبی (22 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد) حفظ شد و از تغییرات شدید آن جلوگیری به عمل آمد. همچنین حیوانات در معرض روشنائی ۱۲ ساعته برای تطابق با شرایط طبیعی قرار گرفتند. موش‌ها در چهار گروه ده‌تایی شامل گروه کنترل (فقط تزریق ۵۰ میکرو لیتر فرمالین در کف پا)، شم (فقط کانال گذاری و تزریق ۵۰ میکرو لیتر فرمالین در کف پا)، کنترل حلال (تزریق سالین داخل هسته‌ی مورد نظر و تزریق ۵۰ میکرو لیتر فرمالین در کف پا) و تزریق لیدوکائین (تزریق لیدوکائین داخل هسته‌ی مورد نظر و تزریق ۵۰ میکرو لیتر فرمالین در کف پا) تقسیم بندی شدند. به جز گروه کنترل سه گروه دیگر تحت جراحی استرئوتاکسی قرار گرفتند. **جراحی و کانول گذاری:** برای انجام تزریق داروها، کانول‌های راهنما در هسته‌ی مورد آزمایش تعبیه شد. برای کانول گذاری، حیوان پس از بیهوش شدن با ترکیب کتامین (۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم در کیلوگرم) در دستگاه استرئوتاکسی مستقر و پوست ناحیه‌ی سر به حداقل میزان برش داده شد. پس از کنار زدن بافت‌های پوششی اطراف نواحی برگما و لامبدا شناسایی شده و با توجه به فاصله‌ی آن‌ها و نسبت آن با فاصله ذکر شده در اطلس پاکسینوس (۱۸) نواحی سطح جمجمه متعلق به هسته‌ی مورد آزمایش مشخص گردید. بعد از علامت گذاری مناطق AP: ۱۲، L: ۱/۶ و H: ۱۰/۶ با استفاده از مته‌ی دندان پزشکی در محل مذکور منفذی ایجاد شده و کانول راهنما به اندازه‌ی ۲ میلی‌متر کوتاه‌تر از عمق مشخص در اطلس هسته‌ی مورد نظر (به منظور کاهش آسیب هسته تا هنگام تزریق)، در درون مغز مستقر شد و قسمت رویی آن در روی جمجمه به وسیله‌ی سیمان دندان پزشکی ثابت گردید. دو پیچ کوچک (پیچ عینک) در استخوان جمجمه تعبیه و در درون سیمان

دندان پزشکی فرو رفت. این دو پیچ در حکم مسلح سازی سیمان بوده، از جدا شدن آن از سطح جمجمه جلوگیری می‌کرد. منفذ کانول راهنما در بیرون جمجمه به وسیله‌ی درپوش خاصی مسدود شد و فقط در زمان‌های تزریق دارو برداشته شد. یک کانول با اندازه‌ی نازک‌تر که از سوزن نمره‌ی ۳۰ است به اندازه‌ی ۲ میلی‌متر طویل‌تر از نوک کانول راهنما باشد، تهیه و از یک طرف به یک لوله‌ی نازک پلی‌اتیلن وصل شد. سر دیگر لوله‌ی پلی‌اتیلن به سیستم ریز تزریق وصل شده و مقدار مشخص حجم ماده تزریقی در قسمت نوک کانول تزریق وارد شد. بعد از اتمام جراحی موش یک هفته دوره‌ی بهبودی را طی کرد (۱۳ و ۱۰، ۵).

آزمون فرمالین: در این تست به منظور مشاهده و بررسی رفتارهای حیوان، از یک محفظه‌ی شفاف با کف مسطح، به ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ و از جنس پلاکسی گلاس استفاده شد. برای مشاهده‌ی پنجه‌ی پای حیوان، در زیر این محفظه شفاف آینه‌ای تعبیه شد. در این تست، ۵۰ میکرو لیتر محلول فرمالین ۲ درصد به زیر پوست پنجه‌ی پای حیوان توسط یک سر سوزن نمره‌ی ۳۰ تزریق شد. به دنبال تزریق فرمالین، حیوان مجموعه‌ای از رفتارهای القا شده با فرمالین و رفتارهای خود بخودی را نشان داد که به آن‌ها نمره‌ی ۰ تا ۳ داده شد. (رتبه‌ی صفر: پای حیوان به‌طور طبیعی روی زمین قرار می‌گیرد، رتبه‌ی یک: پای حیوان مختصری روی زمین قرار می‌گیرد، رتبه‌ی دو: پای حیوان از زمین کنده شده است و رتبه‌ی سه: حیوان پایش را گاز می‌گیرد و یا لیس می‌زند) (۱۳ و ۱۰، ۵).

آزمون صفحه‌ی داغ: گرمای صفحه‌ی داغ در ۵۲ درجه‌ی سانتی‌گراد تنظیم شده و حیوان روی این صفحه‌ی داغ قرار می‌گرفت و زمان عکس‌العمل یا مدت زمان لازم تا حیوان به محرک درد پاسخ بدهد، بر حسب ثانیه اندازه‌گیری شد. زمان عکس‌العمل در واقع به زمانی اطلاق می‌شود تا حیوان پنجه‌های خود را لیس بزند و یا از محفظه‌ی پلاستیکی روی

فاز توسط اینترفاز از یکدیگر جدا می‌شود. فاز اول از دقیقه ۰ تا ۷ می‌باشد بعد از فاز اول رفتارهای دردی طی مرحله اینترفاز که از دقیقه ۸ تا ۱۴ می‌باشد کاهش پیدا می‌کنند، سپس فاز دوم شروع می‌شود که این مرحله از دقیقه ۱۵ تا ۹۰ می‌باشد و جهت مشخص شدن اثر غیرفعال کردن هسته‌ی LPGi روی قسمت نخست یا انتهایی فاز دوم، این مرحله به دو قسمت تقسیم شده: 2A از دقیقه ۱۵ تا ۶۰ و 2B شامل رفتارهای دردی از دقیقه ۶۱ تا ۹۰ است (۱۹).

رفتارهای دردی ناشی از تزریق فرمالین در کف پای حیوان در گروه شم: در گروه شم رفتارهای دردی در فاز یک و دو بدون تغییر بود، اما مرحله‌ی اینترفاز در این گروه کاهش داشت که نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت (نمودار یک قسمت B).

اثر تزریق سالین در LPGi بر رفتارهای دردی ناشی از فرمالین: در این گروه که تحت جراحی قرار گرفته بودند، سالین در هسته‌ی LPGi تزریق شد. اساس تعریف این گروه بررسی اثر فشار حاصل از تزریق حجم ۱ میکرولیتری مورد نظر ما بود. در این گروه در هیچ مرحله‌ای تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل مشاهده نشد (نمودار ۱).

اثر تزریق لیدوکائین در LPGi بر رفتارهای دردی ناشی از فرمالین: این گروه نیز تحت جراحی استرئوتاکس و کانول‌گذاری در هسته‌ی LPGi قرار گرفته و در این نقطه لیدوکائین ۲ درصد با حجم یک میکرولیتر و ۱۰ دقیقه قبل از انجام آزمون فرمالین تزریق شد. نمره‌ی آزمون فرمالین این گروه، در فاز یک و اینترفاز نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). همچنین نمره‌ی آزمون فرمالین این گروه در هر دو بخش فاز ۲ نیز نسبت به گروه کنترل کاهش داشت که فقط در بخش اول این مرحله معنی‌دار بود (نمودار ۲).

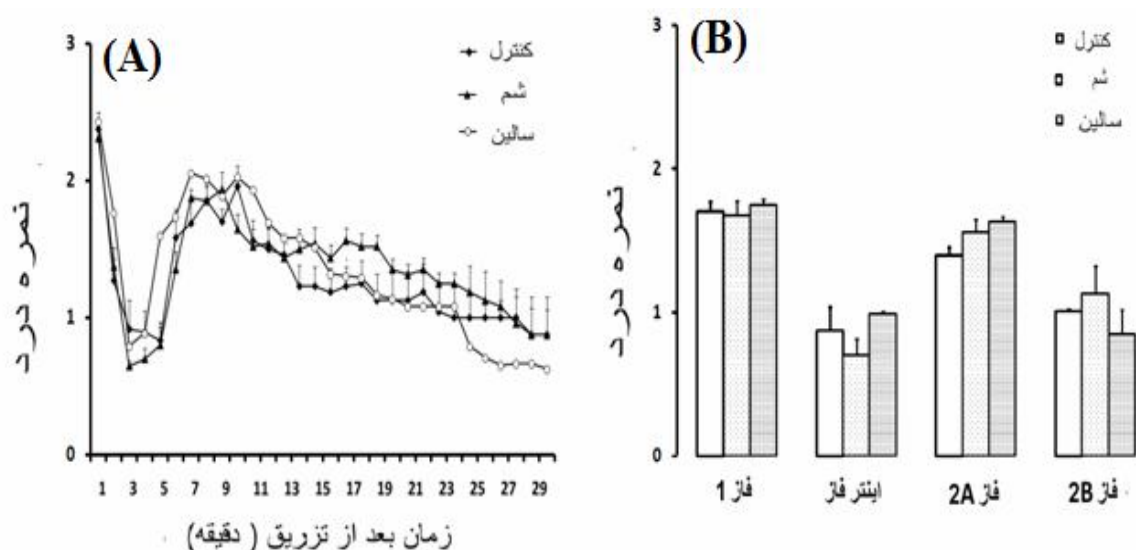
صفحه داغ به بیرون بپرد. جهت جلوگیری از آسیب بافتی زمان خاتمه‌ی آزمون (Cut-off Time) ۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد. این آزمون برای هر موش ۱۵ دقیقه قبل و ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه بعد از تزریق حلال و یا لیدوکائین انجام گرفت. نتایج به دست آمده به شکل زمان تاخیر در عکس العمل به درد (Pain Latency) بر حسب ثانیه بیان شد و به منظور عادت کردن حیوانات به محیط برای به حداقل رساندن استرس ۳ روز قبل از آزمون صفحه داغ موش‌ها روزانه به مدت ۳ دقیقه برای آشنایی به محیط بر روی آزمون صفحه داغ خاموش قرار داده شدند. همچنین برای کاهش اشتباهات انسانی تمامی این تست توسط یک فرد انجام شد.

تایید بافتی: در پایان آزمایشات با تزریق رنگ پتامن اسکمی بلو در محل و بررسی برش‌های مغزی، تزریق لیدوکائین در LPGi تایید گردید. (شکل ۱) (۱۰).

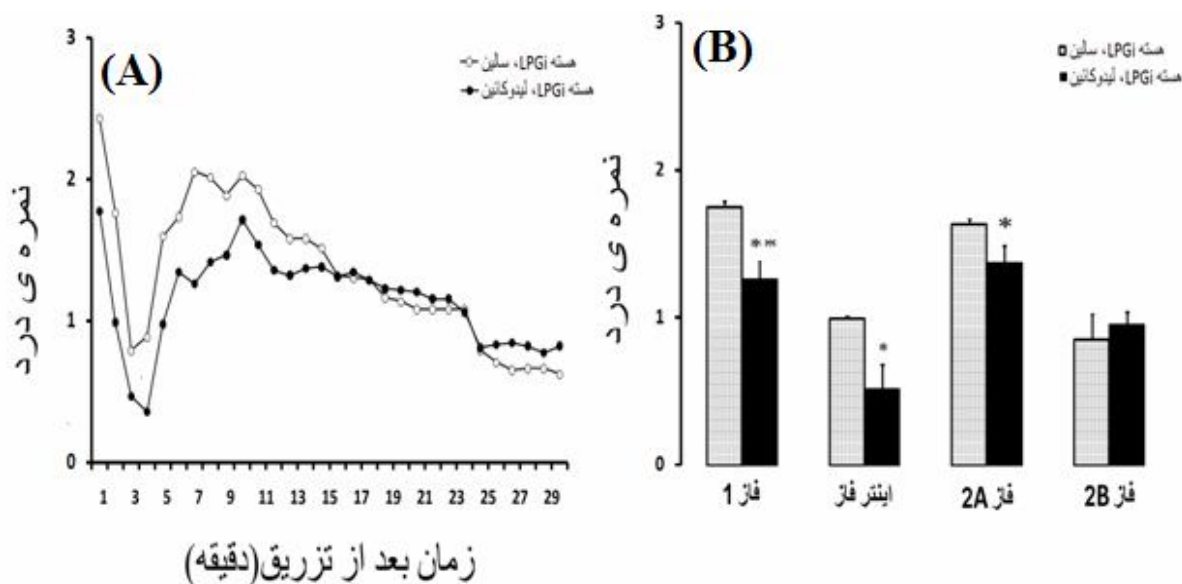
روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: در آزمون فرمالین برای هر ۱۵ ثانیه یک نمره‌ی درد به وسیله‌ی مشاهده کننده ثبت شد و مجموع میانگین زمان در هر دقیقه محاسبه شد و از میانگین هر ۳ دقیقه برای قسمت A نمودار و از مجموع میانگین زمان ۷ دقیقه برای فاز حاد (۷ دقیقه اول)، ۷ دقیقه برای اینترفاز (۷ دقیقه دوم) و ۷۵ دقیقه برای فاز مزمن (۷۶ دقیقه پایانی) محاسبه و نتایج به صورت $Mean \pm SEM$ نشان داده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آماری T-test و ANOVA یک طرفه و از آزمون Tukey به عنوان آزمون‌های post-hoc استفاده گردید در تمام موارد $P < 0/05$ معنی‌دار تلقی شد (۵).

یافته‌ها

رفتارهای دردی ناشی از تزریق فرمالین در کف پای حیوان در گروه کنترل: تزریق فرمالین سبب رفتارهای دردی شد که در بازه‌ی زمانی ۹۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین مشاهده گردید. این رفتارها از دو فاز تشکیل شده که این دو



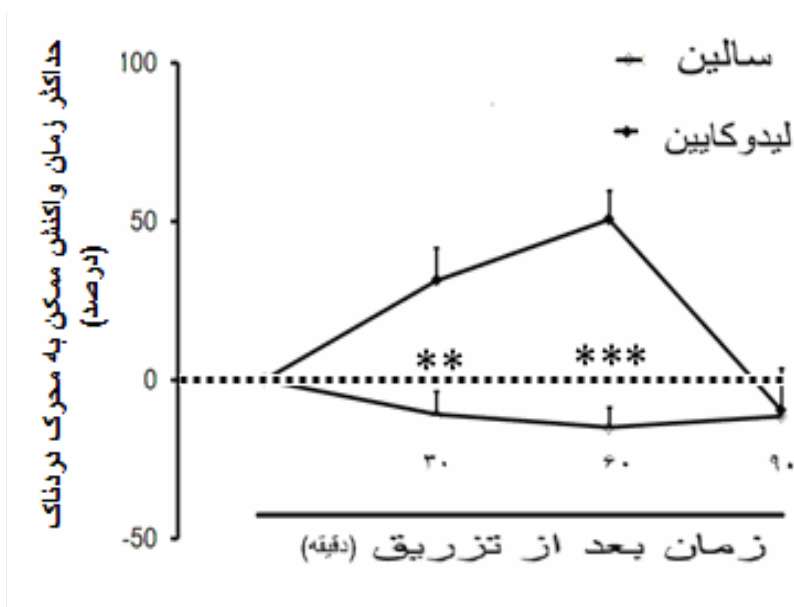
نمودار ۱: مقایسه‌ی نمره‌ی آزمون فرمالین در گروه کنترل، گروه شام و گروه حلال (A) و نمودار ستونی میانگین نمره در فاز ۱ (دقیقه ۰ تا ۷)، اینترفاز (دقیقه ۸ تا ۱۴) و فاز 2A (دقیقه ۱۵ تا ۶۰) و فاز 2B (دقیقه ۶۱ تا ۹۰) آزمون فرمالین. در گروه سالین نیز فشار تزریق باعث کاهش درد در بخش پایانی مرحله‌ی ۲ شده که معنی‌دار نمی‌باشد.



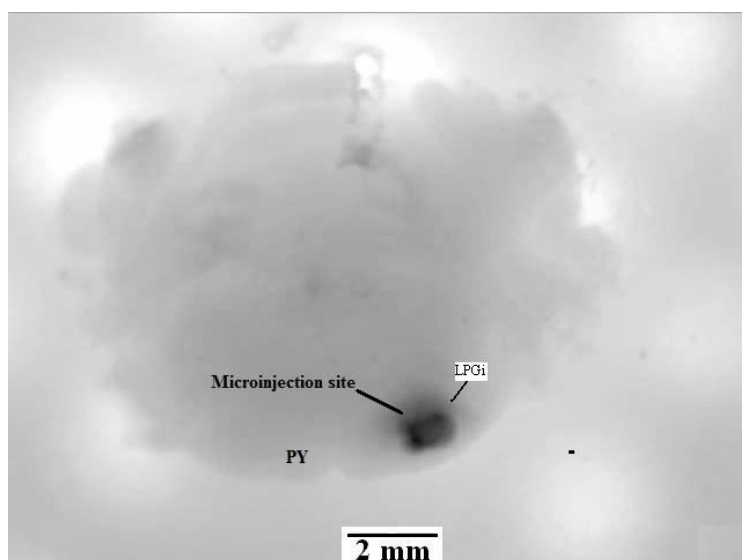
نمودار ۲: مقایسه‌ی نمره‌ی آزمون فرمالین در گروه تزریق سالین و لیدوکائین (A) و نمودار ستونی میانگین نمره در فاز ۱ (دقیقه ۰ تا ۷)، اینترفاز (دقیقه ۸ تا ۱۴) و فاز 2A (دقیقه ۱۵ تا ۶۰) و فاز 2B (دقیقه ۶۱ تا ۹۰) آزمون فرمالین. تزریق لیدوکائین در هر سه فاز آزمون فرمالین باعث بی‌دردی شده و این بی‌دردی در فاز ۱، اینترفاز و فاز 2A معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$ and $P < 0.01$).

ثبت شد. بر اساس نمودار ۲ نشان داده شد که تزریق لیدوکائین در زمان ۳۰ و ۶۰ باعث بی‌دردی نسبت به گروه سالین شد که این بی‌دردی در دقیقه ۹۰ از بین رفته بود (نمودار ۳).

اثر تزریق لیدوکائین بر درد ناشی از آزمون صفحه‌ی داغ در مقایسه با گروه سالین: در این آزمون درد ناشی از آزمون صفحه‌ی داغ در ۱۵ دقیقه قبل از تزریق (تحت عنوان Baseline)، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ بعد از تزریق بر اساس واحد ثانیه



نمودار ۳، مقایسه‌ی حداکثر زمان واکنش ممکن به محرک دردناک با استفاده از آزمون صفحه‌ی داغ در گروه تزریق سالین و لیدوکائین به داخل هسته‌ی *LPGi*. حداکثر زمان واکنش ممکن به محرک دردناک (در صد) در ۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه بعد از تزریق صورت گرفت.



شکل ۱، تایید بافت شناسی برای نشان دادن محل تزریق در داخل هسته‌ی *LPGi*.

بحث

نتیجه‌ی نهایی این پژوهش کاهش معنی‌دار درد در فاز ۱ و اینترفاز و فاز 2A آزمون فرمالین در اثر تزریق لیدوکائین به بخش جانبی هسته‌ی پاراژیکانتوسلولاریس می‌باشد. همچنین در آزمون صفحه‌ی داغ نیز کاهش معنی‌دار درد در دقایق ۳۰ و ۶۰ بعد از تزریق دیده شد بنابراین نتیجه‌ی کاهش در آزمون صفحه‌ی داغ هم‌راستا و تایید کننده‌ی نتیجه‌ی کاهش در درد حاد فاز یک آزمون فرمالین می‌باشد. هسته‌ی LPGi دارای آوران و وایران زیادی به قسمت‌های مختلف مغز است و دارای چندین نوروترانسمیتر می‌باشد که هر کدام نقش فیزیولوژیکی خاصی دارند؛ از جمله سروتونین در رفتارهای دردی، استیل کولین در تنظیمات قلبی و درد و نیتریک اکساید و آدرنالین در حس درد و اعتیاد نقش دارند (۲۰ و ۸). بررسی‌های مختلفی در مورد اثرات هسته‌های مغزی بر مکانیسم‌های درد انجام شده است که در این بررسی‌ها از مدل‌های مختلف درد و همچنین روش‌های مختلفی استفاده شده است. اما تاکنون اثر بیحسی هسته‌ی LPGi توسط ریز تزریق لیدوکائین در آزمون فرمالین و صفحه‌ی داغ انجام نشده است. آزمون فرمالین باعث ایجاد یک درد دو مرحله‌ای می‌شود که فاز اول آن در اثر فعال شدن حاد گیرنده‌های درد محیطی و فاز دوم آن در اثر پاسخ‌های التهابی یا حساسیت بخش‌های مرکزی و تغییرات سیناپسی ایجاد می‌شود و گزارش شده است که مرحله‌ی اینترفاز این آزمون نیز یک مرحله‌ی فعال بوده و بر اساس مکانیسم‌هایی مهارتی حاصل می‌شود. آزمون فرمالین به‌صورت شایعی در مدل‌های درد حاد و تونیک و گاهی اوقات در درد التهابی و مزمن و یا پر دردی مورد استفاده قرار می‌گیرد. بنابراین می‌توان بیان کرد که آزمون فرمالین هم نشانگر درد حاد و هم مزمن می‌باشد (۲۱ و ۱۷-۱۵). بر این اساس و بنابر نتایج آزمایش ما می‌توان بیان کرد که فعالیت‌های نورون‌های هسته پاراژیکانتوسلولاریس که

باعث تغییر در رفتارهای دردی در فاز یک، اینترفاز و ابتدای فاز دو آزمون فرمالین شده است، در ایجاد درد حاد، مرحله‌ی فعال اینترفاز و همچنین بر بخش‌های اولیه‌ی درد مزمن اثر گذار می‌باشد و در نتیجه با مهار عملکرد این هسته درد حاد و بخشی از درد مزمن تا حدودی مهار می‌شود. در تحقیقی که به منظور بررسی اثر تحریک الکتریکی هسته‌ی پاراژیکانتوسلولاریس جانبی بر آستانه‌ی درد حاد در موش صحرایی نر انجام شد، تحریک الکتریکی این هسته باعث کاهش پاسخ به درد شد؛ در حالی که تخریب آن سبب پردردی شد که این نتایج با سایر گزارش‌ها که بیانگر افزایش درک درد در اثر محرک‌های دردآور در صورت تخریب این هسته می‌باشد، هم‌راستا است و اختلاف نتایج با این تحقیق می‌تواند ناشی از روش غیر فعال کردن هسته‌ی LPGi در دو تحقیق ذکر شده باشد (۲۳ و ۲۲). این ممکن است منعکس کننده‌ی تفاوت فشار، مسیرهای مختلف تزریق، تفاوت بین مدل‌های مورد استفاده، تفاوت در روش و متغیرها مانند روشنایی، صدا، بو، دست زدن به تنش یا بیهوشی قبل از تزریق فرمالین باشد. در این مطالعه از آزمون صفحه‌ی داغ به منظور بررسی درد حاد استفاده کردیم. چون آزمون صفحه‌ی داغ برای ارزیابی درد دارای مزایای عینی بودن، آسان بودن برای استفاده، قابلیت استفاده مکرر و اندازه گرفتن پاسخ به درد در سطح بالای نخاعی می‌باشد و البته در شرایطی تحت تاثیر فاکتورهای محیطی هم قرار می‌گیرد. این یک تمایز مهم از تست‌های رفلکسی درد (به‌عنوان مثال کشیدن دم) است چرا که درد در سطح بالای نخاعی تعدیل شده و این تعدیل درد متفاوت از رفلکس‌های دردی در سطح نخاع می‌باشد (۲۵ و ۲۴). در این مطالعه در آزمون صفحه‌ی داغ کاهش معنی‌دار درد را در دقایق ۳۰ و ۶۰ پس از تزریق لیدوکائین نشان داد که این کاهش در واقع تایید کننده‌ی کاهش درد در فاز اول آزمون فرمالین که نشان‌گر درد حاد است، می‌باشد.

دارد (۲۸) و تأکیدی بر تعدیل درد توسط این هسته می‌باشد. در مجموع هسته‌ی LPGi به‌عنوان یک منطقه‌ی سمپاتیکی تحریکی در مغز عمل می‌نماید. به این ترتیب LPGi به‌عنوان منطقه‌ای برای آماده کردن بدن در برابر محرک‌های آنی و پاسخ دفاعی جنگ و گریز به صورت بخشی از یک مجموعه عملکردی ایفای نقش می‌کند.

نتیجه‌گیری

به‌واسطه‌ی LPGi یک نوع ارتباط زمانی بین فعالیت‌های سمپاتیکی و فعالیت‌های هسته LC وجود دارد. نورون‌های هسته‌ی PGi به محرک‌های دردناک پاسخ داده، یکی از مراکز مهم ارایه کننده پیام‌های درد و اطلاعات حسی پیکری به LC می‌باشند، لذا LPGi یک منطقه‌ی کلیدی برای جمع‌بندی و متناسب کردن فعالیت‌ها در هسته‌ی LC و سیستم‌های سمپاتیکی است، که خود هسته‌ی LC نقش مهمی در پردازش درد دارد و ممکن است بی‌حسی این منطقه سبب جلوگیری از ورود اطلاعات به هسته‌ی LC شود. ما در این پژوهش نشان دادیم که بی‌حس کردن بخش جانبی هسته‌ی پاراژینگانتوسلولاریس توسط لیدوکائین باعث بی‌دردی در آزمون فرمالین و آزمون صفحه‌ی داغ شد. که نقش این هسته را در پردازش و تعدیل درد حاد و تونیک برجسته می‌کند.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشجویی در دانشکده‌ی بهداشت و پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین می‌باشد و نویسندگان مقاله از خانم المیرا قاسمی و آقای نیما حیدری اورنجقی قدردانی می‌نمایند.

References

1- Xu XJ, Plesan A, Yu W, Hao JX, Wiesenfeld-Hallin Z. Possible impact of genetic differences

لوپیک و همکارانش در سال ۱۹۸۷ نشان دادند که تزریق دو طرفه آنتاگونیست گابا (بیکوکولین) به ناحیه محدود شده‌ای از هسته‌ی LPGi (در ناحیه‌ی شکمی میانی نسبت به قطب دمی هسته‌ی فاشیال) سبب افزایش در تأخیر پاسخ کشیدن دم در قبال حرارت مضر و درد زا می‌شود که هم راستا با بی‌دردی مشاهده شده در این مطالعه می‌باشد بی‌دردی همواره با یک افزایش در میانگین فشار خون سرخرگی همراه بود؛ اما دوره‌ی زمانی تغییرات قلبی عروقی و تغییرات بی‌دردی متفاوت بود. آن‌ها نشان دادند که تزریق گوانتیدین پاسخ افزایش فشار خون را مهار می‌کند؛ اما اثری بر شدت یا دوره‌ی زمانی بی‌دردی ندارد و برعکس ریز تزریق فیزوستیگمین به LPGi یک پاسخ افزایش در فشار خون ایجاد می‌کند، اما تغییری در تأخیر در کشیدن دم ایجاد نمی‌کند (۲۶ و ۲۷). لذا می‌توان نتیجه گرفت که در هسته‌ی LPGi دستجات عملکردی متفاوتی از نورون‌ها وجود دارند که به ترتیب ایجاد بی‌دردی و تغییر در فعالیت وازوموتور می‌کند. فعالیت مداوم در هر دو نوع از نورون‌ها توسط تأثیرات مهاری نورون‌های گابارژیک تنظیم می‌گردد و به‌علاوه نورون‌های قلبی عروقی ورودی‌های تحریکی کولینرژیک دریافت می‌نمایند. گروه دیگری از مطالعات بر روی هسته‌ی LPGi به‌منظور بررسی نقش آن در بی‌دردی ناشی از بی‌حسی انجام شد. در این بررسی پاسخ کشیدن دم در قبال تحریک الکتریکی پوست دم به‌عنوان شاخص درد در نظر گرفته شد. این مطالعه نشان می‌دهد که تحریک الکتریکی بی‌دردی حاصل از بی‌حسی را افزایش می‌دهد، در حالی که آسیب به LPGi آن را کاهش می‌دهد. تمامی این‌ها نشان می‌دهد که LPGi در بی‌دردی ناشی از بی‌حسی نقش

on the development of neuropathic pain-like behaviors after unilateral sciatic nerve ischemic injury in rats. *Pain*. 2001; 89: 135-45.

- 2- Mogil JS. The genetic mediation of individual differences in sensitivity to pain and its inhibition. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96:7744-51.
- 3- Mogil JS, Chesler EJ, Wilson SG, Juraska JM, Sternberg WF. Sex differences in thermal nociception and morphine antinociception in rodents depend on genotype. *Neurosci Biobehav Rev*. 2000; 24: 375-89.
- 4- Azizi H, Semnanian S, Fathollahi Y, Pakdell FG, Azhdari-Zarmehri H, Rohampour K. Effect of rolipram, a type 4-specific phosphodiesterase inhibitor, on unit activity of paragigantocellularis neurons and withdrawal signs in morphine dependent rats. *Yakhteh*. 2005; 7: 35-42.
- 5- Erami E, Azhdari-Zarmehri H, Ghasemi-Dashkhasan E, Esmaeili MH, Semnanian S. Intra-paragigantocellularis lateralis injection of orexin-A has an antinociceptive effect on hot plate and formalin tests in rat. *Brain Res*. 2012; 1478: 16-23.
- 6- Normandin JJ, Murphy AZ. Excitotoxic lesions of the nucleus paragigantocellularis facilitate male sexual behavior but attenuate female sexual behavior in rats. *J Neuro Sci*. 2011; 175: 212-23.
- 7- Fathi-Moghaddam H, Kesmati M, Kargar HM. The effect of paragigantocellularis lateralis lesion on conditioned place preference (CPP) in presence or absence of alpha2 adrenergic agonist (clonidine) in male rats. *Acta Physiol Hung*. 2006; 93: 33-40.
- 8- Andrezik JA, Chan-Palay V, Palay SL. The nucleus paragigantocellularis lateralis in the rat. Demonstration of afferents by the retrograde transport of horseradish peroxidase. *Anat Embryol (Berl)*. 1981; 161: 373-90.
- 9- Andrezik JA, Chan-Palay V, Palay SL. The nucleus paragigantocellularis lateralis in the rat. Conformation and cytology. *Anat Embryol (Berl)*. 1981; 161: 355-71.
- 10- Azhdari-Zarmehri H, Semnanian S, Fathollahi Y, Pakdell FG. Responsiveness of paragigantocellularis nucleus neurons in morphine dependent rats to Forskolin in vivo: Single unit recording. *Yakhteh*. 2005; 6: 194-201.
- 11- Ston-Jones G, Shipley MT, Chouvet G, Ennis M, van BE, Pieribone V, et al. Afferent regulation of locus coeruleus neurons: anatomy, physiology and pharmacology. *Prog Brain Res*. 1991; 88: 47-75.
- 12- Singewald N, Kaehler ST, Philippu A. Noradrenaline release in the locus coeruleus of conscious rats is triggered by drugs, stress and blood pressure changes. *J Neuroreport*. 1999; 10: 1583-7.
- 13- Erami E, Sofi Abadi M, Esmaeili M, Haghdost-Yazdi H, Azhdari-Zarmehri H. Decreased formalin induced nociceptive behaviors by morphine microinjection into the nucleus reticularis paragigantocellularis lateralis. *Knowledge & Health [Article in persian]*. 2011; 6: 32-7.
- 14- Urban MO, Smith DJ. Nuclei within the rostral ventromedial medulla mediating morphine antinociception from the periaqueductal gray. *Brain Res*. 1994; 652: 9-16.
- 15- Abbott FV, Franklin KB, Westbrook RF. The

formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. *Pain*. 1995; 60: 91-102.

16- 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: 161-74.

17- Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*. 1992; 51: 5-17.

18- G.Paxinos and C.Watson. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates (4th and 6th edition), New York: Academic Press: 2005.

19- Heidari-Oranjaghi N, Azhdari-Zarmehri H, Erami E, Haghparsat A. Antagonism of orexin-1 receptors attenuates swim- and restraint stress-induced antinociceptive behaviors in formalin test. *Pharmacol Biochem Behav*. 2012; 103: 299-307.

20- Guyenet PG, Young BS. Projections of nucleus paragigantocellularis lateralis to locus coeruleus and other structures in rat. *Brain Res*. 1987; 406: 171-84.

21- Watson GS, Sufka KJ,Coderre TJ. Optimal scoring strategies and weights for the formalin test in rats. *Pain*. 1997; 70: 53-8.

22- Zhuo L, Cao XD, Wu GC. Role of the nucleus reticularis paragigantocellularis lateralis in the pain modulating system. *Sheng Li Ke Xue Jin Zhan*. 1993; 24: 321-5.

23- Zhou L, Tian Q, Jiang J, Wu G, Cao X. [Effect of electrical stimulation and lesion of N reticularis paragigantocellularis lateralis on acupuncture analgesia in rats]. *Zhen Ci Yan Jiu*. 1991; 16: 103-7.

24- Morgan MM, Sohn JH, Liebeskind JC. Stimulation of the periaqueductal gray matter inhibits nociception at the supraspinal as well as spinal level. *Brain Res*. 1989; 502: 61-6.

25- Gunn A, Bobeck EN, Weber C, Morgan MM. The influence of non-nociceptive factors on hot-plate latency in rats. *Pain*. 2011; 12: 222-7.

26- Lovick TA. Tonic GABAergic and cholinergic influences on pain control and cardiovascular control neurones in nucleus paragigantocellularis lateralis in the rat. *Pain*. 1987; 31: 401-9.

27- Lovick TA. Differential control of cardiac and vasomotor activity by neurones in nucleus paragigantocellularis lateralis in the cat. *J Physiol*. 1987; 389: 23-35.

28- Wang H, Jiang J, Can X. Changes of norepinephrine release in rat's nucleus reticularis paragigantocellularis lateralis in acupuncture analgesia. *Zhen Ci Yan Jiu*. 1994; 19: 20-5.

Assessing the Effect of Lidocaine Injection into the Nucleus Paragigantocellularis lateralis on Formalin Test and Hot Plate Test Induced Nociceptive Behaviors in Rats

Azhdari-Zarmehri H¹, Rahmani A², Puzesh S², Erami E³, Emamjomeh MM⁴

¹Dept. of Physiology, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

²Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

⁴School of Nursing & Midwifery, Torbat-e Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat-e Heydariyeh, Iran

⁵Qazvin Research Center for Social Determinants of Health (SDH), Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Corresponding Author: Azhdari Zarmehri H, Dept. of Physiology, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Email: hasan.azhdari@gmail.com

Received: 14 Apr 2012 **Accepted:** 17 Feb 2013

Background and Objectives: There have been many studies done to recognize the mechanism of controlling pain. However, there are still a lot of un-answered questions about initiatory nervous centers in expressing nociceptive behaviors and pain modulation. The nuclei of paragigantocellularis lateralis (LPGi) participate in different functions like adjustment of blood circulation, withdrawal syndrome, and pain perception. In this study, we investigated the effect of transient inactivation of the LPGi nucleus on formalin-induced nociceptive behaviors as a tonic pain model, and also the hot plate test as an acute pain model in rats.

Material and Methods: A total of 30 adult male Wistar rats (200-250 g) were used in the study. The formalin test (50 µl, 2%) was used to evaluate the effects of temporary inactivation by lidocaine into the LPGi nucleus on formalin-induced nociceptive behaviors and hot plate test (adjusted in 52±0.1 centigrade). Animals were divided into four groups: control, sham, vehicle, treatment for the formalin test, and vehicle plus treatment for the hot-plate test. A week after the surgery, saline and lidocaine were injected into the LPGi, and the nociceptive behaviors for the formalin test and hot plate were recorded. For analysis of the data, we used t-test and ANOVA followed by the Tukey post hoc test.

Results: Lidocaine injection decreased nociceptive behaviors in phase 1, interphase, and the first part of phase 2 in the formalin test compared to the saline group. Also, in the hot plate test, lidocaine injection into the LPGi nuclei caused a significant increase in the noxious response compared to the saline group in the minutes 30 and 60.

Conclusion: Our results suggest the probability of involvement of the LPGi nucleus in causing formalin induced nociceptive behaviors and also acute pain.

Keywords: Nucleus paragigantocellularis lateralis, Lidocaine, Formalin test, Hot plate test