

The Relationship Between Left and Right PAG in Rat in Unilateral Pain in the Formalin Test

Olya Moshiri¹, Javad Sajedianfard^{2*}, Mina Gheisari¹

1.MSc of Physiology, Department of Basic Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran

2.Associate Professor, Department of Basic Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 16 Apr 2017, Accepted: 12 Jul 2017

Abstract

Background: Pain is a protective process in the body. There are different pathways for pain control in the central nervous system. Descending pain control system is one of pathways. The periaqueductal gray (PAG) is a structure known for its role in pain transmission and modulation. The aim of this study is to investigate the percent of interaction between the left and right PAG in unilateral left foot induced pain.

Materials and Methods: In this study, 60 rats (280+30g) in six groups were used (3test groups and 3 controls groups). In test groups, 0.5 microliter lidocaine was injected in the left PAG, right PAG or both to make local anesthesia. In control groups, 0.5 microliter of normal saline were injected. After 15 minutes, 50 microliter of 2.5% of formalin were injected subcutaneously to right hind paw of rats and nociception was detected in every 15 seconds for one hour .

Results: The induction of unilateral pain (left hind paw) in rats, can affect not only the ipsilateral but also the contralateral PAG nucleus.

Conclusion: This study showed that the left and right PAG nuclei have significant role on unidirectional nociception in formalin test in rats. The contralateral PAG, however, has a minor effect on nociception.

Keywords: Formalin test, Lidocaine, PAG, Pain

*Corresponding Author:

Address: Department of Basic Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran

Email: sajedian@shirazu.ac.ir

بررسی ارتباط بین هسته PAG چپ و راست موش صحرائی در درد یک طرفه تحت آزمون فرمالین

علیا مشیری^۱، جواد ساجدیان فرد^{۲*}، مینا قیصری^۱

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی، گروه علوم پایه، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۲. دانشیار، گروه علوم پایه، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۶/۴/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: درد از فرآیندهای حفاظتی بدن می‌باشد. در سیستم عصبی مرکزی مسیرهای متفاوتی برای کنترل درد وجود دارد. یکی از این مسیرها سیستم نزولی کنترل درد می‌باشد. هسته خاکستری دور قناتی PAG از ساختارهای شناخته شده می‌باشد که در انتقال و تعدیل درد نقش مهمی را ایفاء می‌کند. هدف از این تحقیق، بررسی درصد رابطه بین ناحیه راست و چپ هسته PAG در ایجاد درد یک طرفه در پای چپ می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق از ۶۰ موش صحرائی نر (۲۸۰+۳۰ گرم) نژاد ویستار در شش گروه (۳ گروه آزمایش و ۳ گروه کنترل) استفاده گردید. در گروه‌های آزمایش، داروی و بی‌حسی لیدوکائین به میزان ۰/۵ میکرولیتر در هسته چپ PAG، در هسته سمت راست PAG و در هر دو هسته چپ و راست تزریق گردید و در گروه‌های کنترل سرم فیزیولوژی در نواحی مذکور تزریق گردید. پس از ۱۵ دقیقه، ۵۰ میکرولیتر از فرمالین ۲/۵ درصد به صورت زیر جلدی در پای چپ حیوان تزریق شد و میزان درد در فواصل ۱۵ ثانیه‌ای تا مدت زمان یک ساعت ثبت گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در صورت ایجاد درد در سمت چپ بدن موش صحرائی، علاوه بر ناحیه سمت چپ هسته PAG طرف مقابل آن نیز به درد واکنش نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که در آزمون فرمالین، هر دو ناحیه چپ و راست هسته PAG به طور معنی‌داری در درد ایجاد شده در یک طرف بدن در موش صحرائی نقش دارند که هسته طرف مقابل اثر کم‌تری دارد.

واژگان کلیدی: آزمون فرمالین، PAG، درد، لیدوکائین

*نویسنده مسئول: ایران، شیراز، دانشگاه شیراز، گروه علوم پایه

Email: sajedian@shirazu.ac.ir

مقدمه

درد یک مکانیسم حفاظتی برای بدن است و زمانی ایجاد می‌شود که بافت‌ها آسیب دیده باشند (۱). برای کنترل درد در بدن سیستم‌های کنترلی وجود دارد و با توجه به این که گیرنده‌های درد انتهای عصبی آزاد هستند و سازش در آن‌ها فوق العاده ناچیز است، این عامل به گیرنده‌های درد اجازه می‌دهد که موجود را از وجود محرک آسیب رساننده‌ای که موجب درد شده است مطلع سازد. به دنبال محرک‌های مکانیکی-حرارتی-شیمیایی موادی از بافت آسیب دیده آزاد می‌شود که موجب تحریک گیرنده‌های درد شده و پیام به وسیله فیبرهای A δ و C به شاخ‌های خلفی نخاع می‌رود و گلوتامات و ماده P ترشح می‌شود و باعث تحریک نورون‌های رده دوم می‌شود و سیگنال‌ها مسیر درد را برای ورود به مغز طی می‌کنند (۲، ۳).

به منظور کنترل درد در بدن سیستم تعدیل و کنترل درد وجود دارد (۴). با توجه به انواع درد که توسط محرک‌های حرارتی، مکانیکی و شیمیایی ایجاد می‌شود، محتمل است که مسیرهای کنترلی مختلفی تحت تاثیر قرار گیرند (۵). یکی از این سیستم‌ها سیستم کنترل درد نزولی می‌باشد که نواحی مختلفی در عملکرد آن نقش دارند (۴).

ناحیه خاکستری دور قناتی PAG در مغز میانی یکی از ساختارهای هماهنگ کننده مهم در مسیرهای کنترل درد نزولی به شمار می‌آید که شامل تراکم بالایی از نورون‌های ترشح کننده انکفالین می‌باشد (۶). PAG ارتباطات داخلی محکمی با هیپوتالاموس و ساختار لیمبیک دارد (۷). این هسته در اعمال فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی بسیاری هم‌چون درد، ترس، دفاع، کنترل قلبی-عروقی، استرس و هوشیاری دخالت دارد (۸).

PAG از اولین ساختارهای مغزی شناخته شده است که نقش مهمی را در درد و بی‌دردی ایفا می‌کند. تحریک الکتریکی و شیمیایی PAG پاسخ‌های رفتاری به تحریکات مضر و فعالیت نورون‌های درد در نخاع را از بین می‌برد (۹). نشان داده شده

است که تحریک نورون‌های PAG به واسطه قشر حرکتی در سیستم ضد دردی نقش دارد (۱۰، ۱۱). ناحیه PAG دارای پروجکشن‌های دوطرفه می‌باشد، که نشان می‌دهد هر دو ناحیه در پاسخ‌های ضد دردی به محرک دردزا نقش دارند. سهم پاسخ ایجاد شده به محرک دردزا در یک طرف بدن و میزان پاسخ‌دهی به آن در انواع مختلف درد نیاز به مطالعات بیشتر دارد (۱۲).

تست فرمالین یک روش ارزیابی کمی و کیفی درد در حیواناتی مانند موش رت و گربه است. پس از تزریق فرمالین پاسخ رفتاری حیوان هر ۱۵ ثانیه به مدت ۶۰ دقیقه بر اساس یک دسته بندی رفتاری استنباط می‌شود و بر اساس مقادیر عددی ثبت می‌گردد. تزریق زیر جلدی فرمالین باعث ایجاد درد برای مدت زمان یک ساعت می‌شود که یک مدل مناسب برای مطالعه درد ناشی از التهاب است (۱۳، ۱۴).

با دانستن چگونگی عمل سیستم‌های کنترل درد در موجودات می‌توان روش‌های جدیدتری برای دردهای ایجاد شده توسط بیماری‌های گوناگون به کار برد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط متقابل بین دو هسته سمت چپ و راست PAG در ایجاد بی‌دردی در آزمون فرمالین پس از ایجاد درد در سمت چپ بدن موش صحرائی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

۶۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار با وزن 280 ± 30 گرم در شش گروه مورد آزمایش قرار گرفت. حیوانات در محل مناسب نگهداری شدند و آب و غذا به صورت آزاد در اختیار داشتند. دوره روشنایی ۱۲ ساعته (۷ تا ۱۹) و در درجه حرارت $22 \pm 2^\circ\text{C}$ بود.

گروه یک: در هسته PAG سمت راست، گروه دو: در هسته PAG سمت چپ، گروه سه: در هر دو هسته PAG سمت راست و چپ، کانول گذاری انجام شد و یک هفته بعد با تزریق سرم فیزیولوژی در هسته PAG و انجام آزمون فرمالین آزمایش در گروه‌های کنترل کامل گردید. گروه چهار: در

حیوان هر ۱۵ ثانیه به مدت ۶۰ دقیقه بر اساس یک دسته بندی رفتاری استباط می‌شود و بر اساس مقادیر عددی ثبت می‌گردد. بدین ترتیب که اگر حیوان رفتار خاصی نشان ندهد عدد صفر، اگر پای حیوان روی زمین باشد و حیوان روی آن فشاری وارد نکند و فقط مقدار پا را جمع کرده باشد عدد یک، اگر حیوان پا را داخل شکم جمع کند یا روی زمین ضربه بزند عدد دو و در نهایت اگر حیوان کف پای تزریق شده را لیس بزند عدد سه ثبت می‌گردد.

روش تحلیل داده‌ها و آزمون‌های آماری: میانگین اعداد هر ۵ دقیقه در مورد هر موش محاسبه شد و در نرم‌افزار SPSS مورد بررسی قرار گرفت. برای ارزیابی داده‌ها در گروه‌های مختلف، از آزمون Student t-test به منظور مقایسه بین دو گروه در هر زمان و آنالیز واریانس یک‌طرفه با انجام آزمون تکمیلی دانکن برای مقایسه بین چند گروه در هر زمان، استفاده شد. همچنین، به منظور مقایسه بین میزان درد در دو هسته‌ی چپ و راست در همه‌ی زمان‌ها و مشخص شدن میزان ارتباط دو هسته، از ضریب همبستگی پیرسون (R) استفاده گردید. میزان حداقل سطح معنی‌دار بین گروه‌ها $p < 0.05$ تعیین گردید.

یافته‌ها

در مطالعه حاضر ۶ گروه شامل ۳ گروه کنترل و ۳ گروه آزمون مورد بررسی قرار گرفتند. در هر گروه میانگین میزان درد آزمون فرمالین در تمام طول آزمایش محاسبه شد. در مقایسه بین گروه‌های ۱، ۲ و ۳ (گروه‌های کنترل)، تغییرات معنی‌داری از نظر میزان درد دیده نشد (نمودار ۱). در هر سه گروه کنترل درد در فاز اول آزمون فرمالین افزایش و سپس در بین دو فاز کاهش و در فاز دوم افزایش و در انتها با شدت کم‌تری کاهش یافت (جدول ۱).

هسته PAG سمت راست، گروه پنج: در هسته PAG سمت چپ، گروه شش: در هر دو هسته PAG سمت راست و چپ کانول‌گذاری انجام شد و بعد از یک هفته داروی با تزریق لیدو کائین در هسته PAG و انجام آزمون فرمالین آزمایش در گروه‌های آزمایش کامل گردید.

بی‌هوشی و کانول‌گذاری: حیوانات با استفاده از ترکیب دو داروی بی‌هوشی زایلازین و کتامین به ترتیب به میزان 10 mg/kg و 100 mg/kg به صورت داخل صفاغی (i.p.) بی‌هوشی شدند. پس از اطمینان از بی‌هوشی کامل، حیوان در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شد و بر اساس اطلس پاکسینوس با مختصات، زاویه ۱۵ درجه از کنار $AP = -7.64 \text{ mm}$ ، $DV = \pm 2.1 \text{ mm}$ از خط میانی مجموعه به سمت چپ یا راست یا هر دو طرف، سوراخی با دریل دندانپزشکی به قطر 2 mm ایجاد شد و پس از برداشتن پرده دورا کانول‌گذاری انجام گردید (۱۵).

ایجاد بی‌حسی موضعی با لیدوکائین: یک هفته بعد از کانول‌گذاری و بهبودی حیوان، با استفاده از سر سوزن دندان‌پزشکی شماره ۲۹ به عنوان کانول تزریق، سرم فیزیولوژی (در گروه‌های کنترل ۱-۳) و یا داروی بی‌حس کننده موضعی لیدوکائین (در گروه‌های آزمایش ۴-۶) با حجم $0.5 \mu\text{l}$ در هسته PAG توسط سرنگ هامیلتون یک میکرولیتری در مدت زمان یک دقیقه تزریق شد. بعد از ۱۵ دقیقه $50 \mu\text{l}$ فرمالین $2/5$ درصد در زیر پوست کف پای چپ تزریق شد و رفتارهای مرتبط با درد به مدت ۶۰ دقیقه ثبت گردید.

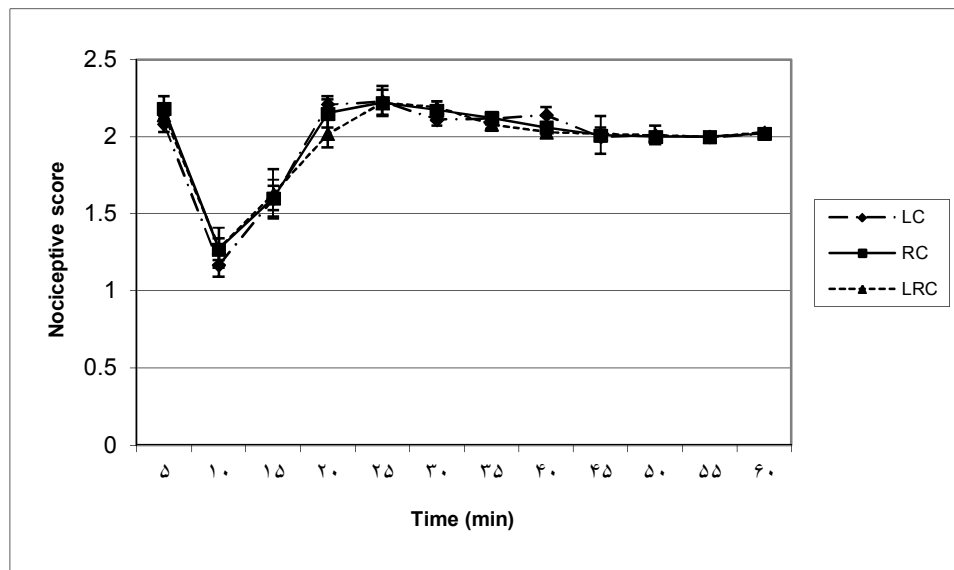
آزمون فرمالین: تزریق فرمالین به صورت زیر جلدی کف پای حیوان یک پاسخ دو فازی ایجاد می‌کند. ۵ دقیقه اول پس از تزریق فاز حاد می‌باشد. از پایان دقیقه ۱۵ تا پایان دقیقه ۶۰ فاز مزمن می‌باشد. همچنین از پایان دقیقه ۵ تا پایان دقیقه ۱۵ فاز میانی در نظر گرفته می‌شود. پس از تزریق فرمالین پاسخ رفتاری

جدول ۱: LC = گروه کنترل PAG سمت چپ، RC = گروه کنترل PAG سمت راست، LRC = گروه کنترل PAG سمت راست و چپ، LT = گروه کنترل PAG سمت راست، RT = گروه آزمایش PAG سمت راست، LRT = گروه آزمایش PAG سمت راست و چپ.

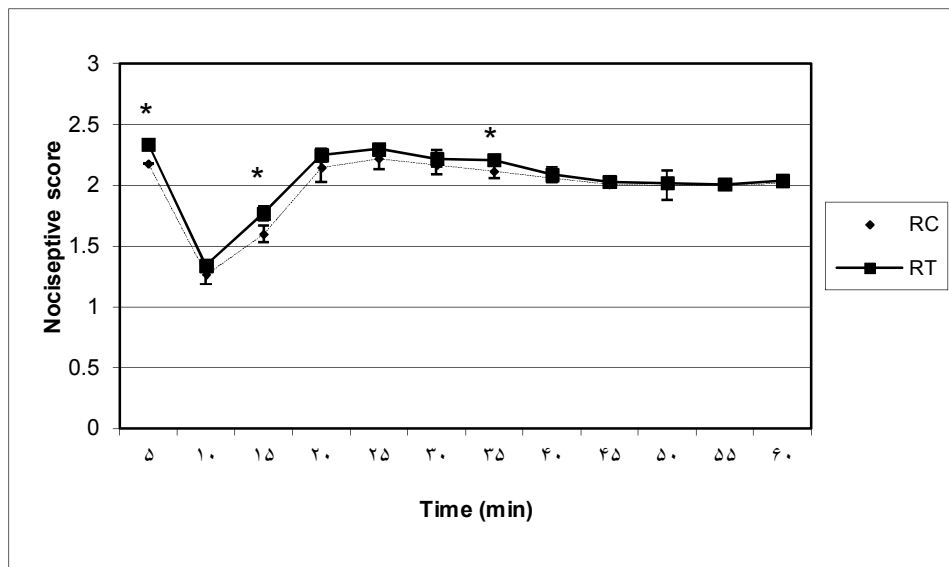
زمان گروه	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰	۵۵	۶۰
LC	۲/۰۸±/۰۵	۱/۱۷±	۱/۶±	۲/۲۱±	۲/۲۳±	۲/۱۱±	۲/۱۲±	۲/۱۴±	۲±	۲/۰۱±	۲±	۲/۰۲±
RC	۲/۱۸±/۰۸	۱/۲۷±	۱/۶±	۲/۱۵±	۲/۲۲±	۲/۱۷±	۲/۱۲±	۲/۰۶±	۲/۰۱±	۲±	۲±	۲/۰۲±
LRC	۲/۱۴±	۱/۲۸±	۱/۶±	۲/۰۲±	۲/۲۲±	۲/۱۹±	۲/۰۸±	۲/۰۳±	۲/۰۲±	۲/۰۱±	۲±	۲/۰۲±
LT	۲/۳۶±	۱/۳۶±	۱/۸۵±	۲/۳±	۲/۳۴±	۲/۲۶±	۲/۱۷±	۲/۱۷±	۲/۰۴±	۲/۰۳±	۲/۰۲±	۲/۰۵±
RT	۲/۳۴±	۱/۳۴±	۱/۸۷±	۲/۲۵±	۲/۳±	۲/۲۲±	۲/۲۱±	۲/۰۹±	۲/۰۳±	۲/۰۲±	۲/۰۱±	۲/۰۴±
LRT	۲/۳۸±	۱/۳۷±	۲/۰۳±	۲/۳۳±	۲/۳۸±	۲/۲۸±	۲/۲۸±	۲/۱۸±	۲/۰۶±	۲/۰۶±	۲/۰۴±	۲/۰۷±

در گروه چهارم (آزمایش) درد با میزان $۲/۳۴±۰/۰۵$ در فاز اول آغاز و به میزان $۱/۵۵±۰/۰۵$ بین فاز اول و دوم کاهش و با میزان $۲/۱۳±۰/۰۳$ در فاز دوم ادامه یافت. در مقایسه با گروه اول (کنترل) نمودار گروه چهارم در تمام طول آزمایش بالاتر از گروه کنترل قرار گرفت و در پنج دقیقه اول، سوم و هفتم اختلاف معنی دار بود (نمودار ۲). در پنج دقیقه اول، گروه چهارم میزان درد بیش تری نسبت به زمان مشابه گروه اول ($P=۰/۰۵۳$)، پنج دقیقه سوم، گروه چهارم میزان درد بیشتری نسبت به زمان مشابه گروه اول ($P=۰/۰۴۸$)، پنج دقیقه هفتم، گروه چهارم میزان درد بیش تری نسبت به زمان مشابه گروه اول ($P=۰/۰۲۳$)، مشاهده شد و اختلاف معنی دار پیدا کردند.

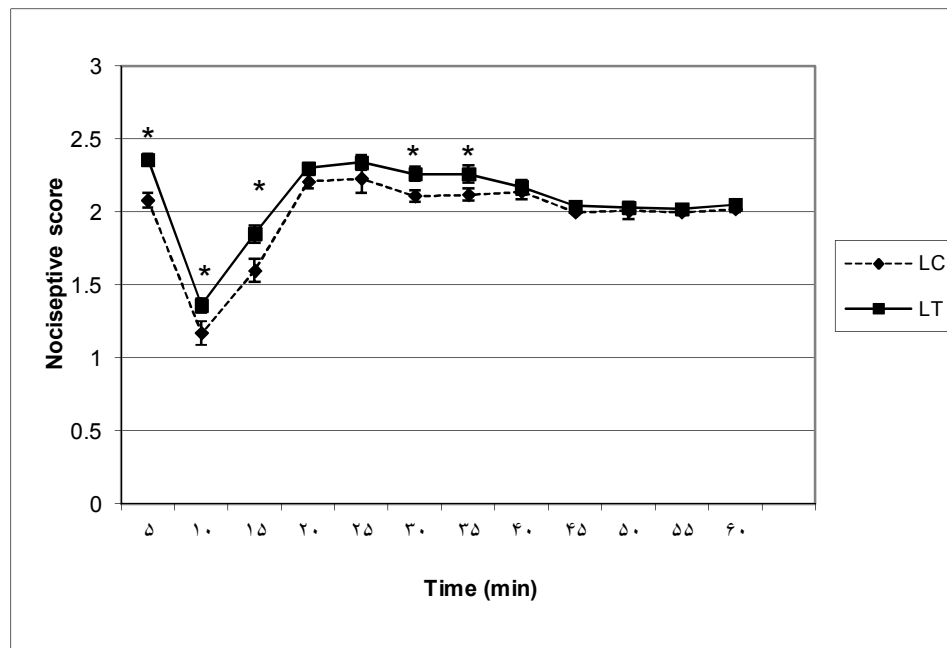
در گروه اول درد با میزان $۲/۱۸±۰/۰۸$ در فاز اول آغاز و به میزان $۱/۴۳±۰/۰۹$ بین فاز اول و دوم کاهش و با میزان $۲/۰۸±۰/۰۵$ در فاز دوم ادامه یافت. در گروه دوم درد با میزان $۲/۰۸±۰/۰۵$ در فاز اول آغاز و به میزان $۱/۳۸±۰/۰۱$ بین فاز اول و دوم کاهش و با میزان $۲/۰۹±۰/۰۴$ در فاز دوم ادامه یافت. در گروه سوم درد با میزان $۲/۱۴±۰/۰۳$ در فاز اول آغاز و به میزان $۱/۴۵±۰/۱۴$ بین فاز اول و دوم کاهش و با میزان $۲/۰۶±۰/۰۲$ در فاز دوم ادامه یافت. با مقایسه سه گروه کنترل تغییر معنی داری مشاهده نشد و هر کدام با گروه آزمون مربوط به خود مقایسه شدند.



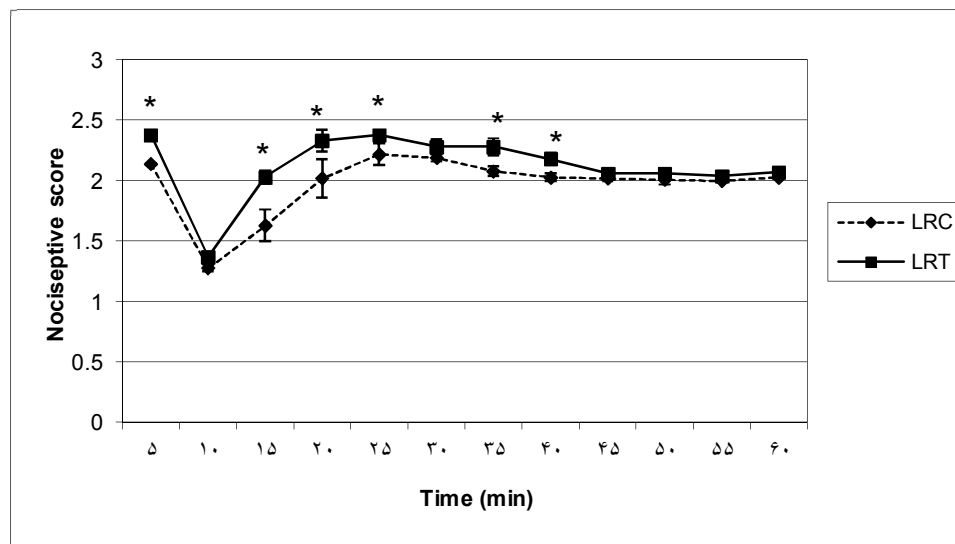
نمودار ۱: مقایسه حساسیت به درد بین گروه‌های یک و دو و سه (گروه‌های کنترل PAG سمت راست، چپ و دو طرفه)، LC = گروه کنترل PAG سمت چپ، RC = گروه کنترل PAG سمت راست، LRC = گروه کنترل PAG سمت راست و چپ.



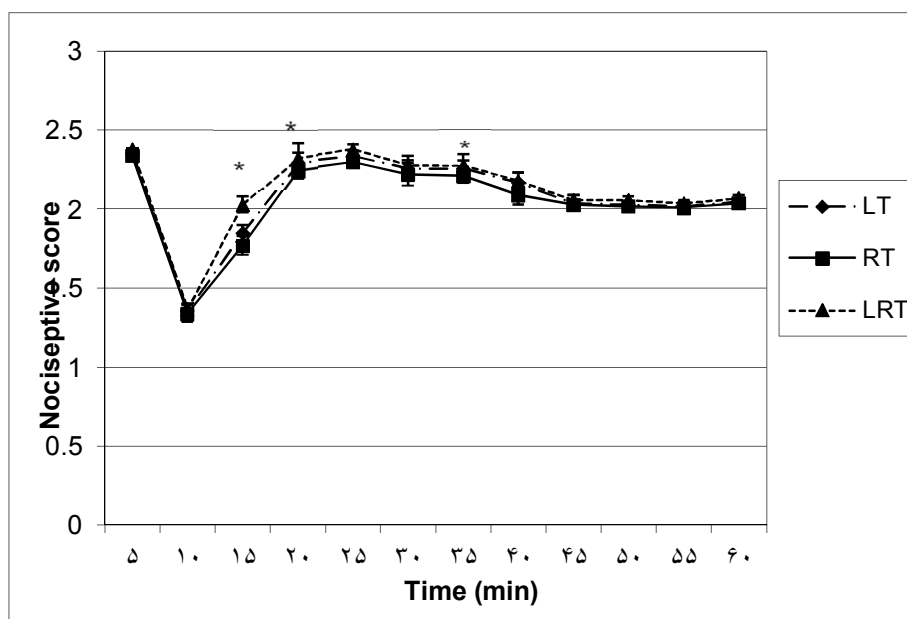
نمودار ۲: مقایسه حساسیت به درد بین گروه‌های یک و چهار (کنترل و آزمایش PAG سمت راست)، RC = گروه کنترل PAG سمت راست، RT = گروه آزمایش PAG سمت راست. * = اختلاف معنی دار با $p < 0.05$ در پنج دقیقه اول ($p = 0.053$)، پنج دقیقه سوم ($p = 0.048$)، پنج دقیقه هفتم ($p = 0.023$).



نمودار ۳: مقایسه حساسیت به درد بین گروه‌های دو و پنج (کنترل و آزمایش PAG سمت چپ)، LC = گروه کنترل PAG سمت چپ، LT = گروه آزمایش PAG سمت چپ. * = اختلاف معنی دار با $p < 0.05$ در پنج دقیقه اول ($p = 0/001$)، پنج دقیقه دوم ($p = 0/01$)، پنج دقیقه سوم ($p = 0/0001$)، پنج دقیقه ششم ($p = 0/001$)، پنج دقیقه هفتم ($p = 0/031$).



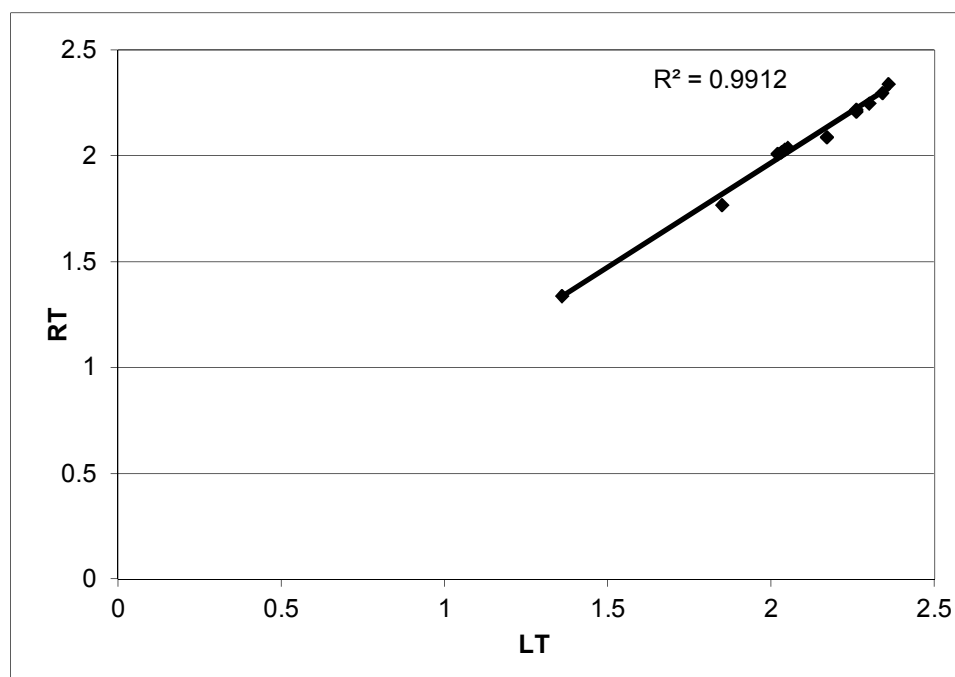
نمودار ۴: مقایسه حساسیت به درد بین گروه‌های سه و شش (کنترل و آزمایش PAG دو طرفه)، LRC = گروه کنترل PAG سمت راست و چپ، LRT = گروه آزمایش PAG سمت راست و چپ. * = اختلاف معنی دار با $p < 0.05$ در پنج دقیقه اول ($p = 0/025$)، پنج دقیقه سوم ($p = 0/0001$)، پنج دقیقه چهارم ($p = 0/018$)، پنج دقیقه پنجم ($p = 0/019$)، پنج دقیقه هفتم ($p = 0/012$)، پنج دقیقه هشتم ($p = 0/022$).



نمودار ۵: مقایسه حساسیت به درد بین گروه‌های چهار، پنج و شش (آزمایش PAG سمت راست، چپ و دو طرفه). * = اختلاف معنی دار در پنج دقیقه سوم، چهارم و هفتم با $p < 0.05$ ($p = 0.001$).

آغاز و به میزان 1.7 ± 0.07 بین فاز اول و دوم کاهش و به میزان 2.18 ± 0.03 در فاز دوم ادامه یافت (جدول ۲-۴). در مقایسه گروه سوم و ششم، نمودار گروه ششم در طول آزمایش بالاتر از گروه سوم قرار گرفت و اختلاف معنی دار در پنج دقیقه اول، سوم، چهارم، پنجم، هفتم و هشتم مشاهده شد (نمودار ۴). در پنج دقیقه اول، گروه ششم میزان درد بیشتری نسبت به گروه سوم ($P = 0.025$)، پنج دقیقه سوم، گروه ششم میزان درد بیشتری نسبت به گروه سوم ($P = 0.0001$)، پنج دقیقه چهارم، گروه ششم میزان درد بیشتری نسبت به گروه سوم ($P = 0.018$)، پنج دقیقه پنجم، گروه ششم میزان درد بیشتری نسبت به گروه سوم ($P = 0.019$)، پنج دقیقه هفتم، گروه ششم میزان درد بیشتری نسبت به گروه سوم ($P = 0.012$)، پنج دقیقه هشتم، گروه ششم میزان درد بیشتری نسبت به گروه سوم ($P = 0.022$)، مشاهده شد و اختلاف معنی دار پیدا کردند.

در گروه پنجم درد با میزان 2.36 ± 0.04 در فاز اول آغاز و با 1.60 ± 0.05 بین فاز اول و دوم کاهش و با 2.16 ± 0.03 در فاز دوم ادامه یافت (جدول ۲-۴). در مقایسه گروه دوم و پنجم، نمودار گروه پنجم در طول آزمایش بالاتر از گروه دوم قرار گرفت و اختلاف معنی دار در پنج دقیقه اول، دوم، سوم، ششم و هفتم مشاهده شد (نمودار ۳). گروه پنجم در پنج دقیقه اول، دوم، سوم، ششم و هفتم نشان داد ($p < 0.05$) میزان درد بیشتری نسبت به زمان مشابه گروه دوم ($P = 0.001$)، پنج دقیقه دوم، گروه پنجم میزان درد بیشتری نسبت به زمان مشابه گروه دوم ($P = 0.01$)، پنج دقیقه سوم، گروه پنجم میزان درد بیشتری نسبت به زمان مشابه گروه دوم ($P = 0.0001$)، پنج دقیقه ششم، گروه پنجم میزان درد بیشتری نسبت به گروه دوم ($P = 0.001$)، پنج دقیقه هفتم، گروه پنجم میزان درد بیشتری نسبت به گروه دوم ($P = 0.031$)، مشاهده شد و اختلاف معنی دار پیدا کردند. در گروه ششم درد با نمره بیشتری نسبت به گروه قبل آغاز و ادامه یافت. در این گروه درد با میزان 2.38 ± 0.03 در فاز اول



نمودار ۶: میزان **Coefficient of Determination** بین دو هسته چپ و راست PAG، LT = گروه آزمایش PAG سمت چپ، RT = گروه آزمایش PAG سمت راست. ارتباط ۹۹٪ بین دو هسته راست و چپ PAG وجود دارد.

بحث و نتیجه گیری

سیستم عصبی مرکزی شامل مغز و نخاع است که مغز شامل دو نیمکره می‌باشد. نیمکره چپ بر روی حس، حرکت و درد سمت راست بدن و نیمکره راست بر روی حس، حرکت و درد سمت چپ بدن اثر دارد. دو نیمکره توسط رابط مغزی که ۲۰۰ تا ۵۲۰ میلیون رشته عصبی دارد به هم وصل می‌شوند. هسته‌های عصبی در نیمکره‌های مغز در حس، حرکت و درد به صورت Contralateral عمل می‌کنند (۱۶).

هسته PAG در مغز میانی یکی از ساختارهای هماهنگ کننده مهم در مسیرهای کنترل درد نزولی به شمار می‌آید که شامل تراکم بالایی از نورون‌های ترشح کننده انکفالین می‌باشد (۶). PAG ارتباطات داخلی محکمی با هیپوتالاموس و ساختار لیمبیک دارد (۷). این هسته در اعمال فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی بسیاری همچون درد، ترس، دفاع، کنترل قلبی-عروقی، استرس و هوشیاری دخالت دارد (۸).

در مقایسه‌ای که بین گروه‌های آزمایش (گروه‌های ۴-۶) انجام شد، میزان درد در گروه ششم (بی‌حسی هر دو هسته) بالاتر از گروه پنجم (هسته سمت چپ) و گروه چهارم (هسته سمت راست) و گروه پنجم بالاتر از گروه چهارم قرار گرفت (نمودار ۵). در این مرحله در پنج دقیقه سوم، چهارم و هفتم گروه ششم با گروه دوم در زمان مشابه اختلاف معنی‌دار نشان داد ($P=0/001$).

در نمودار شماره ۶ میزان **Coefficient of Determination** بین دو هسته چپ و راست PAG و رابطه بین دو هسته نشان داده شده است. این نمودار نشان می‌دهد که هسته PAG طرف مقابل می‌تواند به میزان زیادی نسبت به هسته PAG همان طرف که درد ایجاد شده است بر کنترل درد تاثیر گذار باشد.

لیدوکائین تزریق نمی شد. بنابراین می توان به این نتیجه رسید که هسته PAG همان طرف نیز بر کنترل درد اثر گذاشته و با غیر فعال شدن این هسته میزان درد بیشتر است.

زمانی که لیدوکائین در هر دو سمت چپ و راست هسته PAG تزریق شد داروی بی حسی موضعی بر دو هسته موثر واقع شد. در این شرایط به دلیل بی حسی هر دو هسته، به نظر می رسد که هیچ کدام از هسته ها پاسخی برای کاهش درد نشان ندادند. میزان اختلاف معنی دار در بین هسته چپ و راست را میتوان به مشارکت هسته سمت راست نسبت داد که به صورت متقابل عمل کرده است.

زمانی که لیدوکائین در هر دو ناحیه راست و چپ هسته تزریق می شد در بیشتر از زمانی بود که فقط یکی از هسته ها با استفاده از لیدوکائین بی حس می شد که، نشان دهنده این است دو هسته سمت راست (که به صورت Contralateral عمل می کنند) و چپ، به دلیل بی حسی نتوانسته اند در کنترل درد مشارکت کنند. با بی حس شدن هسته سمت چپ درد بیشتری نسبت به زمانی که هسته سمت راست بی حس شد وجود داشت. این حالت مربوط به مشارکت کمتر هسته سمت چپ (Ipsilateral) می باشد که باعث شده میزان درد تا حدی در گروه بیشتر شود. کاهش معنی دار حساسیت به درد در گروه سمت راست با گروه های دو طرفه و چپ هم به دلیل عدم مشارکت هسته سمت چپ و اثر Ipsilateral سمت چپ می باشد. البته به طور کلی در طول آزمایش هم گروه دو طرفه درد بیشتری را نسبت به سمت چپ نشان داده است که نشان دهنده عدم مشارکت هسته سمت راست بوده است.

مقایسه بین دو هسته سمت چپ و راست و میزان Coefficient of Determination (CD) بین دو هسته چپ و راست نشان می دهد که هسته طرف مقابل می تواند تا میزان ۹۹ درصد نسبت به هسته همان طرف بر کنترل درد اثر بگذارد.

هلیج و همکاران نشان دادند که کریپوس کالازوم نقش اصلی و مهم را در واکنش بین دو نیمکره دارد که ارتباط بین دو نیمکره

نیمکره چپ بر روی Right laterality و نیمکره راست بر روی Left laterality اثر دارند، هسته های عصبی در نیمکره های مغز در بسیاری از اعمال حسی و حرکتی دخالت دارند و به صورت contralateral عمل می کنند (۱۷).

ناحیه PAG جزئی از ساختارهای مغزی است که در درد دخالت دارد، تحریک الکتریکی این ناحیه باعث بی دردی می شود (۱۸). ورودی هایی از مراکز قشری به PAG می آیند که برای شروع کنترل درد نزولی روی نورون های نخاع ضروری می باشند (۱۱). آوران های زیادی از هیپوتالاموس به PAG ختم می شوند (۸). با توجه به ورودی و خروجی های متعدد، هسته PAG در اعمال فیزیولوژیک مختلفی شرکت دارد که از مهمترین آن ها استرس و بی دردی می باشد که انتقال درد را از شاخ پشتی طناب نخاعی مهار می کند (۱۰، ۱۹). PAG ورودی ها را از نواحی مختلف مغز دریافت می کند (۱۹) و به درون ساختارهای دیگر پروجکت می شود (۲۰).

تزریق N-استیل اسپارتیل گلوتامات در ناحیه خاکستری دور قناتی موجب اثرات ضد دردی بصورت متقابل در آزمون فرمالین شده است (۱۲).

در مطالعه حاضر چگونگی کنترل هسته PAG در احساس درد در آزمون فرمالین به عنوان مدل درد مزمن بررسی شد. در این مطالعه با بی حس کردن هسته PAG در طرف راست، چپ و دو طرفه و ایجاد درد با تزریق فرمالین در زیر پوست کف پای چپ تاثیر این نواحی چپ و راست این هسته بر هم بررسی گردید. در مقایسه بین گروه های اول، دوم و سوم که گروه های کنترل هستند تغییرات معنی داری مشاهده نشد.

زمانی که در PAG سمت راست لیدوکائین تزریق می شد، درد ناشی از تزریق فرمالین در کف پای چپ بیشتر از زمانی بود که لیدوکائین تزریق نمی شد. بنابراین می توان با مقایسه این دو گروه به این نتیجه رسید که PAG طرف مقابل بر کنترل درد اثر گذاشته و با غیر فعال شدن این هسته میزان درد بیشتر است.

زمانی که در PAG سمت چپ لیدوکائین تزریق می شد، درد ناشی از تزریق فرمالین در کف پای چپ بیشتر از زمانی بود که

در بعضی مطالعات تفاوت در (SPA: simulation produced analgesia) گزارش شده است (۳۱، ۳۲). Narita و همکاران دریافتند تفاوتی در بی‌دردی دو پنجه پا در موش صحرائی در طول تحریک PAG وجود ندارد (۳۳). Richardson و همکاران یافتند بی‌دردی عمیقی روی پنجه طرف مقابل با تحریک الکتروود در مقایسه با پنجه همان طرف ایجاد شده است. مهار ویژه Contralateral با تحریک زیاد ناحیه منقاری دیانسفالیک دور بطنی گزارش شده است (۳۴). تزریق مورفین درون PAG نشان داده که ابتدا در پنجه ipsilateral در مکان تزریق قبل از پخش شدن درون بدن ایجاد بی‌دردی می‌کند (۳۵). طبق آزمایشی که بر روی هسته PAG انجام دادند، با به کار گذاشتن الکتروود و تحریک الکتریکی و با استفاده از آزمون تکان دم یافتند که تحریک PAG می‌تواند درد را در دو سمت بدن مهار نماید. اما بی‌دردی ایجاد شده در ناحیه ipsilateral از هر دو ناحیه پشتی و شکمی ایجاد می‌شود (۳۶).

تحریک PAG می‌تواند درد را در دو ناحیه بدن مهار کند. اما این بی‌دردی ایجاد شده ترجیحاً در ناحیه ipsilateral می‌باشد. تحریک PAG درد را در دم و پنجه ipsilateral بدون تغییر درد در پنجه Contralateral مهار می‌کند.

مشخص کردن رابطه بین این دو هسته و اثر ipsilateral هسته‌ها می‌تواند به شناخت بیشتر درد و مکانیسم‌های آن منجر شود. با شناخت بیشتر درد و مکانیسم‌هایش می‌توانیم روش‌های بیشتری را در مهار آن پیشنهاد کنیم. کنترل درد یکی از مشکلات است که همواره مورد توجه بشر می‌باشد. هم‌چنین با توجه به اینکه هسته PAG در اعمال فیزیولوژیکی مختلفی شرکت می‌کند، شناخت بیشتر آن به کنترل و مهار این اعمال کمک می‌کند.

با بی‌حسی هر دو ناحیه راست و چپ هسته PAG میزان درد در موش‌های صحرائی افزایش معنی‌داری نسبت به بی‌حسی هسته راست و یا چپ به تنهایی نشان داد. هم‌چنین بی‌حسی هسته چپ نیز افزایش معنی‌داری نسبت به بی‌حسی

از این راه انجام می‌شود و هر نیمکره ظرفیت‌های خاص خود را دارد (۲۱). Uchiyama و همکاران نشان دادند که ارتباط متقابل یا همزمان بین دو نیمکره مغزی وابسته به فعال‌سازی مسیر کالازوم می‌باشد (۲۲). Chen و همکارانش نشان دادند که هسته‌های مغزی در دو نیمکره مثل هم عمل نمی‌نمایند و از نظر عملکردی با هم اختلاف دارند (۲۳). Voineskos و همکاران با گرفتن EEG (الکتروانسفالوگرافی) نشان دادند که تقارن در مغز وجود ندارد (۲۴).

Heinisch و همکاران یافتند تحریک ناحیه شکمی PAG تولید بی‌حسی برگشت‌پذیر به نالوکسان می‌کند در حالی که تحریک ناحیه پشتی PAG تولید بی‌حسی می‌کند که به دارو حساس نمی‌باشد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که گیرنده‌های مخدر تراکم بیشتری در ناحیه شکمی PAG نسبت به ناحیه پشتی دارند (۲۵). در یک پژوهش نشان دادند که تحریک الکتریکی PAG موجب پاسخ‌های ضد درد می‌شود (۱۰). تزریق مورفین درون PAG ایجاد بی‌دردی عمیق می‌کند که توسط نالوکسان مهار می‌شود (۲۶)، مورفین و گلو تامات رفلکس‌های درد را در طناب نخاع موش صحرائی زمانی که درون PAG تزریق می‌شوند، را مهار می‌کند (۲۷، ۲۸).

طبق گزارشی که از آزمایش بر روی هسته لوکوس سرولوس به دست آمده، گروهی که هر دو هسته سمت چپ و راست بی‌حس شده بود میزان درد بیشتری را نسبت به دو گروه دیگر نشان داد. در حالی که در لوکوس سرولوس هسته سمت چپ در کنترل درد نسبت به هسته سمت راست قوی‌تر عمل نمود و به این نتیجه رسیدند که در صورت ایجاد درد در یک طرف بدن هسته لوکوس سرولوس در همان طرف نیز به درد واکنش نشان می‌دهد و به صورت contralateral عمل می‌کند (۲۹). ساجدی‌ان فرد و همکاران وجود Latrality را در هسته لوکوس سرولوس ثابت نمودند که با تزریق فرمالین در پنجه پای راست نشان دادند که گروه هسته سمت چپ نسبت به هسته سمت راست در کنترل درد نقش مهمتری را ایفاء می‌کند (۳۰).

8. Corcoran L, Roche M, Finn DP. The Role of the Brain's Endocannabinoid System in Pain and Its Modulation by Stress. *Int Rev Neurobiol* 2015,125:203-255..
9. Vaughan CW, Connor M, Bagley EE, Christie MJ. Actions of cannabinoids on membrane properties and synaptic transmission in rat periaqueductal gray neurons in vitro. *Mol Pharmacol* 2000,57:288-295.
10. Chiou RJ, Chang CW, Kuo CC. Involvement of the periaqueductal gray in the effect of motor cortex stimulation. *Brain Res* 2013,1500:28-35.
11. Raboisson P, Dallel R. The orofacial formalin test. *Neurosci Biobehav Rev* 2004,28:219-226.
12. Yamada T, Zuo D, Yamamoto T, et al. NAAG peptidase inhibition in the periaqueductal gray and rostral ventromedial medulla reduces flinching in the formalin model of inflammation. *Molecular Pain*. 2012;8:67.
13. Freitas K, Carroll FI, Damaj MI. The Antinociceptive Effects of Nicotinic Receptors $\alpha 7$ -Positive Allosteric Modulators in Murine Acute and Tonic Pain Models. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2013;344(1):264-275.
14. Lamb K, Tidgewell K, Simpson DS, Bohn LM, Prisinzano TE. Antinociceptive Effects of Herkinorin, a MOP Receptor Agonist Derived from Salvinorin A in the Formalin Test in Rats: New Concepts in Mu Opioid Receptor Pharmacology(). *Drug and Alcohol Dependence* 2012,121:181-188.
15. Paxinos G WC. The rat brain in stereotaxic coordinates. .Sixed edition. London. 2007.
16. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 2002,66:355-474.
17. Wiesmann M, Seidel G. Ultrasound perfusion imaging of the human brain. *Stroke* 2000,31:2421-2425.
18. Zhang XY, Zhang YM, Zhang ML, Yu LC. Involvement of galanin receptor 2 and CaMKII in galanin-induced antinociception

سمت راست نشان داد. این نتایج نشان داد که در صورت ایجاد درد در یک طرف بدن، هسته PAG در همان طرف نیز به درد واکنش نشان می‌دهد. اطلاعات حسی درد یک طرفه به هر دو هسته وارد می‌شود که PAG طرف مقابل اطلاعات بیشتری را گرفته و پاسخ بیشتری به درد می‌دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مربوط به پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی دانشگاه شیراز می باشد. بدین وسیله از تمام عزیزانی که در انجام این پژوهش مشارکت داشتند قدردانی می‌نمایم.

منابع

1. Wall PD MR, Bonica JJ. Textbook of pain. Churchill Livingstone Edinburgh. 1999.
2. Guyton. Medical physiology. SundersNewyourk. Eleven editions. 2006.
3. Leith JL, Wilson AW, You HJ, Lumb BM, Donaldson LF. Periaqueductal grey cyclooxygenase-dependent facilitation of C-nociceptive drive and encoding in dorsal horn neurons in the rat. *J Physiol* 2014,592:5093-5107.
4. Heinricher MM, Tavares I, Leith JL, Lumb BM. Descending control of nociception: specificity, recruitment and plasticity. *Brain research reviews* 2009,60:214-225.
5. Kimura M, Sakai A, Sakamoto A, Suzuki H. Glial cell line-derived neurotrophic factor-mediated enhancement of noradrenergic descending inhibition in the locus coeruleus exerts prolonged analgesia in neuropathic pain. *Br J Pharmacol* 2015,172:2469-2478.
6. Wang J, Zhang H, Feng YP, Meng H, Wu LP, Wang W, et al. Morphological evidence for a neurotensinergic periaqueductal gray-rostral ventromedial medulla-spinal dorsal horn descending pathway in rat. *Front Neuroanat* 2014,8:112.
7. Canteras NS, Pavesi E, Carobrez AP. Olfactory instruction for fear: neural system analysis. *Front Neurosci* 2015,9:276.

in periaqueductal grey of rats. *Neurosci Lett* 2015,604:124-127.

19.Imbe H, Kimura A, Donishi T, Kaneoke Y. Chronic restraint stress decreases glial fibrillary acidic protein and glutamate transporter in the periaqueductal gray matter. *Neuroscience* 2012,223:209-218.

20.Yamada T, Zuo D, Yamamoto T, et al. NAAG peptidase inhibition in the periaqueductal gray and rostral ventromedial medulla reduces flinching in the formalin model of inflammation. *Molecular Pain*. 2012;8:67.

21.Lohr JB, Hellige JB, Cherry BJ, Lulow L, Kwok W, Caligiuri MP. Impaired hemispheric communication in schizophrenia: a study using the consonant-vowel-consonant task. *Schizophr Res* 2006,87:279-288.

22.Uchiyama M, Kasai H, Kurokawa S, Sakae Y, Kinno R. [Relationship between callosal lesions and cerebral microhemorrhage in Marchiafava-Bignami disease]. *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi* 2014,49:238-248.

23.Chen T, Li J, Feng B, Hui R, Dong YL, Huo FQ, et al. Mechanism Underlying the Analgesic Effect Exerted by Endomorphin-1 in the rat Ventrolateral Periaqueductal Gray. *Mol Neurobiol* 2015.

24.Voinoskos AN, Farzan F, Barr MS, Lobaugh NJ, Mulsant BH, Chen R, et al. The role of the corpus callosum in transcranial magnetic stimulation induced interhemispheric signal propagation. *Biol Psychiatry* 2010,68:825-831.

25.Heinisch S, Palma J, Kirby LG. Interactions between chemokine and mu-opioid receptors: Anatomical findings and electrophysiological studies in the rat periaqueductal grey. *Brain, behavior, and immunity* 2011,25:360-372.

26.Li G, Liu ZL, Zhang WN, Yang K. Blockade of presynaptic 4-aminopyridine-sensitive potassium channels increases initial neurotransmitter release probability,

reinstates synaptic transmission altered by GABAB receptor activation in rat midbrain periaqueductal gray. *Neuroreport* 2016,27:50-55.

27.Chen YC, Xia W, Feng Y, Li X, Zhang J, Feng X, et al. Altered interhemispheric functional coordination in chronic tinnitus patients. *Biomed Res Int* 2015:345-647.

28.Chou SH, Kao JH, Tao PL, Law PY, Loh HH. Naloxone can act as an analgesic agent without measurable chronic side effects in mice with a mutant mu-opioid receptor expressed in different sites of pain pathway. *Synapse* 2012,66:694-704.

29.Morgan MM, Reid RA, Stormann TM, Lautermilch NJ. Opioid selective antinociception following microinjection into the periaqueductal gray of the rat. *J Pain* 2014,15:1102-1109.

30.Sajedianfard J, Khatami S, Semnani S, Naghdi N, Jorjani M. In vivo measurement of noradrenaline in the locus coeruleus of rats during the formalin test: a microdialysis study. *Eur J Pharmacol* 2005,512:153-156

31.Pagano RL, Fonoff ET, Dale CS, Ballester G, Teixeira MJ, Britto LR. Motor cortex stimulation inhibits thalamic sensory neurons and enhances activity of PAG neurons: possible pathways for antinociception. *Pain* 2012,153:2359-2369.

32.Ni HD, Yao M, Huang B, Xu LS, Zheng Y, Chu YX, et al. Glial activation in the periaqueductal gray promotes descending facilitation of neuropathic pain through the p38 MAPK signaling pathway. *J Neurosci Res* 2016,94:50-61.

33.Narita M, Hashimoto K, Amano T, Narita M, Niikura K, Nakamura A, et al. Post-synaptic action of morphine on glutamatergic neuronal transmission related to the descending antinociceptive pathway in the rat thalamus. *J Neurochem* 2008,104:469-478.

34.Richardson J, Holdcroft A. Gender differences and pain medication. *Womens Health (Lond Engl)* 2009,5:79-90.

35. Tortorici V, Morgan MM, Vanegas H. Tolerance to repeated microinjection of morphine into the periaqueductal gray is associated with changes in the behavior of off- and on-cells in the rostral ventromedial medulla of rats. *Pain* 2001,89:237-244

36. David-Pereira A, Puga S, Goncalves S, Amorim D, Silva C, Pertovaara A, et al.

Metabotropic glutamate 5 receptor in the infralimbic cortex contributes to descending pain facilitation in healthy and arthritic animals. *Neuroscience* 2016,312:108-119.