



The role of left and right *Locus Coeruleus* in formalin test in rats

Javad Sajedianfard*, Zahra Nazarian

Dept. Physiology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 1 Jun 2011

Accepted: 23 Jan 2011

Abstract

Introduction: Pain as a complex process in the CNS has been extensively studied by many researchers. It has been found that pain is controlled by certain pathways in the CNS, one of most important of which is the descending noradrenergic system. The pathway begins with *Locus Coeruleus* (LC) nucleus and ends in the spinal cord. In this study, formalin test was used as a chemical and tonic pain test to determine the role of LC in modulating pain in this pathway.

Methods: 30 Sprague-Dawley rats with mean±SD weight of 280±30 g were divided into 6 groups (3 test and 3 control groups). In the test groups, 0.5 µL lidocaine was injected in the left LC (group 1), right LC (group 2) or both LC (group 3) to make local anesthesia. Half µL of normal saline was injected to controls (groups 4–6). After 15 min of injection, 50 µL of 2.5% of formalin was injected SQ to the left hind paw of rats and the level of nociception was recorded every 15 sec for one hour.

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

Conclusion: The left and right LC nuclei have significant role on unidirectional nociception in formalin test in rats. The ipsilateral LC, however, has a minor effect on nociception.

Key words: Pain, Formalin test, *Locus Coeruleus*, laterality, rat

* Corresponding author e-mail: sajedian@shirazu.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

بررسی نقش هسته چپ و راست لوکوس سروئوس در میزان احساس درد پس از ایجاد بی‌حسی در این هسته‌ها در موش صحرائی

جواد ساجدیان فرد*، زهرا نظریان

بخش فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز

پذیرش: ۱۱ خرداد ۹۰

دریافت: ۳ بهمن ۸۹

چکیده

مقدمه: درد به عنوان یکی از روندهای پیچیده در سیستم عصبی مرکزی همیشه مورد نظر محققین بوده است. در سیستم عصبی مرکزی مسیرهای متفاوتی برای کنترل درد وجود دارد. یکی از این مسیرها که امروزه مورد بحث و نظارت، سیستم نزولی نورآدرنژیکی می‌باشد. این سیستم از هسته لوکوس سروئوس (LC) شروع شده و به شاخ پشتی نخاع ختم می‌شود. در این تحقیق برای بررسی هسته LC از آزمون فرمالین به عنوان مدل درد شیمیایی تونیک استفاده شد.

روش‌ها: از ۳۰ موش صحرائی نر نژاد Sprague-Dawley (280 ± 30 گرم) در شش گروه (۳ گروه آزمایش و سه گروه کنترل) استفاده گردید. در گروههای آزمایش با استفاده از داروی بی‌حسی لیدوکائین به میزان ۰/۵ میکرولیتر در هسته چپ LC (گروه ۱)، در هسته راست LC (گروه ۲) و در دو هسته چپ و راست LC (گروه ۳) برای ایجاد بی‌حسی، تزریق گردید. در گروههای کنترل (گروههای ۴-۶)، میزان ۰/۵ میکرولیتر سرم فیزیولوژی به روش گروههای آزمایش تزریق شد. پس از پانزده دقیقه، ۵۰ میکرولیتر از فرمالین ۲/۵٪ به زیر پوست پای عقب حیوان تزریق و میزان درد در فواصل ۱۵ ثانیه‌ای برای مدت یک ساعت ثبت گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در صورت ایجاد درد در یک طرف بدن (پای راست) موش صحرائی، هسته LC علاوه بر contralateral در ipsilateral نیز به درد واکنش نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که هر دو هسته LC بطور معنی داری در درد ایجاد شده در یک طرف بدن در آزمون فرمالین در موش صحرائی نقش داشته، اما هسته ipsilateral اثر کمتری داشته است.

واژه‌های کلیدی: درد، لوکوس سروئوس، آزمون فرمالین، موش صحرائی

مقدمه

علامت‌های خطر دهنده در جهت حفظ بقا موجود عمل می‌کند [۵]. به منظور کنترل درد در بدن، سیستم‌های کنترل درد وجود دارد. یکی از این سیستم‌ها، سیستم کنترل کننده نزولی نورآدرنژیکی است که از هسته لوکوس سروئوس منشأ گرفته و مستقیماً به شاخ پشتی نخاع می‌رود و در آنجا با ترشح نورآدرنالین باعث تحریک گیرنده‌های α_2 آدرنژیک شده و با اثر بر مسیر صعودی انتقال درد باعث کاهش ارسال پیام درد خواهد شد [۱۰، ۲۰، ۲۱، ۲۲، ۳۱].

هسته لوکوس سروئوس به عنوان یکی از هسته‌های

درد به عنوان بخشی از زندگی است که شاید بدون آن ادامه حیات مقدور نباشد. حس درد باعث می‌شود که موجود زنده از صدمه بافتی آگاهی یابد و با اجتناب از عوامل محیطی مضر به حیات خود ادامه دهد. بنابراین درد به عنوان یک

sajedian@shirazu.ac.ir
www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:
وبگاه مجله:

بین دوهسته چپ و راست LC در میزان احساس درد را بررسی و نتیجه‌گیری کرد.

مواد و روش‌ها

سی سر موش صحرایی نر نژاد Sprague-Dawley با وزن 280 ± 30 گرم در ۶ گروه مورد آزمایش قرار گرفت. حیوانات در محل مناسب نگهداری و آب و غذا به صورت آزاد در اختیار داشته و دوره روشنایی ۱۲ ساعته (۷ تا ۱۹) و در درجه حرارت 22 ± 2 °C تنظیم گردید.

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

گروه چهار: در هسته LC سمت راست، گروه پنج: در هسته LC سمت چپ و گروه شش: در هسته‌های LC راست و چپ، کانول گذاری انجام شد و یک هفته بعد با تزریق لیدوکائین در هسته LC و انجام آزمون فرمالین گروه‌های آزمایش کامل گردید.

بی‌هوشی و کانول گذاری: پس از وزن کردن حیوان، با ترکیب دو داروی 10 mg/kg xylazine و 100 mg/kg ketamine و به صورت داخل صفاقی بی‌هوشی القا گردید. پس از اطمینان از بی‌هوشی کامل حیوان، آن را در دستگاه استرئوتاکسی قرار داده و بر اساس اطلس پاکسینوز با مختصات 10 mm A/P - از برگما و $6/8 \text{ mm}$ D/V - از سطح جمجمه و $1/3 \text{ mm}$ L/M \pm از خط میانی جمجمه به سمت چپ یا راست و یا هر دو طرف با استفاده از دریل دندانپزشکی سوراخی به قطر 2 mm ایجاد شد و پس از برداشتن غشاء Dura کانول گذاری انجام گردید.

برای کاشت کانول راهنما، از سر سوزن شماره ۲۲ استفاده شد. با توجه به میزان عمق هسته LC طول مورد نظر جدا گردید سپس با قرار دادن آن در دستگاه استریو تاکسی با سرعت آهسته (یک میلی متر در دقیقه) در بالای هسته قرار داده شد. پس از آن، دو عدد پیچ عینک در نزدیکی کانول در جمجمه محکم گردید و سپس با استفاده از سیمان دندانپزشکی

منتشره کنترلی در مغز شناخته شده و دارای بیشترین تعداد نورون‌ها نورآدرنژیکی در مغز می‌باشد. این هسته به تمامی قسمت‌های مختلف سیستم عصبی مرکزی از جمله قشر مغز، دستگاه لیمبیک، تالاموس، مخچه و نخاع عصب دهی می‌کند و به همین دلیل به عنوان یکی از هسته‌های منتشره شناخته شده که در اعمال فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی بسیاری همچون هوشیاری، دقت، چرخه خواب و بیداری، حافظه و یادگیری، شناخت، کنترل‌های اتونومیک، متابولیسم مغزی، درد، هیجان، تحمل به استرس، سندرم ترک، دپرسیون، فشار خون و تشنج دخالت دارد [۲، ۴، ۷، ۸، ۱۱، ۱۴، ۱۷، ۱۸، ۲۷]. با توجه به مطالعات گذشته دیده شده است که تخریب هسته لوکوس سرولئوس باعث افزایش درد حاصله از تزریق فرمالین می‌شود و به نظر می‌رسد که عملکرد هسته فوق در رابطه با کنترل درد تغییر می‌یابد [۲۴].

با توجه به استاندارد بودن آزمون فرمالین به عنوان درد تونیک در موش صحرایی، می‌توان تغییرات سیستم عصبی مرکزی در کنترل آن را مورد بررسی قرار داد. آزمون فرمالین یکی از روش‌های با ارزش می‌باشد که برای ارزیابی و مطالعه دردهای پایدار و مزمن در حیوانات، بطور وسیع به کار برده می‌شود [۹]. فرمالین تزریق شده بصورت زیرجلدی یک واکنش عصبی و رفتاری ۲ فازی تولید می‌کند. درد ایجاد می‌شود در فاز اول احتمالاً بازتاب فعالسازی و تحریک مستقیم گیرنده‌های محیطی درد در محل تزریق، در اثر وجود فرمالین می‌باشد. در حالیکه فاز دوم درد در اثر ترشحات ناشی از آسیب بافتی شدید و التهاب و همچنین حساس شدن سیستم عصبی ایجاد می‌شود [۱، ۱۵، ۱۶، ۲۵، ۲۹، ۳۵]. تاکنون مطالعاتی در زمینه غیرفعال کردن هسته لوکوس سرولئوس Locus Coeruleus (LC) با روش‌هایی مثل تخریب فیزیکی و سپس بررسی میزان احساس درد انجام گرفته ولی به ارتباط متقابل بین دو هسته سمت چپ و راست LC در میزان احساس درد توجه نگردیده است.

هدف از این مطالعه بررسی رابطه‌ی بین دو هسته چپ و راست لوکوس سرولئوس می‌باشد. بنابراین با انجام این مطالعه می‌توان میزان احساس درد پس از بی‌حس کردن هسته LC توسط داروی بی‌حس کننده‌ی موضعی بدنبال اعمال محرک دردزا (آزمون فرمالین) و همچنین وجود یا عدم وجود ارتباط

یافته ها

در محل خود ثابت و محکم گردیدند.

ایجاد بی‌حسی موضعی با لیدوکائین: یک هفته بعد از کانول گذاری 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) به میزان ۰/۵ml در هسته LC توسط سرنگ هاملتون یک میکرولیتری در مدت یک دقیقه، تزریق و بعد از ۱۵ دقیقه توسط تزریق ۵۰µl فرمالین ۲/۵٪ در زیر پوست کف پای راست درد ایجاد و رفتارها به مدت ۶۰ دقیقه ثبت شد.

آزمون فرمالین: برای ایجاد درد تونیک تجربی در حیوان از فرمالین ۲/۵٪ به میزان ۵۰ میکرولیتر در کف پای عقب و سمت راست حیوان با استفاده از سرنگ یک میلی لیتری و سرسوزن شماره ۲۷ به صورت زیر جلدی تزریق گردید. بعد از تزریق فرمالین حالات رفتاری حیوان را که نشان دهنده میزان درد در آن می‌باشد، هر ۱۵ ثانیه به مدت ۶۰ دقیقه ثبت شد. در صورتیکه رفتار خاصی را نشان ندهد و پای تزریق شده را به حالت عادی گرفته و در راه رفتن مشکلی نداشته باشد، شماره صفر ثبت می‌شود. اگر حیوان وزن خود را بر روی پای تزریق شده قرار ندهد و کمی آن را بالا بگیرد شماره ۱، در صورتی که پا راست را کاملاً بالا گرفته و آن را به بدن خود نزدیک نماید، شماره ۲ و در نهایت اگر شروع به لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریق شده کند، شماره ۳ اطلاق می‌شود [۹].

تایید بافتی محل کاشت کانولا: پس از آزمون فرمالین بر روی هر حیوان، با استفاده از داروی بیهوش کننده اتر آن را کشته و مغز به طور کامل و سالم از مجسمه خارج و در فرمالین نگهداری شد. پس از چند روز که بافت مغز ثابت شد، برش های بافتی از مغز تهیه گردید. برش هایی که نزدیک محل کانولا بود جدا و با میکروسکوپ لوپ مورد بررسی قرار گرفت. در صورتیکه محل اثر نوک کانولا در بالای هسته بود نتیجه‌ی آزمون فرمالین برای بررسی قرار می‌گرفت.

روش تحلیل داده ها و آزمون‌های آماری: میانگین اعداد هر ۵ دقیقه در مورد هر موش محاسبه شد و در نرم افزار SPSS مورد بررسی قرار گرفت. آزمون t-Student و آنالیز واریانس یکطرفه در مورد ارزیابی گروهها استفاده شد و میزان حداقل سطح معنی دار بین گروهها $p < 0.05$ تعیین گردید.

در مطالعه حاضر ۶ گروه شامل ۳ گروه آزمون و ۳ گروه کنترل وجود داشت. 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 معنی داری از نظر میزان درد دیده نشد (نمودار ۱). در هر سه گروه، درد در فاز اول آزمون فرمالین افزایش و سپس در بین دو فاز کاهش و در فاز دوم افزایش و ادامه یافت.

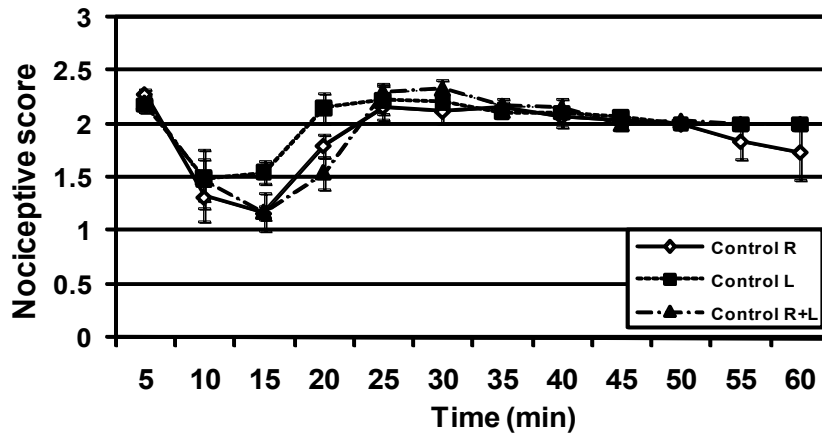
در گروه یک که هسته راست LC مورد جراحی و به عنوان کنترل هسته راست مورد آزمون فرمالین قرار گرفت، درد به میزان $2/28 \pm 0/05$ در فاز اول آغاز و به میزان $1/25 \pm 0/14$ بین فاز اول و دوم کاهش و با میزان $2/0 \pm 0/11$ در فاز دوم ادامه یافت.

در گروه دوم که هسته چپ LC مورد جراحی و به عنوان کنترل هسته چپ مورد آزمون فرمالین قرار گرفت درد با میزان $2/18 \pm 0/07$ در فاز اول آغاز و به میزان $1/51 \pm 0/19$ بین فاز اول و دوم کاهش و با میزان $2/10 \pm 0/60$ در فاز دوم ادامه یافت.

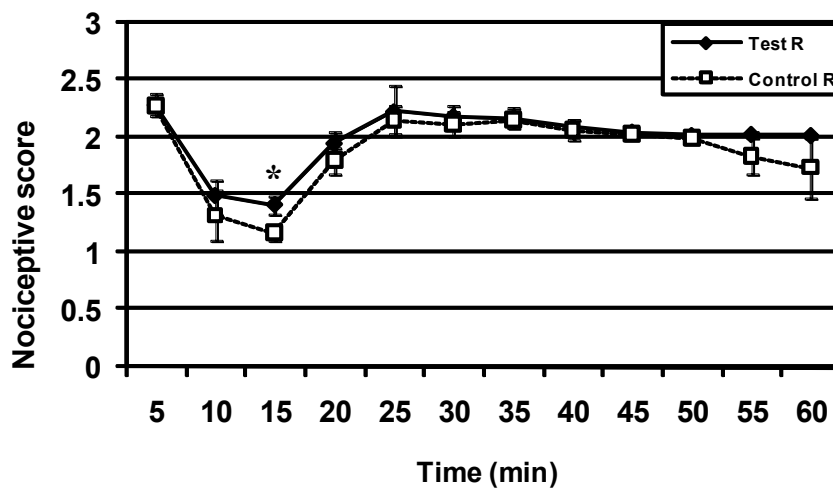
در گروه سوم که هر دو هسته LC چپ و راست مورد جراحی و به عنوان کنترل هسته چپ و راست مورد آزمون فرمالین قرار گرفت درد با میزان $2/2 \pm 0/08$ در فاز اول آغاز و به میزان $1/33 \pm 0/19$ بین فاز اول و دوم کاهش و با میزان $2/06 \pm 0/05$ در فاز اول ادامه یافت.

با مقایسه این سه گروه تغییر معنی داری مشاهده نشد. سپس هر کدام با گروه آزمون مربوط به خود مقایسه شدند.

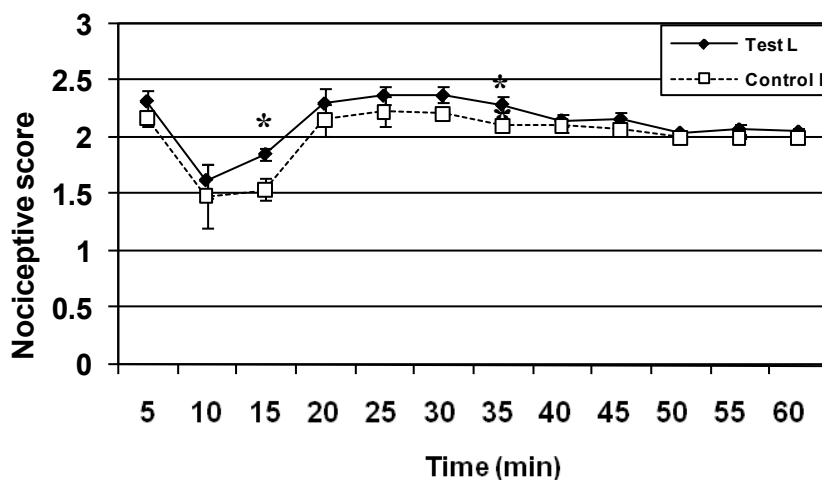
در گروه چهارم که هسته LC سمت راست مورد جراحی و با داروی لیدوکائین بی‌حسی انجام شد، درد به میزان $2/29 \pm 0/1$ در فاز اول آغاز و به میزان $1/45 \pm 0/12$ را بین فاز اول و دوم کاهش و با میزان $2/08 \pm 0/07$ در فاز دوم ادامه یافت. در مقایسه با گروه اول نمودار گروه چهارم در تمام طول آزمایش بالاتر از گروه کنترل قرار گرفت ولی تنها در پنج دقیقه سوم اختلاف معنی دار پیدا کرد (نمودار ۲). پنج دقیقه سوم گروه چهارم با میزان درد $1/41 \pm 0/08$ نسبت به زمان مشابه گروه اول با میزان درد $1/17 \pm 0/06$ اختلاف معنی دار پیدا کردند ($p = 0/045$).



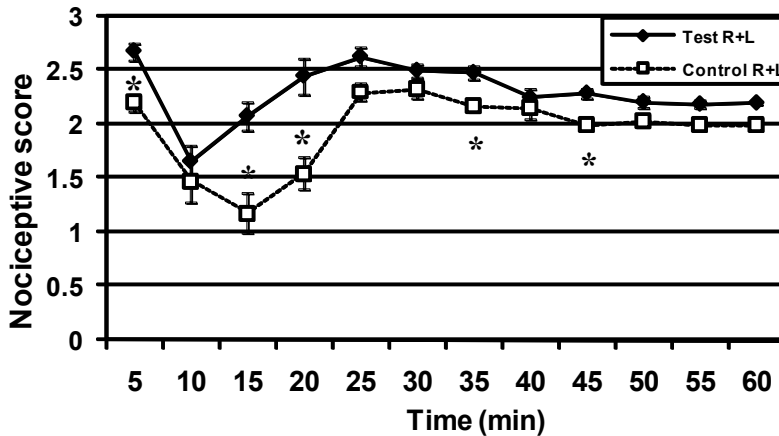
شکل ۱- مقایسه حساسیت به درد بین گروه اول، دوم و سوم (گروه کنترل راست و چپ و دو طرفه)، Control R = گروه کنترل: LC سمت راست کانول گذاری و سرم فیزیولوژی تزریق شده است. Control L = گروه کنترل: LC سمت چپ کانول گذاری و سرم فیزیولوژی تزریق شده است. Control R+L = گروه کنترل LC سمت راست و چپ.



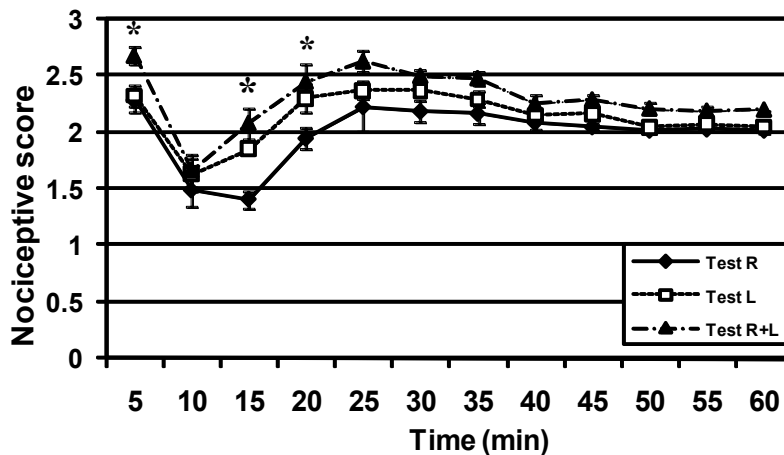
شکل ۲- مقایسه حساسیت به درد بین گروه یک و چهار (کنترل و آزمایش LC سمت راست)، * = اختلاف معنی دار در پنج دقیقه سوم ($p=0.045$), Test R = گروه آزمایش: LC سمت راست کانول گذاری و لیدوکائین تزریق شده است، Control R = گروه کنترل: LC سمت راست کانول گذاری و سرم فیزیولوژی تزریق شده است.



شکل ۳- مقایسه حساسیت به درد بین گروه دو و پنج (کنترل و آزمایش LC سمت چپ)، * = اختلاف معنی دار در پنج دقیقه سوم ($p=0.038$) و پنج دقیقه هفتم ($p=0.021$), Control L = گروه کنترل LC سمت چپ کانول گذاری و سرم فیزیولوژی تزریق شده است، Test L = گروه آزمایش LC سمت چپ کانول گذاری و لیدوکائین تزریق شده است.



شکل ۴- مقایسه حساسیت به درد بین گروه سه و شش (کنترل و آزمایش LC دو طرفه)، * = اختلاف معنی دار در پنج دقیقه اول ($p=0/041$)، پنج دقیقه سوم ($p=0/042$)، پنج دقیقه چهارم ($p=0/038$)، پنج دقیقه هفتم ($p=0/045$) و پنج دقیقه نهم ($p=0/034$) = Control R+L = گروه کنترل LC راست و چپ کانول گذاری و سرم فیزیولوژی تزریق شده است، = Test R+L = گروه آزمایش LC راست و چپ کانول گذاری و لیدوکائین تزریق شده است.

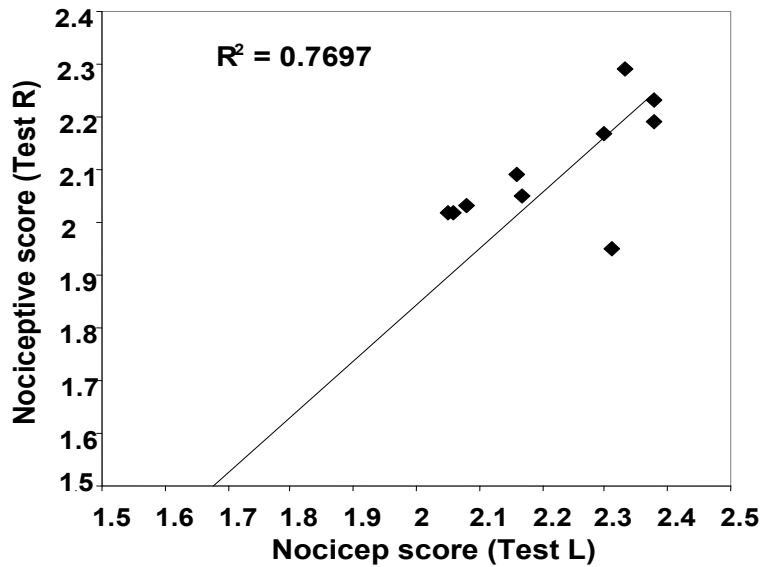


شکل ۵- مقایسه حساسیت به درد بین گروه چهار، پنج و شش (گروه آزمایش LC سمت راست، چپ و دو طرفه)، * = اختلاف معنی دار بین گروه آزمایش LC دو طرفه با راست و چپ در پنج دقیقه اول ($p<0/05$) و LC سمت راست با چپ و دو طرفه در پنج دقیقه سوم ($p<0/05$) و پنج دقیقه چهارم ($p<0/05$) = Test R = گروه آزمایش LC سمت راست کانول گذاری و لیدوکائین تزریق شده است، = Test L = گروه آزمایش LC سمت چپ کانول گذاری و لیدوکائین تزریق شده است، = Test R+L = گروه آزمایش LC راست و چپ کانول گذاری و لیدوکائین تزریق شده است.

در گروه پنجم که هسته LC سمت چپ مورد جراحی و با بی‌حسی موضعی لیدوکائین، بی‌حسی انجام شد، درد به میزان $2/33 \pm 0/09$ در فاز اول آغاز و با $1/75 \pm 0/11$ بین فاز اول و دوم کاهش و با $2/21 \pm 0/06$ در فاز دوم ادامه یافت. در مقایسه با گروه دوم (کنترل هسته LC چپ)، نمودار گروه پنجم در تمام طول آزمایش بالاتر از گروه کنترل قرار گرفت و تنها اختلافات معنی دار در پنج دقیقه سوم و هفتم مشاهده شد (نمودار ۳). گروه پنجم در پنج دقیقه سوم با میزان درد $1/86 \pm 0/06$ را با گروه دوم در زمان مشابه با میزان درد $1/55 \pm 0/1$ اختلاف معنی دار پیدا کردند ($p=0/038$). همچنین در پنج دقیقه هفتم گروه پنجم با میزان درد $2/3 \pm 0/07$ و گروه دوم با میزان درد $2/11 \pm 0/06$ اختلاف معنی دار نشان دادند ($p=0/021$).

در گروه ششم که هر دو هسته راست و چپ مورد جراحی و با داروی لیدوکائین بی‌حسی انجام شد، درد با نمره بیشتری نسبت به گروه قبل آغاز و ادامه یافت. در این گروه درد با میزان $2/68 \pm 0/08$ در فاز اول آغاز و به $1/87 \pm 0/14$ بین فاز اول و دوم کاهش و به میزان $2/36 \pm 0/06$ در فاز دوم ادامه یافت.

در گروه پنجم که هسته LC سمت چپ مورد جراحی و با بی‌حسی موضعی لیدوکائین، بی‌حسی انجام شد، درد به میزان $2/33 \pm 0/09$ در فاز اول آغاز و با $1/75 \pm 0/11$ بین فاز اول و دوم کاهش و با $2/21 \pm 0/06$ در فاز دوم ادامه یافت. در مقایسه با گروه دوم (کنترل هسته LC چپ)، نمودار گروه پنجم در تمام طول آزمایش بالاتر از گروه کنترل قرار گرفت و تنها اختلافات معنی دار در پنج دقیقه سوم و هفتم مشاهده شد (نمودار ۳). گروه پنجم در پنج دقیقه سوم با میزان درد $1/86 \pm 0/06$ را با گروه دوم در زمان مشابه با میزان درد $1/55 \pm 0/1$ اختلاف معنی دار پیدا کردند ($p=0/038$). همچنین در پنج دقیقه هفتم گروه پنجم با میزان درد $2/3 \pm 0/07$ و گروه دوم با میزان درد $2/11 \pm 0/06$ اختلاف معنی دار نشان دادند ($p=0/021$).



شکل ۶- میزان Coefficient of Determination بین دوهسته چپ و راست LC، Test R = گروه آزمایش LC سمت راست کانول گذاری و لیدوکائین تزریق شده است، Test L = گروه آزمایش LC سمت چپ کانول گذاری و لیدوکائین تزریق شده است.

(بی‌حسی راست) نشان داد. در این مرحله، گروه ششم با میزان درد $2/68 \pm 0/08$ گروه پنجم با میزان درد $2/33 \pm 0/09$ و گروه چهارم با میزان درد $2/29 \pm 0/1$ بود. ($p < 0/05$). البته گروه چهارم و پنجم هم اختلاف داشته ولی معنی دار نبود. در پنج دقیقه سوم و چهارم، گروه سمت راست با چپ و دو طرفه کاهش معنی داری نشان دادند. در پنج دقیقه سوم گروه چهارم با میزان درد $1/41 \pm 0/08$ ، گروه پنجم با میزان درد $0/06 \pm 0/06$ و گروه ششم با میزان درد $2/08 \pm 0/13$ اختلاف معنی دار نشان دادند ($p < 0/05$). در پنج دقیقه چهارم، گروه چهارم با میزان درد $1/96 \pm 0/1$ ، گروه پنجم با میزان درد $0/12 \pm 0/12$ و گروه ششم با میزان درد $2/45 \pm 0/16$ اختلاف معنی دار نشان دادند ($p < 0/05$).

در نمودار شماره ۶ میزان Coefficient of Determination بین دوهسته‌ی چپ و راست LC و رابطه‌ی بین دو هسته نشان داده شد. این نمودار نشان می‌دهد که هسته ipsilateral LC می‌تواند تا میزان ۷۰٪ هسته LC contralateral بر کنترل درد اثر گذارد.

بحث

در این مطالعه با بی‌حس کردن هسته LC در طرف راست، چپ و دو طرفه و ایجاد درد با تزریق فرمالین به صورت یک

در مقایسه با گروه سوم (کنترل)، نمودار گروه ششم در تمام طول آزمایش بالاتر از گروه کنترل قرار گرفت و اختلاف معنی دار در این گروه بیشتر از سایرین بود (نمودار ۴). در گروه ششم در پنج دقیقه اول با میزان درد $2/68 \pm 0/08$ با گروه سوم در پنج دقیقه اول با میزان درد $2/2 \pm 0/08$ اختلاف معنی دار نشان داد ($p = 0/041$). در پنج دقیقه سوم، گروه ششم با میزان درد $2/08 \pm 0/13$ با گروه سوم با میزان درد $0/18 \pm 0/18$ اختلاف معنی دار نشان دادند ($p = 0/042$). در پنج دقیقه چهارم، در گروه ششم با میزان درد $2/45 \pm 0/16$ و در گروه سوم با میزان درد $1/55 \pm 0/15$ را اختلاف معنی دار نشان دادند ($p = 0/038$). در پنج دقیقه هفتم، گروه ششم با میزان درد $2/48 \pm 0/06$ و گروه سوم با میزان درد $2/17 \pm 0/04$ هم اختلاف معنی دار ایجاد شد ($p = 0/045$). آخرین اختلاف معنی دار هم مربوط به پنج دقیقه نهم بود که گروه ششم با میزان درد $2/29 \pm 0/04$ و گروه سوم با میزان درد $2/00 \pm 0$ نشان دادند ($p = 0/034$).

در مقایسه‌ای که بین گروه‌های آزمایش (گروه‌های ۴، ۵ و ۶) انجام شد. میزان درد در گروه ششم (بی‌حسی دو طرفه) بالاتر از گروه چهارم (هسته سمت راست) و پنجم (هسته سمت چپ) و گروه پنجم بالاتر از گروه چهارم قرار گرفت (نمودار ۵). در پنج دقیقه اول، اختلاف معنی داری بین گروه ششم (بی‌حسی دو طرفه) با گروه پنجم (بی‌حسی چپ) و گروه چهارم

کردند [۲۳].

در مطالعه‌ی حاضر از شش گروه موش صحرایی استفاده شد. در مقایسه بین گروه‌های اول، دوم و سوم که گروه‌های کنترل هستند تغییرات معنی داری دیده نشد (نمودار ۱). در هر سه گروه مطابق انتظار درد در فاز اول آزمون فرمالین افزایش و سپس در بین دو فاز اول و دوم کاهش و در فاز دوم افزایش به صورت ادامه دار دنبال شد. با مقایسه سه گروه تغییر معنی دار مشاهده نشد. سپس هر کدام با گروه آزمون مربوط به خود مقایسه گردید. در مقایسه‌ای که بین گروه چهارم که هسته‌ی راست مورد کانول گذاری و آزمون قرار گرفته، با گروه اول (کنترل سمت راست) انجام شد. نمودار گروه چهارم در تمام طول آزمایش (تمام پنج دقیقه‌ها) بالاتر از گروه کنترل خود قرار گرفت که نشان دهنده این بود که هسته سمت راست با لیدوکائین بی حس و داروی بی‌حسی موضعی موثر واقع شده است (نمودار ۲). اختلاف معنی داری که در پنج دقیقه سوم ایجاد شد، نشان دهنده‌ی این بود که نسبت به موقعی که هسته سمت راست فعال و کاهش درد را انجام می‌دهد درد در گروه آزمون بطور معنی‌داری بیشتر بوده است. بنابراین می‌توان با مقایسه این دو گروه به این نتیجه رسید که هسته‌ی LC ipsilateral بر کنترل درد اثر گذاشته و با غیر فعال شدن این هفته میزان درد بیشتر است.

در مقایسه‌ای که بین گروه دوم و گروه پنجم انجام گرفت، نمودار گروه پنجم در تمام طول آزمایش بالاتر از گروه کنترل قرار گرفت که نشان دهنده‌ی این بود که بی‌حسی لیدوکائین روی هسته‌ی مورد نظر موثر واقع شده است. دو اختلاف معنی دار هم در پنج دقیقه سوم و هفتم مشاهده شد (نمودار ۳). بنابراین هسته سمت چپ که به صورت Contralateral عمل کرده و مسئولیت کنترل درد در سمت راست را بر عهده دارد بی‌حس بوده و کار خود را انجام نداده است. بنابراین درد بیشتر، و در دو محل ذکر شده هم اختلاف معنی دار را نشان دادند.

در مقایسه‌ای که بین گروه سوم و گروه ششم انجام گرفت، نمودار گروه ششم در تمام طول آزمایش بالاتر از گروه کنترل بود که نشان دهنده‌ی این است که لیدوکائین موثر واقع شده است و به دلیل بی‌حسی هر دو هسته هیچ کدام از هسته‌ها پاسخی برای کاهش درد نشان ندادند و تعداد اختلافات معنی دار هم بیشتر بود که این را به مشارکت هسته LC سمت

طرفه در زیر پوست کف پای راست تاثیر این هسته بر هم بررسی گردید. تاکنون مطالعاتی در زمینه غیرفعال کردن هسته LC با تخریب فیزیکی و سپس بررسی میزان احساس درد انجام گرفته ولی در هیچکدام از داروهای بی‌حس کننده موضعی برای بی‌حس کردن این هسته استفاده نشده است. و همچنین به ارتباط متقابل بین دو هسته سمت چپ و راست LC در میزان احساس درد توجه نگردیده است.

سیستم عصبی مرکزی شامل مغز و نخاع است. مغز شامل دو نیمکره است. هسته‌های عصبی در نیمکره‌های مغز در بسیاری از اعمال حسی و حرکتی به صورت Contralateral عمل می‌کنند. نیمکره چپ بر روی Right laterality و نیمکره راست بر روی Left laterality اثر دارند. دو نیمکره توسط رابط مغزی که ۲۰۰ تا ۵۲۰ میلیون رشته عصبی دارد به هم وصل می‌شوند.

ویسمن و همکاران (۲۰۰۰) تصویر اولترا سوند از مغز انسان را نشان دادند. در این مطالعه که با تزریق دو دوز optison در نیمکره‌ها انجام شد، تصویر هماهنگ خاکستری رنگی که ارتباط قوی در پارانشیم مغز را نشان می‌داد ایجاد شد [۳۲].

هسته لوکوس سرولئوس به عنوان یکی از هسته‌های منتشره سیستم عصبی مرکزی با ترشح نورآدرنالین در اعمال مختلفی از جمله درد دخالت دارد. این هسته در سیستم نزولی کنترل درد با اثر بر شاخ پستی نخاع و ترشح نورآدرنالین باعث کاهش احساس درد می‌شود. این هسته به قسمت‌های زیادی از CNS عصب دهی می‌کند و بیشترین اتصالات را در مغز ایجاد می‌نماید [۲، ۴، ۵، ۷، ۸]. بنابراین با توجه به ورودی‌ها و خروجی‌های متعدد هسته‌ی LC، این هسته در اعمال فیزیولوژیک مختلفی شرکت دارد که مهم‌ترین آن استرس، درد و سندرم ترک اعتیاد می‌باشد. پاسخ هسته‌ی LC به این اعمال در حالت هوشیاری به اثبات رسیده است [۲۸].

سمانیان و همکاران (۱۹۹۴) نشان دادند که تخریب هسته‌ی LC در موش صحرایی هوشیار باعث افزایش رفتار درد حاصله از تزریق فرمالین می‌شود [۲۴]. ساجدیان فرد و همکاران (۲۰۰۵) افزایش کارکرد هسته‌ی LC و در نتیجه بالا رفتن ترشح نورآدرنالین در آن، در اثر استرس ناشی از ورود سرسوزن تزریق سرم فیزیولوژی و همچنین تزریق فرمالین در فاز اول آزمون فرمالین در موش صحرایی هوشیار را مشاهده

(contralateral) می رود [۶]. و یازوووسکی و همکاران (۲۰۰۸) با گرفتن الکتروانسفالوگرافی نشان دادند که asymmetry در مغز وجود دارد. همچنین اثبات کردند که در حالت خواب، در مورد دست راست‌ها سمت چپ و در مورد چپ دست‌ها سمت راست بیشتر فعال است [۳۰].

سیمپسون و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند در قشر مغز، خروجی‌های LC بیشتر یک طرفه و به همان طرفی که فعالیت هسته است انجام می‌گیرد، ولی در هسته‌های عصبی پایین‌تر از مغز مثل عصب trigeminal خروجی‌های LC از هر دو LC به عصب وارد می‌شود. بنابراین هسته LC از نظر عصب دهی به هسته‌های مختلف عصبی در مغز و قسمت‌های پایین‌تر به صورت انتخابی عمل می‌نماید. هسته‌های عصبی از جمله لوکوس سرولئوس در سیستم عصبی مرکزی به صورت زوج در دو نیمکره مغزی قرار دارند. در صورت وجود ارتباط بین این هسته‌ها حالت laterality در درد می‌تواند تحت تأثیر قرار گیرد [۲۶].

مشخص کردن رابطه بین این دو هسته و اثر ipsilateral هسته‌ها می‌تواند به شناخت بیشتر درد و مکانیسم‌های آن منجر شود که می‌تواند روش‌های بیشتری را در مهار آن پیشنهاد نمود. کنترل درد یکی از مشکلات که همواره مورد توجه بشر است. همچنین با توجه به اینکه هسته لوکوس سرولئوس در اعمال فیزیولوژیکی مختلفی شرکت می‌کند. شناخت بیشتری آن به کنترل و مهار این اعمال کمک می‌کند. نتایج نشان داد که با بی‌حسی هر دو دسته میزان درد در موش‌های صحرایی افزایش معنی‌داری نسبت به بی‌حسی هسته چپ به تنهایی و بی‌حسی هسته سمت چپ نیز افزایش معنی‌داری نسبت به بی‌حسی سمت راست نشان داد. بیشترین اختلاف در پنج دقیقه سوم آزمون فرمالین در مرحله کاهش درد بین دو فاز اول و دوم دیده شد. در گروه‌های کنترل هم تفاوتی نسبت به هم دیده نشد. البته این نکته هم حایز اهمیت است که افزایش تعداد حیوانات هر گروه شاید بتواند نتایج دقیق‌تر و قابل قبول‌تری را ایجاد نماید.

این نتایج نشان داد که در صورت ایجاد درد در یک طرف بدن، هسته LC در همان طرف نیز به درد واکنش نشان می‌دهد. اطلاعات حسی درد یک طرفه به هر دو هسته وارد می‌شود ولی هسته ipsilateral LC اطلاعات کمتری را گرفته

راست نسبت داد که به صورت ipsilateral عمل کرده است (نمودار ۴).

در مقایسه‌ای که بین گروه‌های آزمایش انجام گرفت میزان درد در گروه ششم بالاتر از گروه چهارم و گروه پنجم بالاتر از گروه چهارم قرار گرفت (نمودار ۵). بالاتر قرارگرفتن میزان درد در نمودار گروه ششم نشان دهنده‌ی این است که هسته‌ی LC سمت راست در کنترل درد مشارکت داشته و پس از بی‌حسی شدن نتوانسته است در کنترل درد دخالت نماید و در نتیجه گروه ششم میزان درد و اختلافات معنی‌دار بیشتری هم داشته است. بالاتر بودن گروه پنجم نسبت به گروه چهارم نیز مربوط به عدم مشارکت از Contralateral هسته‌ی سمت چپ در گروه پنجم می‌باشد که باعث بیشتر شدن میزان درد در این گروه شده است. با مقایسه بین دو هسته چپ و راست و میزان Coefficient of Determination (CD) بین دو هسته چپ و راست و همچنین میزان شیب خط رابطه‌ی بین دو هسته نشان داده شد (نمودار ۶). این نمودار نشان می‌دهد که هسته ipsilateral LC می‌تواند تا میزان ۷۰٪ هسته contralateral LC بر کنترل درد اثر گذارد.

گروپ و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند، در کارهایی که توسط دو دست انجام می‌شود، برای هماهنگ کردن کار آن‌ها به ارتباط و هماهنگ بودن مناطق حرکتی بین دو نیمکره نیاز است. در ابتدای فاز فرمان برای شروع کار جدید با دو دست ارتباط بین دو نیمکره اهمیت خاصی دارد [۱۲].

هلیچ و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که Carpus callosum نقش اصلی و مهم را در واکنش بین دو نیمکره دارد [۱۳]. بانچ و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که ارتباط بین دو نیمکره از راه callosum انجام می‌شود که به عنوان تنظیم‌کننده برنامه‌ها در دو نیمکره تبادل می‌شود و هر نیمکره ظرفیت‌های خاص خود را داشته و میزان تبادلات را تنظیم می‌کند [۳]. یون و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که فعال سازی مسیر Callosal وابسته به ارتباط متقابل یا همزمان بین دو تا نیمکره است [۳۴].

لیوتین و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که هسته‌های مغزی در دو نیمکره مثل هم عمل نمی‌نمایند و از نظر عملکردی با هم اختلاف دارند [۱۹]. بریدن و همکاران (۱۹۹۴) نشان دادند که اطلاعات حسی ورودی به مغز بیشتر به هسته طرف مقابل

سپاسگزاری

بدینوسیله از شورای پژوهشی دانشگاه شیراز به خاطر تامین اعتبار این طرح تحقیقاتی تشکر و قدردانی می‌شود.

و پاسخ کمتری را نیز می‌دهد. به نظر می‌رسد که فیبرهای حسی درد پس از ورود به سیستم عصبی مرکزی اطلاعات خود را علاوه بر سمت contralateral به سمت ipsilateral نیز ارسال نموده و بدینوسیله هسته مزبور نیز برای کاهش درد پیام کاهنده درد به صورت نزولی به شاخ پشتی نخاع ارسال می‌دارد.

References

- locus coeruleus axons in the superficial layers of the dorsal horn. *J Comp Neurol* 291 (1990) 533-582.
- [1] Abbot FV, Franklin KB, Westbrook RF, The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rat. *Pain* 60 (1995) 91-102.
- [2] Aston-Jones G, Chiang C, Alexinsky T, Discharge of noradrenergic locus coeruleus neurons in behaving rats and monkeys suggests a role in vigilance. *Prog Brain Res* 88 (1991) 501-520.
- [3] Banich MT, The missing link: the role of interhemispheric interaction in attentional processing. *Brain cogn* 36 (1998) 128-57.
- [4] Bear M, Connors B, Paradios M, The diffuse modulatory system of the brain In: **Neuroscience exploring the brain**. 1st ed. Pennsylvania: Wiliams and Wilkins Press 1996, p. 418-421.
- [5] Bingel U, Tracey I, Imaging CNS modulation of pain in humans. *Physiology (Bethesda)* 23 (2008) 371-80.
- [6] Bryden MP, Bulman-Fleming MB, Laterality effects in normal subjects: evidence for inter hemispheric interactions. *Behav Brain Res* 64 (1994) 119-29.
- [7] Burn P, Suaud-Chagny MF, Lachuer J, Gonon F, Buda M, Catecholamine metabolism in locus coeruleus neurons: A study of its activation by sciatic nerve stimulation in the rat. *Eur J Neurosci* 3 (1991) 397-406.
- [8] de Carvalho D, Bicego KC, de Castro OW, da Silva GS, Garcia-Cairasco N, Gargaglioni LH, Role of neurokinin-1 expressing neurons in the locus coeruleus on ventilatory and cardiovascular responses to hypercapnia. *Respir Physiol Neurobiol* 172 (2010) 24-31.
- [9] Dubbuisson 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* 4 (1977) 161-174.
- [10] Fritchey JM, Grazanna R, Demonstration of two separated descending noradrenergic pathways to the rat spinal cord: evidence for an intragiseal trajectory of
- [11] Gaalen MV, KavaHara H, KavaHara Y, Westerink BH, The locus coeruleus noradrenergic system in the rat brain studied by dual-probe microdialysis. *Brain Res* 763 (1997) 56-62.
- [12] Gerloff C, Andres FG, Bimanual coordination and interhemispheric interaction. *Acta Psychol* 110 (2002) 161-186.
- [13] Hellige JB, Taylor KB, Lesmes L, Peterson S, Relationships between brain morphology and behavioral measures of hemispheric asymmetry and interhemispheric interaction. *Brain cogn* 36 (1998) 158-192.
- [14] Holets VR, Hokfeli T, Rokaeus A, Terenius L, Goldstein M, Locus coeruleus neuron in the rat containing neuropeptide Y, tyrosine hydroxylase or galanin and their afferent projections to the spinal cord, cerebral cortex and hypothalamus. *Neuroscience* 24 (1988) 893-906.
- [15] Hong Y, Abbot FV, Peripheral opioid modulation of pain and inflammation in the formalin test. *Eur J Pharmacol* 277 (1995) 21-28.
- [16] Kim SJ, Thomas KS, Calejstan AA, Zhuo M, Macromolecular synthesis contributes to nociceptive response to subcutaneous formalin injection in mice. *Neuropharmacol* 37 (1998) 1091-1093.
- [17] Koob GF, Corticotropin-releasing factor, norepinephrine and stress. *Biol Psychiatry* 46 (1999) 1167-1180.
- [18] Lariviere WR, Melzack R, The role of corticotropin-releasing factor in pain and analgesia. *Pain* 84 (2000) 1-12.
- [19] Leutin VP, Adaptive dominance and functional asymmetry of brain. *Vestn Ross Akod Med Nark.* 10 (1998) 10-4.
- [20] Millan MJ, Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 66 (2002) 355-474.

- [21] Pudovkina OL, Westerink BH, Functional role of alpha 1-adrenoceptors in the locus coeruleus: A microdialysis study. *Brain Res* 1061 (2005) 50-56.
- [22] Sagen J, Proudfi HK, Effect of intrathecally administered noradrenergic antagonists on nociception in the rat. *Brain Res* 310 (1984) 295-301.
- [23] Sajedianfard J, Khatami S, Semnanian S, Naghid N, Jourjani M, In vivo measurement of noradrenaline in the locus coeruleus of rats during the formalin test: a microdialysis study. *Eur J Pharmacol* 512 (2005) 153-156.
- [24] Semnanina S, Dashti M, The effect of locus coeruleus lesion on tonic and phasic pain. *Med J IRI* 8 (1994) 31-34.
- [25] Shipton EA, Pain: Acute and chronic. 2nd ed. New York: Oxford University Press, 1999, p.1-36.
- [26] Simpson KL, Altman DW, Wang L, Kirifides ML, Lin RC, Waterhous BO, Lateralization and functional organization of the locus coeruleus projection to the trigeminal somatosensory pathway in rat. *J comp Neurol* 385 (1997) 135-47.
- [27] Singewald N, Kaehler ST, Philioppu N, Noradrenaline release in the locus coeruleus of conscious rats is triggered by drugs, stress and blood pressure changes. *Neuroreport* 10 (1999) 1583-1587.
- [28] Singewald N, Philioppu A, Release of neurotransmitters in the locus coeruleus. *Prog Neurobiol* 56 (1998) 237-267.
- [29] Tjolsen A, Berge OG, Hunshaar S, Rosland JH, Hole K, The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 51 (1992) 5-17.
- [30] Vyazovskiy VV, Tobler I, Handedness leads to interhemispheric EEG asymmetry during sleep in the rat. *J Neurophysiol* 99 (2008) 969-75.
- [31] Wang Y, Feng C, Wu Z, Wu A, Yue Y, Activity of the descending noradrenergic pathway after surgery in rats. *Acta Anaesthesiol Scand.* 52 (2008) 1336-41.
- [32] Wiesmann M, seidel G, ultrasound perfusion imaging of the human brain. *Stroke* 30 (2000) 2421-5.
- [33] Willis WD, Westlund KN, Neuroanatomy of the pain system and of the pathways that modulate pain. *J Clin Neurophysiol* 14 (1997) 2-31.
- [34] Yinon U, Podell M, The differentiated visual cortex and interhemispheric relationships: a physiological approach *Metab pediatr syst ophthalmol.* 11 (1998) 100-10.
- [35] Yukhananov R, Guan J, Crosby G, Antisense oligonucleotides to N-methyl-D-aspartate receptor subunits attenuate formalin-induced nociception in the rat. *Brain Res* 930 (2002) 163-169.