اثر تخریب الکتریکی یک طرفه زیر بخش های پشتی و جانبی هسته پاراجیگانتوسلولاریس تنه مغزی بر شدت درد موش صحرایی

دکتر علیرضا سرکاکی* سید منصور علویان**

The effects of unilateral electrolytic lesion of dorsal and lateral subdivisions of paragigantocellularis nucleus on pain score in rats

A.Sarkaki SM.Alavian

Abstract

Background: The paragigantocellularis nucleus (PGI) is a part of medullarypontine reticular formation which plays an important role in pain processing. Some investigations have shown that activation of PGI neurons causes inhibition of pain inputs received in the central nervous system.

Objective: To determine the effects of unilateral electrolytic lesion of dorsal and lateral PGI nucleus on acute and chronic pain induced by formalin in rats.

Methods: 30 NMRI male rats (200-250gr) in five groups (control, DPGI lesioned, LPGI lesioned and two sham lesioned groups) were used. Being anesthetized with ketamine hydrochloride (110mg/kg/ip), DPGI and LPGI subdivisions of rats' brain were lesioned electrolyticaly under stereotaxic operation. Following the recovery of incision the rats' acute and chronic pain score were evaluated by formalin test (50 μ l, 2.5%).

Findings: Results showed that the lesion of dorsal-PGI affected neither acute nor chronic pain induced by formalin. Lesion of lateral-PGI did not affect acute pain, but increased chronic pain score significantly ($P<0.02$).

Conclusion: It seems that dorsal-PGI neurons have no noticeable effect on pain score.

Keywords: Paragigantocellularis Nucleus, Electrolytic lesion, Formalin Test, Pain, Rat

چکیده

زمینه : هسته پاراجیگانتوسلولاریس (PGI) از تشکیلات مشبک بصل النخاعی ـ پلی است که نقش مهمی در پردازش درد دارد. برخی تحقیقات نشان داده اند که فعال شدن نورون های PGI موجب مهار شدن پیام های حس درد در سیستم عصبی مرکزی (CNS) می شود.

هدف : این تحقیق به منظور تعیین اثرات تخریب الکتریکی یک طرفه زیر بخش های پشتی و جانبی هسته PGI نیمه چپ تنه مغزی بر درد حاد و مزمن ناشی از تزریق فرمالین در پای راست موش های صحرایی انجام شد.

مواد و روش ها : تعداد ۳۰ راس موش صحرایی نر بالغ NMRI با محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم در پنج گروه شاهد ، ضایعه DPGI، ضایعه LPGI و دو گروه شاهد ضایعه استفاده شدند. بعد از بی هوشی با تزریق داخل صفاقی ۱۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم کتامین هیدرو کلراید، زیر بخش های هسته ای DPGI و LPGI مغز با استفاده از جراحی استریوتاکسیک به طور الکتریکی تخریب شد. متعاقب بهبود محل جراحی، شدت درد حاد و مزمن موش ها با روش آزمون فرمالین (۵۰ میکرولیتر، ۲/۵ درصد) مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها : تخریب PGI پشتی هیچ یک از مراحل درد حاد و مزمن ناشی از تزریق فرمالین را تحت تأثیر قرار نداد. تخریب PGI جانبی بر درد حاد تأثیر نداشت، ولی شدت درد مزمن را به طور معنی داری افزایش داد ($P<۰/۰۲$).

نتیجه گیری : با توجه به یافته ها به نظر می رسد نورون های بخش پشتی PGI در شدت درد خیلی موٴثر نیستند.

کلید واژه ها : هسته پاراجیگانتوسلولاریس ، تخریب الکتریکی ، آزمون فرمالین ، درد ، موش صحرایی

* استادیار گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اهواز

** مربی و عضو هیات علمی گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اهواز

⊥ مقدمه :

نـورون‌هـای هسـتهٔ پاراجیگانتوسـلولاریس (PGI) از تشـکیلات مشـبک بصـل النخاعـی- پلـی هستند که در قسـمت جلویی-شکمی آن قرار دارند و در برخی از اعمال حیاتـی مانـند تنظـیم فعالیـت قلـب و عروق، تنفس، درد، بـیداری و هوشـیاری مـوٴثـرند.[۱و۴ و۵ و۸و۱۱و۱۴و۱۶و۱۸] نـورون‌هـای هسـته PGI بـه عـنوان بخشـی از سیسـتم پاییـن رونـده کنـترل درد معرفی شده اند و انشعاب های عصـبی مسـتقیم به نخاع می‌فرستند. این نورون‌ها ممکن است انتقال اطلاعات مربوط به درد را در سطح نخاع مهار نمایـند. [۷] متعاقب تخریب دوطرفهٔ هستهٔ PGI ، پاسخ به محـرک‌هـای حرارتـی دردنـاک در لایه‌های نورونی شاخ خلفـی نخـاع کـه محل ختم آوران‌های اولیهٔ درد هستند، تشدید می‌شود. در مقابل، با فعال شدن نورون های PGI پاسـخ بـه تحـریک گـیرنده‌هـای درد از بیـن می‌رود. [۱۳] آوران‌هـای اصـلی شـناخته شـده بـه هستهٔ PGI به طور عمـده از سـاقهٔ مغـزی (هسـته‌هـای پلـی، بصل‌النخاعی، دهلیزی، راه منزوی و لمنیسکوسی)، هیپوتالاموس طرفی و نخـاع منشـاء مـی‌گـیرند، ولـی از دیانسفال و تلانسفال هـم‌آوران دریافت می‌نمایند. فیبرهای وابران از این هسته بـه هسته‌های رافه مگنوس (NRM)، لوکوس سرولئوس (LC) و مادهٔ خاکستری دور قناتی (PAG) می‌روند. سایر مطالعه ها نیز دخالت هستهٔ PGI در کنترل مهاری نزولی بـر روی نـورون های مسوٴول درد در شاخ خلفی نخاع را نشـان داده‌انـد. [۴] نـورون هـای هسـتهٔ PGI حاوی گابا، نوروپپتـیدها، مونوآمیـن ها، ماده P، انکفالین و سروتونین هسـتند. همچنیـن PGI یـک منـبع قوی کولینرژیکی در ساقه مغز موش است. [۶ و۷ و۱۴]

درد یک عامل هشداردهنده برای ضایعه های بافتی در بـدن اسـت کـه بـه صـورت حاد یا مزمن بروز می کند و موجـب بـروز واکنش های متفاوت می‌شود. البته در زمینهٔ نقش نورون‌های PGI در درد گزارش‌های متناقض وجود دارد و مطالعه ها مربوط به ارزیابی نقش این هسته در کنـترل درد از طـریق انـدازه‌گـیری زمـان تأخـیر بازتـاب عقـب کشـیدن دم بـوده اسـت.[۹و۱۰و۱۵] لذا این تحقیق به بررسـی نقش نورون‌های DPGI و LPGI در کنترل درد مـراحل حاد و مزمن ناشی از تزریق فرمالین در پنجهٔ پای سمت مقابل ضایعه موش پرداخته است.

⊥ مواد و روش ها :

ایـن مطالعـه در سـال هـای ۸۰-۱۳۷۹ بر روی۳۰ سر مـوش صـحرایی نـر جوان و بالغ نژاد NMRI با محدودهٔ وزنـی ۲۰۰تـا۲۵۰ گـرم تهـیه شده از مؤسسه سرم‌سازی رازی حصـارک کرج، انجام شد. موش ها در تمام مدت به اسـتثنای زمـان انجـام عمل جراحی و آزمون فرمالین، در شـرایط استاندارد و ثابت فیزیکی به صورت دمای ۲ ±۲۱ درجـه سـانتی‌گراد، دوره‌های ۱۲ ساعتهٔ متوالی روشنایی- تاریکـی (۷ صـبح تـا ۱۹ عصـر روشنایی) و نیز دسترسی کافـی بـه آب و غـذای مناسـب (کنسـانتره) بـه صـورت گـروه‌های پنج‌تایی درون قفس‌های استاندارد پلی‌کربنات نگـه داری شدند. موش ها به پنج گروه : شاهد (۱۰ سر)، بـا ضـایعهٔ الکتریکی DPGI نیمهٔ چپ تنهٔ مغزی (۵ سر)، شـاهد تخریـب DPGI (۵ سـر) ، بـا ضـایعه الکتریکـی LPGI نـیمهٔ چـپ تـنهٔ مغـزی (۵ سـر) و شاهد تخریب LPGI (۵ سر) تقسیم شدند.

حـیوان هـا بـا تـزریق داخـل صـفاقی ۱۱۰ میلی گرم برکـیلوگرم داروی کتامیـن هـیدروکلراید (شرکت دارویی پوداپسـت- مجارسـتان) بی هوش شدند و سر آنها طوری در دسـتگاه جراحـی استرئوتاکسیک ثابت می‌شد که نقاط بـرگما (Bregma) و لامـبدا (Lambda) روی سـطح پشـتی جمجمـه در یـک سـطح قرار می‌گرفتند. [۱۲] یک شـیاف طولـی مناسب با استفاده از کوتر جراحی در پوست ناحـیهٔ پشـت سـر حیوانات ایجاد و بافت های روی سطح اسـتخوان در محـل ایجـاد زخـم با آب اکسیژنه در محل ایجاد زخم حذف شد. سپس مختصات محل قرار گرفتن

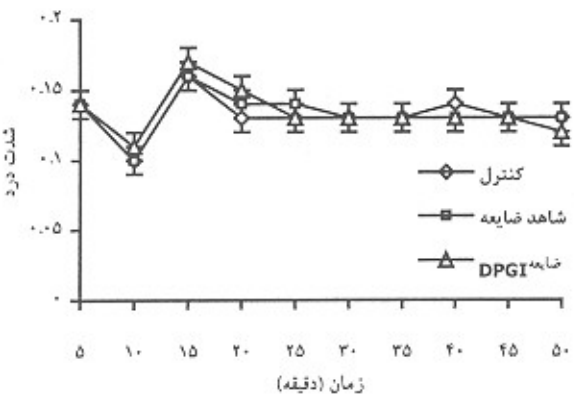
نوک الکترودایجاد کننـده ضایعـه بـا اسـتفاده از اطلـس استرئوتاکسیک جراحی مغز مـوش صحرایـی تعییـن شـد (AP = −۱۱/۸۰ نسـبت بـه بـرگمـا، ML = ۰/۶ و DV =−۵/۶).[۱۲] زیـر بخـش پشـتی هسـته PGL(DPGL) در نیمه چپ تنه مغزی حیوان های یـک گروه بـا عبـور دادن جریـان الکتریسـیته مسـتقیم (۲ میلی آمپر برای مـدت ۲ ثانیـه) از طریـق الکـترود (بـا جنس فولاد زنگ نزن عایق شده با تفلون) با قطـر ۰/۱۸ میلی متر کـه تنـها ۰/۵ میلـی مـتر نـوک آن رسـانا بـود (شـرکت WPI آمریکـا) بـه صـورت الکـتریکی تخریـب گردید. در گروه شاهد تخریب DPGI ، الکترود ضایعـه در همان بخش از مغز وارد شد، ولی جریان الکتریسیته از آن عبور داده نشد. برای ضایعـهٔ الکـتریکی LPGI در نیمـهٔ چپ تنهٔ مغزی گروه دیگری از موش هـا بـا مشـخصات AP=−۱۱/۹۶ نسبت به برگما،ML= −۱/۶ وDV= −۹/۸ از روی سـطح جمجمـه، جریـان الکتریسـیته مسـتقیم از الکترود عبور داده شد. در حیوان های گروه شـاهد ضایعـه LPGI نیز جریان الکتریسیته از الکترود ضایعه عبـور داده نشد. آنگاه پوست سر موش ها با نخ جراحی بخیـه شـد و در مدت ۷تا ۱۰روز دورهٔ بـهبودی عمـل جراحـی تحـت مراقبت و تیمار قرار داشتند.

پس از طی دورهٔ بهبودی ، شدت درد حیوان های گروه شاهد، ضایعه دیده و شاهد ضایعه با روش آزمون فرمـالین اندازه‌گیری شد. مقدار ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد با سوزن تزریق شـمارهٔ ۲۶ زیـر پوسـت پنجـه پـای راسـت موش ها تزریق شد. رفتار دردناک ناشی از تزریق فرمالین توسط آینه‌ای مسطح که با زاویهٔ ۴۵ درجه در زیـر سـطح شفاف و زیر پای حیوان های کـه درون قفـس شیشـه‌ای قرار داشت. مشاهده و ارزیابی شد. بـه منظـور آشـنایی بـا شـرایط آزمـایش و کـاهش اسـترس در زمـان آزمـایش، موش ها قبل از تزریق فرمالین، به مدت ۲۰ دقیقـه درون جعبهٔ شفاف قرار می گرفتند. آزمـون فرمـالین ۵۰ دقیقـه طول می‌کشید که ۱۵ دقیقهٔ اول بعد از تزریق فرمالین بـه صورت سه بلوک پنج دقیقه‌ای به عنوان درد حاد (مرحلـه اول) و ۳۵ دقیقـهٔ بعـدی بـه صـورت هفـت بلـوک پنـج دقیقه‌ای به عنوان درد مزمن (مرحله دوم) در نظـر گرفتـه شد. هر ۱۵ ثانیه یک بار به رفتار دردناک در پـای تزریـق شدهٔ حیوان ها، امتیاز داده می‌شد.[۱و۲و۱۵و۱۷] برای پی بردن به محل دقیق ایجاد ضایعه الکتریکی، در پایـان مشـاهده رفتاری، بـا تزریـق داخـل صفـاقی مقـدار اضـافی داروی کتامین هیدروکلراید، موش ها به طور عمیق بی هـوش و کشته شدند. پـس از پرفیـوژن قلـب بـا سـالین نرمـال و فرمالین ۵ درصد به منظور خارج شدن خون از عروق مغـز و سفت شدن آن، با تهیهٔ برش هـای کرونـال مناسـب از مغز، محل دقیق ضایعه با نقشـه استرئوتاکسـیک جراحـی مغز تطبیـق داده شـد. داده هـا بـا اسـتفاده از رابطـهٔمعیار رتبه‌ای (Standard Score) در هر بلوک پنج دقیقه‌ای[۲] بـه صـورت میـانگین ± انحـراف معیـار محاسـبه و بـا آزمون های t و آنالیز واریانس یک طرفه تفاوت شـدت درد در گروه‌های شاهد، ضایعه دیده و شاهد ضایعه در مراحـل درد حاد و مزمن مقایسه و P< ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

✪ یافته‌ها :

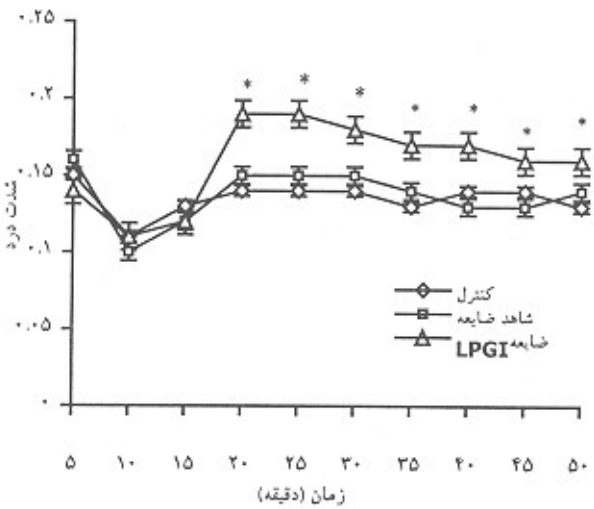
شدت درد مراحل حاد و مزمن در سـه گروه شـاهد، بـا ضایعـهٔ DPGI و شاهد ضایعه تفاوت معنی‌داری نداشت(نمودار شماره۱).

نمودار۱- مقایسه شدت درد حاد و مزمن ناشی از آزمون فرمالین در گروه های شاهد، شاهد ضایعه و با ضایعه بخش پشتی هسته پاراجیگانتوسلولاریس (DPGI)



شدت درد حاد در سه گروه شاهد، باضایعه LPGI و شاهد ضایعه تفاوت معنی‌داری را نشـان نـداد، ولـی شـدت درد مزمن در گروه ضایعه LPGI از دقیقهٔ ۲۰ به بعد به طـور معنی‌داری نسـبت بـه گروه‌هـای شـاهد و شـاهد ضایعـه افزایش یافت (P< ۰/۰۲)(نمودار شماره ۲).

نمودار۲- مقایسه شدت درد حاد و مزمن ناشی از آزمون فرمالین در گروه های شاهد، شاهد ضایعه و با ضایعه بخش جانبی هسته پاراجیگانتوسلولاریس (LPGI)



✪ بحث و نتیجه‌گیری :

این مطالعه نشان داد کـه تخریـب الکـتریکی نقطـهٔ بسـیار کوچکی از زیربخش پشتی هسـتهٔ PGI نیمـهٔ چـپ تنـهٔ مغزی شدت درد حاد و مزمن ناشی از تزریق فرمالین در انـدام حرکتـی سـمت مقـابل ضایعـه را بـه طـور معنـی‌داری تغیـیر نمی دهد، لذا نورون‌هـای ایـن بخـش از هسـتهٔ PGI در شدت درد خیلی مؤثر نیستند. در حالی که تحقیق دیـگری بـا بررسـی نقـش گیرنده‌هـای کولیـنرژیـک موسـکارینی و NMDA در همین زیربخـش هسـته‌ای در پـردازش درد ناشی از تزریق فرمالین نشان داد که نورون های این زیـر بخش در پردازش درد حاد و مزمن مؤثر هستند و انسـداد گیرنده‌های کولینرژیـک موسـکارینی موجـب بـی‌دردی و همچنیـن انسـداد گیرنده‌هـای NMDA درون آن بـاعث افزایش درد حاد شده است.[۳]

همچنین تخریب الکـتریکی نقطـهٔ بسـیار کـوچکـی از زیربخش جانبی هستهٔ PGI نیمهٔ چپ تنـهٔ مغـزی شـدت درد حاد را به طور معنی‌دار تغییر نداد، در حالی کـه شـدت درد مزمن را از دقیقهٔ ۲۰ به بعد به طور معنی‌داری نسـبت بـه گروه‌هـــای شـــاهد و شـــاهد ضایعـــه افزایـــش داد (P< ۰/۰۲). این یافته بیان گر آن است که نـورون هـای زیربخش LPGI در پـردازش درد حـاد نقشـی ندارنـد، در حالی که در پردازش درد مزمـن دخـالت می‌نمـایند. ایـن یافته نتایج حاصل از یک تحقیق را که همیـن زیربخـش هسته‌ای به صورت یک طرفـه و دوطرفـه تخریـب شـده است تأیید می‌نماید.[۳] یافته‌های فوق با یافته‌های تحقیـق دیگری که نقش گیرنده‌های کولیـنرژیـک موسـکارینی و NMDA نورون های زیربخش LPGI در پردازش درد را بررسی نموده است، تفاوت و تناقض دارد، زیرا انسداد ایـن گیرنده‌ها شدت درد ناشـی از تزریـق فرمـالین در هـر دو مرحلـه حـاد و مزمـن را بـه طـور معنـی‌داری تغیـیر داده است.[۳]

بنـابراین تنـاقض یافتـه‌ها در مـورد نقـش نورون‌هـای زیربخش پشتی هستهٔ PGI در درد حاد و مزمـن در طـی آزمون فرمالین در موش های صحرایی ممکـن اسـت بـه این دلیل باشد که با تخریب الکتریکی تنها بخـش بسـیار ناچیزی از نورون‌های این هسـتهٔ مشـبک بـزرگ آسـیب می‌بیند و این ضایعه برای تغییر نقش نورون‌ها در پردازش درد حاد و مزمن کفایت نمی‌کند. دیـگر ایـن کـه همیـن ضایعهٔ اندک ناشی از تخریب الکتریکی زیربخـش LPGI در تحقیق حاضر شدت درد حـاد را تغییـر نـداده اسـت در حالی که شدت درد مزمن را به طـور معنـی‌داری افزایـش داده است. این نتیجه هم ممکن است مربـوط بـه نـاچیز بودن اثـر ضایعـهٔ الکـتریکی نورون‌هـای آن باشـد. البتـه تحقیق دیگری نشـان داده اسـت کـه نـورون هـای ایـن زیربخش در پـردازش درد حـاد و مزمـن در طـی آزمـون فرمالین دخالت می‌نمـایند و نقـش آنـها در درد مزمـن از نورون‌های زیربخش DPGI قوی‌تر است. برای رفع ایـن

تـناقض هـا و ابهـام ها پیشنهاد می‌شود تا زیربخش‌های هسـتهٔ PGI بـه طور جدا از هم و با روش شیمیایی برای ایجـاد ضـایعه وسـیع و گسـترده تخریـب شوند تا امکان توضـیح نقـش نـورون‌هـای آنها در پردازش درد آسان تر گردد.

⊥ مراجع :

۱. امینـی مقـدم شفیع، سمنانیان سعید، فتح الهی یعقوب. اثـر بـی دردی ناشـی از تحـریک الکتریکـی و تزریق اِل گلوتامات به داخل هستهٔ پاراژیگانتوسلولاریس در درد حاد و مزمـن. مجلهٔ فیزیولوژی ـ فارماکولوژی، بهار و تابستان ۱۳۷۷، جلد ۲، شمارهٔ ۱، ۲۰-۱۱

۲. سـرکاکی علیرضـا، حـیدری اژدر، شـهرکی محمدرضا. بررسـی اثر استرس سروصدا در دورهٔ جنینی بر شدت درد مـوش هـای صـحرایی بالغ. مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۷۹، دورهٔ هفتم، شماره ۲، ۹-۵۳

۳. سـرکاکی علیرضا، منصوری محمدتقی، زارعی مهدی، آمـاری امیروحـید. بررسـی نقش گیرنده های موسکارینی کولینرژیکـی هسـته پاراجیگانتوسـلولاریس تـنه مغزی بر شـدت درد مـوش هـای صـحرایی. مجلـه علمی پزشکی اهواز، ۱۳۸۱ ، شماره ۳۵، ۲۳-۱۶

۴. عزیزی زهرا، سمنانیان سعید. بررسی اثر تخریب هستهٔ مشـبک پاراژیگانتوسـلولاریس بـر درد مزمـن. مجلـهٔ فـیزیولوژی- فارماکولوژی، بهار و تابستان ۱۳۷۷، جلد ۲، شماره ۱، ۸۱-۷۴

5.Arita H, Kogo N, Ichicawa K. Location of medullary neurons with non-phasic discharge excited by stimulation of central and for peripheral chemoreceptors and by activation of nociceptors in cat. Brain Res 1988; 442: 1-10

6.Armando A, Arne J, Deolinda L et al. The medullary dorsal reticular nucleus facilitates acute nociception in the rat. Brain Res 1996; 39(1): 7-15

7.Cho JJ, Basbaum AI. GABAergic in the rostral ventral medulla circuitry of the rat and its relationship to descending antinociceptive controls. J Comp Neurol 1991; 303: 316-28

8.Du HJ. Medullary neurons with projections to lamin X of the rat as demonstrated by retrograde labelling after HRP microclectrophoresis. Brain Res 1989; 505: 135-40

9.Grossman ML, Basbaum AI, Fields HL. Afferent and efferent connections of the rat tail flick reflex (a model used to analyse pain control mechanism). J Comp Neurol 1982; 206: 9-16

10.Kallina CF, Grau JW. Tail flick test I.Impact of a suprathreshold exposure to radiant heat on pain reactivity in rats. Physiol Behav 1995; 58(1): 161-8

11.Lovick TA. Tonic GABAergic and cholinergic infleunces on pain control and cardiovascular control neurons in nucleus paragigantocellularis lateralis in the rat. Pain 1987; 31: 401-9

12.Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd ed, Orlando, Academc Press, 1986,

13.Porro CA, Cavezzuti M, Galetti A, Sassatelki L. Functional activity mapping of the rat brain stem during formalin-induced noxious stimulation. Neuroscience 1991; 41: 667-80

14.Sherriff FE, Jemderson A, The paragigantocellularis nucleus of the ventral medulla: a seconedary source of cholinergic innervation of rat brain stem nuclei. Brain Res 1994; 636: 119-25

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

16.Tsai HF, Kuo TBJ, Chan JYH, Chan SHH. Interaction between neuronal response to nociception and hypertension in the nucleus reticularis gigantocellularis of the rat. Neuroscience Let1994; 165:137-40

17.Wheeler Aceto H, Porreca F, Cowan A. The rat paw formalin test: comparison of noxious agents Pain 1990; 40: 229-38

18.Young EG, Wathins LR, Mayer D. Comparison of the effects of ventral medullary lesions on systemic and microinjection morphine analgesia. Brain Res 1984; 290: 119-29