

## The effect of microinjection of dimethyl sulfoxide into the rostral ventromedial medulla on swim stress-induced analgesia

S. Nazemi<sup>1</sup>, A. Shamsizadeh<sup>2</sup>, N. Haidari-Oranji<sup>3</sup>, N. Soleimani<sup>4</sup>, H. Azhdari Zarmehri<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Cellular and Molecular Research Center, School of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

<sup>2</sup> Department of Physiology, Physiology-Pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

<sup>3</sup> Department of Physiology, School of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

<sup>4</sup> Physiology-Pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

<sup>5</sup> Department of Basic Sciences, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

Corresponding Address: Hasan Azhdari Zarmehri, Department of Basic Sciences, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

Tel: +98-51-5224697, Email: hasan.azhdari@gmail.com

Received: 6 Sep 2017; Accepted: 31 Jan 2018

### \*Abstract

**Background:** Dimethyl sulfoxide (DMSO) is an important solvent for compounds that used in pain research. Rostral ventromedial medulla (RVM) plays an important role in modulating nociception and stress-induced analgesia (SIA).

**Objective:** The aim of this study was to investigate the effect of DMSO administration into the RVM on SIA by using formalin test.

**Methods:** This experimental study was conducted on 27 Wistar male rats (200±30 gr) were randomly assigned to control, stress and stress+DMSO groups. Animals were placed in a water reservoir (20±1°C) for 3 minutes to induce forced swimming stress. Stereotaxic surgery was performed to microinjection of DMSO (0.5µl, 100%) into RVM. The pain behavior score was evaluated by subcutaneous injection of formalin 2% in the dorsal plantar region of hind paw.

**Findings:** The pain score of phase 1, interphase and phase 2 of formalin test in swim stress group decreased significantly in comparison to control group (P<0.001, P<0.05, P<0.001) respectively. In addition, the pain score of three phase of formalin test after DMSO injection in swim stress group decreased significantly in comparison to control and stress group (P<0.001, P<0.05) respectively.

**Conclusion:** Also microinjections of DMSO into the RVM potentiate the swim stress analgesia. According to the analgesic effects of dimethyl sulfoxide, as well as its ability to potentiate stress-induced analgesia, DMSO should be used with caution as a solvent in pain studies.

**Conclusion:** Force swim stress induces analgesia in, and microinjections of DMSO into the RVM potentiate the swim stress analgesia. According to the analgesic effects of DMSO, as well as its ability to potentiate stress-induced analgesia, it should be used with caution as solvent in pain studies.

**Keywords:** Rostral ventromedial medulla, Dimethyl sulfoxide, Swim stress, Formalin test, Stress-induced analgesia

**Citation:** Nazemi S, Shamsizadeh A, Haidari-Oranji N, Soleimani N, Azhdari Zarmehri H. The effect of microinjection of dimethyl sulfoxide into the rostral ventromedial medulla on swim stress-induced analgesia. J Qazvin Univ Med Sci 2018; 21 (6): 4-13.

## اثر تزریق دی‌متیل سولفوکساید به بخش سری شکمی - میانی بصل النخاع بر بی‌دردی ناشی از تنش شنا

دکتر صمد ناظمی<sup>۱</sup>، دکتر علی شمسی‌زاده<sup>۲</sup>، نیما حیدری اورنجی<sup>۳</sup>، ندا سلیمانی<sup>۴</sup>، دکتر حسن اژدری زرمهری<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

<sup>۲</sup> گروه فیزیولوژی مرکز تحقیقات فیزیولوژی و فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

<sup>۳</sup> گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران

<sup>۴</sup> مرکز تحقیقات فیزیولوژی و فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

<sup>۵</sup> گروه علوم پایه دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران

آدرس نویسنده مسؤل: تربت حیدریه، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، گروه علوم پایه، تلفن ۰۵۱-۵۲۲۲۴۶۹۷-۹۶/۱۱/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۱۵

### \*چکیده

**زمینه:** دی‌متیل سولفوکساید به‌عنوان حامل بسیاری از ترکیبات در مطالعات درد استفاده می‌شود. بخش سری شکمی - میانی بصل النخاع نقش مهمی در تعدیل درد و به‌خصوص بروز بی‌دردی ناشی از تنش ایفا می‌کند.

**هدف:** در این مطالعه اثر تزریق دی‌متیل سولفوکساید به بخش سری شکمی - میانی بصل النخاع بر بی‌دردی ناشی از تنش شنا در آزمون فرمالین در رت‌های نر مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۲۷ سر رت نر (۳۰±۲۰ گرم) به‌طور تصادفی در گروه‌های شاهد، تنش و تنش+دی‌متیل سولفوکساید قرار گرفتند (۹ سر رت در هر گروه). به‌منظور القای تنش شنای اجباری، حیوانات به مدت ۳ دقیقه در مخزن آب (۱±۲۰ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. با انجام جراحی استریوتاکسی، ریز تزریق دی‌متیل سولفوکساید (۰/۵ میکرولیتر ۱۰۰ درصد) به بخش سری شکمی - میانی بصل النخاع انجام شد. ارزیابی شدت درد با استفاده از تزریق فرمالین ۲ درصد به پشت پنجه پا انجام گرفت.

**یافته‌ها:** در گروه تنش؛ درد در فاز اول ( $P < 0/001$ )، مرحله اینترفاز ( $P < 0/05$ ) و فاز ۲ ( $P < 0/001$ ) آزمون فرمالین در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد. همچنین در گروهی که دی‌متیل سولفوکساید دریافت کرده بود، این رفتارها در مقایسه با گروه شاهد ( $P < 0/001$ ) و گروه تنش ( $P < 0/05$ ) به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** همچنین تزریق دی‌متیل سولفوکساید به ناحیه پشتی شکمی - میانی بصل النخاع اثر بی‌دردی ناشی از تنش شنای اجباری را تقویت می‌کند. با توجه به اثرات ضددردی دی‌متیل سولفوکساید و همچنین توانایی آن در تقویت بی‌دردی ناشی از تنش در مطالعات مربوط به درد باید با احتیاط بیش‌تری به‌عنوان حلال استفاده شود.

**کلیدواژه‌ها:** بخش سری شکمی - میانی بصل النخاع، دی‌متیل سولفوکساید، آزمون فرمالین، تنش شنا، بی‌دردی ناشی از تنش

### \*مقدمه:

مزمّن و مداوم موجب ایجاد پُردردی ناشی از تنش (Stress-induced hyperalgesia, SIH) می‌شود.<sup>(۱-۴)</sup> تنش با تحریک مراکز مختلف قشری و زیرقشری مغز سبب فعال‌سازی مسیره‌های عصبی پایین‌رو درگیر در سرکوب درد می‌شود.<sup>(۵)</sup> مسیره‌های عصبی پایین‌رو دخیل در تعدیل درد از نواحی مختلف مانند قشر مغز، هیپوتالاموس و آمیگدال آغاز شده و اغلب در نورون‌های

در سال‌های اخیر مطالعات بالینی و آزمایشگاهی مختلف ارتباط بین تنش و درد را مشخص کرده‌اند. در این میان ماهیت، شدت و مدت زمان قرارگیری در معرض تنش، در پاسخ ایجاد شده بسیار تأثیرگذار است. تنش حاد و شدید موجب بی‌دردی ناشی از تنش (Stress-induced analgesia, SIA) می‌شود، در حالی‌که قرار گرفتن در معرض تنش‌های

این حال دی‌متیل سولفو کساید دارای اثرات سلولی وسیعی است که می‌تواند با اثر بسیاری از داروها تداخل ایجاد کند.<sup>(۱۳)</sup> هنگامی که دی‌متیل سولفو کساید در کشت سلولی مورد مطالعه قرار گرفته سبب افزایش تحریک‌پذیری سلول از طریق افزایش جریان کانال کلسیم، سدیم و یا کلر شده است. اثرات رفتاری دی‌متیل سولفو کساید نیز گزارش شده است.<sup>(۱۴)</sup> به‌عنوان مثال تزریق داخل صفاقی و خوراکی دی‌متیل سولفو کساید موجب بی‌دردی در رت‌ها می‌شود. تجویز همزمان دی‌متیل سولفو کساید تمایل به افزایش اثرات داروهای دیگر دارد به‌عنوان مثال، تجویز همزمان با مورفین می‌تواند اثرات ضددردی مورفین را افزایش دهد.<sup>(۱۵)</sup>

اثر ضدالتهابی دی‌متیل سولفو کساید در حفاظت از سلول‌های عصبی بعد از سکت‌های مغزی مفید است و می‌توان از آن در درمان بیماری‌های التهابی مختلف استفاده کرد.<sup>(۱۶)</sup> تزریق دی‌متیل سولفو کساید به بخش پشتی ماده خاکستری دور قنات مغزی موجب افزایش رفتار جستجوگری در رت می‌شود.<sup>(۱۳)</sup> تاکنون مطالعه‌ای تداخل بین تنش شنا و دی‌متیل سولفو کساید را مورد بررسی قرار نداده است. با توجه به اطلاعات موجود، تنش شنا و دی‌متیل سولفو کساید هر دو می‌توانند موجب بی‌دردی شوند، در این مطالعه، اثر تزریق دی‌متیل سولفو کساید در سری شکمی - میانی بصل النخاع بر بی‌دردی ناشی از تنش شنا در آزمون فرمالین مورد بررسی قرار گرفت.

### \* مواد و روش‌ها:

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۴ در گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان انجام گرفت، از ۲۷ سر رت نر بالغ نژاد ویستار ( $30 \pm 20$  گرم) استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد تاریکی و روشنایی با دسترسی آزاد به آب و غذای کافی و دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد در قفسه‌های مخصوص نگهداری حیوانات (۴ سر رت در هر قفس) نگهداری شدند. تمامی آزمایشات

شاخ خلفی نخاع که مسئول انتقال پیام‌های مربوط به حس درد از سیستم عصبی محیطی به مرکزی هستند، خاتمه پیدا می‌کنند. طبق تئوری دروازه‌ای فعال شدن این مسیرها موجب مهار ورود اطلاعات حس درد در شاخ خلفی نخاع شده و موجب سرکوب درد می‌شود.<sup>(۶)</sup> در سال‌های اخیر مطالعات مختلف نقش مسیرهای اپیوئیدی، گابا، گلو تامات، مونو آمین‌ها و کانابینوئیدها را در ایجاد بی‌دردی ناشی از تنش و ترس تأیید کرده‌اند.<sup>(۷)</sup> در این میان آمیگدال مهم‌ترین بخشی است که در پاسخ به ترس و تنش فعال می‌شود. نورون‌های آمیگدال به ماده خاکستری دور قنات مغزی و سپس به ناحیه سری شکمی بصل النخاع رفته و در نهایت به شاخ خلفی نخاع، محل ورود نورون‌های مسیر انتقال درد می‌رسند. فعال شدن این مسیر ورود اطلاعات درد را در شاخ خلفی نخاع سرکوب نموده و موجب بی‌دردی می‌شود.<sup>(۱)</sup> مطالعات نشان داده‌اند که تحریک الکتریکی و همچنین تحریک شیمیایی بخش سری شکمی - میانی بصل النخاع سبب سرکوب درد شده و به‌خصوص در تقویت بی‌دردی ناشی از تنش نقش دارد. به‌نظر می‌رسد این بخش با توجه به تنوع نورونی که دارد در پدیده مهار درد دخالت دارد.<sup>(۸-۱۱)</sup>

شنا ایجابی به عنوان یک عامل تنش‌زای فیزیکی می‌تواند موجب القای بی‌دردی در رت‌ها شود. این امر ناشی از فعال شدن سیستم‌های اپیوئیدی و غیراپیوئیدی در سیستم عصبی مرکزی می‌باشد. استفاده از اپیوئیدهای اگزوزن و یا تقویت سیستم اپیوئیدی درون‌زاد موجب افزایش بی‌دردی ناشی از تنش شنا می‌شود. این در حالی است که مهار سیستم اپیوئیدی موجب از بین رفتن بی‌دردی ناشی از این تنش می‌شود که نشان‌دهنده نقش سیستم اپیوئیدی در القای بی‌دردی ناشی از تنش شنا می‌باشد. در سال‌های اخیر نقش سیستم‌های غیراپیوئیدی از قبیل سیستم کانابینوئیدی، سیستم اورکسینرژیک نیز در القای بی‌دردی ناشی از تنش شنا به اثبات رسیده است.<sup>(۱۲)</sup> دی‌متیل سولفو کساید به‌عنوان یک حلال برای داروهای غیرقطبی و نامحلول در آب مورد استفاده قرار می‌گیرد. با

طویل‌تر از نوک کانول راهنما تهیه و از یک طرف به یک لوله نازک پلی‌اتیلن و سر دیگر لوله پلی‌اتیلن به سیستم ریز تزریق وصل و مقدار ۰/۵ میکرولیتر دی‌متیل سولفوکساید ۱۰۰ درصد در قسمت نوک کانول تزریق شد. تزریق دی‌متیل سولفوکساید ۱۰ دقیقه قبل از انجام آزمون فرمالین انجام شد.<sup>(۱۸،۱۷)</sup>

برای القای تنش شنا از یک استوانه با ابعاد عمق ۷۰ سانتی‌متر و شعاع ۵۵ سانتی‌متر استفاده شد. استوانه تا ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری از آب با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد پُر شد. برای ایجاد تنش، رت‌ها به مدت ۳ دقیقه در این استوانه قرار می‌گرفتند و پس از تمام شدن زمان مقرر با حوله خشک شدند. لازم به ذکر است تمام رت‌ها با یک نوع حوله و به یک اندازه خشک و بلافاصله آزمون فرمالین انجام شد.<sup>(۱۹)</sup>

برای انجام آزمون فرمالین حیوانات ۳۰ دقیقه قبل از شروع در جعبه (از جنس پلکسی گلاس با ابعاد ۳۰×۳۰ سانتی‌متر که آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه در زیر آن نصب شده تا امکان دیدن مناسب حیوانات فراهم شود) قرار داده شدند تا به محیط جدید عادت کنند. برای انجام آزمون فرمالین، زیر پوست کف پای راست هر رت محلول فرمالین ۲ درصد با حجم ۵۰ میکرولیتر توسط یک سرسوزن نمره ۳۰ تزریق شد. به دنبال تزریق فرمالین، حیوان مجموعه‌ای از رفتارهای القا شده با فرمالین و رفتارهای خودبه‌خودی را نشان داد که به آن‌ها نمره صفر تا ۳ داده شد. رتبه صفر پای حیوان به‌طور طبیعی روی زمین، رتبه ۱ پای حیوان مختصری روی زمین، رتبه ۲ پای حیوان از زمین کنده شده و رتبه ۳ حیوان پایش را گاز و یا لیس می‌زد. تعداد کل این حرکات پا در دوره‌های ۱۵ ثانیه‌ای و به مدت ۹۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین، مشاهده و ثبت شد. تزریق فرمالین سبب رفتارهای دردی که این رفتارها از دو فاز تشکیل شده و توسط اینتر فاز جدا شدند. فاز اول از دقیقه صفر تا ۷، اینتر فاز از دقیقه ۸ تا ۱۴ و فاز دوم از دقیقه ۱۵ تا ۹۰ بود.<sup>(۲۱-۱۹)</sup>

پس از انجام تمامی آزمایشات مورد نظر رت‌ها با

مطابق با دستورالعمل بین‌المللی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام و به تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان رسید. سعی شد که سطح درد و تنش و نیز تعداد رت‌های مورد استفاده را کاهش دهیم.

حیوانات به‌طور تصادفی در ۳ گروه؛ شاهد، تنش و تنش و دی‌متیل سولفوکساید (هر گروه ۹ سر رت) تقسیم بندی شدند. به جز گروه شاهد دو گروه دیگر جهت تزریق حامل (نرمال سالین) و دی‌متیل سولفوکساید به بخش سری شکمی - میانی بصل‌النخاع تحت جراحی استریوتاکسی قرار گرفتند.

برای کانول گذاری، حیوان پس از بی‌هوش شدن (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم زایلازین)، در دستگاه استریوتاکسی قرار گرفت و پوست ناحیه سر به حداقل میزان برش داده شد. پس از کنار زدن بافت‌های پوششی اطراف، نواحی برگما و لامبدا شناسایی و با توجه به فاصله آن‌ها و نسبت آن با فاصله ذکر شده در اطلس پاکسینوس نواحی سطح جمجمه متعلق به هسته بخش سری شکمی - میانی بصل‌النخاع (AP:10.5-11, L:00, V:10.4) مشخص گردید. بعد از علامت‌گذاری مناطق فوق با استفاده از مته دندان‌پزشکی در محل مذکور منفذی به اندازه قطر کانول راهنما که معمولاً از سر سرنگ نمره ۲۳ است ایجاد شده و کانول راهنما به اندازه ۲ میلی‌متر کوتاه‌تر از عمق مشخص در اطلس برای هسته مورد نظر (به منظور کاهش آسیب هسته در هنگام تزریق)، در درون مغز مستقر شد و قسمت رویی آن در روی جمجمه به‌وسیله سیمان دندان‌پزشکی ثابت گردید. دو پیچ کوچک (پیچ عینک) در استخوان جمجمه تعبیه و در درون سیمان دندان‌پزشکی فرو رفت. این دو پیچ در حکم مسلح‌سازی سیمان بوده و از جدا شدن آن از سطح جمجمه جلوگیری می‌کند. منفذ کانول راهنما در بیرون جمجمه به‌وسیله درپوش خاصی مسدود و فقط در زمان تزریق دارو برداشته می‌شد. بعد از اتمام جراحی رت‌ها یک هفته دوره بهبودی را طی کردند. یک کانول به اندازه نازک‌تر از سوزن نمره ۳۰ و ۲ میلی‌متر

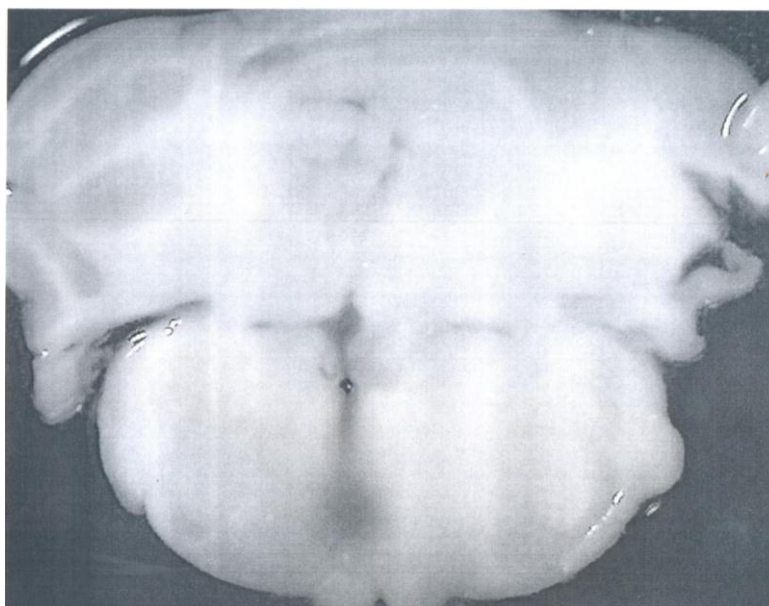
معنی‌داری بین گروه‌های شاهد، تنش و تنش + دی‌متیل سولفو کساید نشان داد [F(۲,۲۴)=۲۵/۵۹۶; P≤۰/۰۰۱]. این رفتارها در گروه تنش در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۰۱). همچنین این رفتارها در گروهی که تنش و دی‌متیل سولفو کساید دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه شاهد (P<۰/۰۰۱) و تنش (P<۰/۰۰۱) کاهش قابل ملاحظه‌ای نشان داد.

رفتارهای درد ناشی از مرحله اینترفاز آزمون فرمالین تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف نشان داد [F(۲,۲۴)=۹/۰۰۵; P=۰/۰۰۱] به نحوی که این رفتارها در گروه تنش در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۰۵) و همچنین این رفتارها در گروهی که تنش و دی‌متیل سولفو کساید دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه شاهد (P<۰/۰۰۱) و تنش (P<۰/۰۰۵) کاهش قابل ملاحظه‌ای نشان داد (شکل شماره ۲).

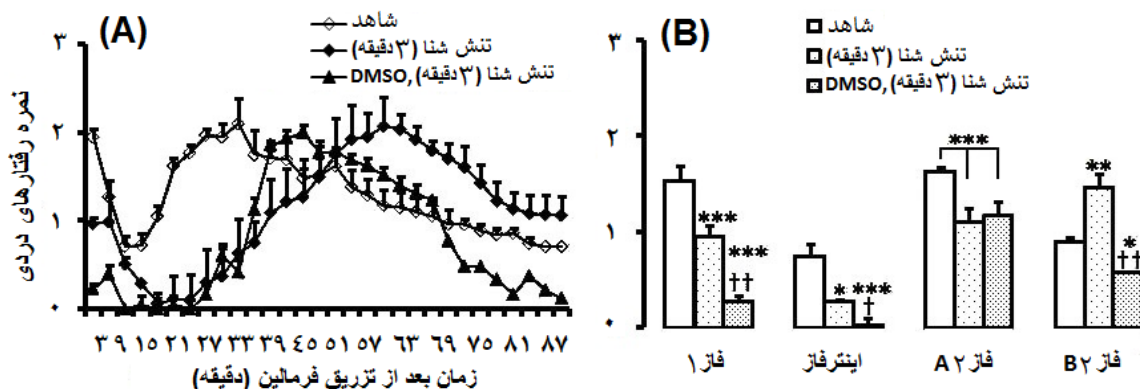
کتامین بی‌هوش و سپس ۵ میکرولیتر رنگ متیلن بلو ۲ درصد از طریق کانول به مغز آن‌ها تزریق و بعد از گذشت سه تا پنج دقیقه به روش ترانس کاردیاک، عروق مغزی آن‌ها شستشو داده شد. پرفیوژن با ۱۵۰ میلی‌لیتر سالین شروع و با ۵۰۰ میلی‌لیتر فرمالین ۱۰ درصد کامل شد. سپس مغز رت‌ها از مجموعه خارج و برش‌گیری توسط ویبروتوم از ساقه مغز انجام شد. فقط داده‌های رت‌هایی که محل تزریق آن‌ها بخش سری شکمی - میانی بصل النخاع بود، تأیید و در نتایج آورده شد (شکل شماره ۱). برای تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS ۱۶ و به منظور بررسی اختلاف آماری میانگین‌ها از آزمون‌های آنوا و تعقیبی توکی استفاده گردید. معیار معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها کم‌تر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

#### ✱ یافته‌ها:

رفتارهای درد ناشی از فاز اول آزمون فرمالین تفاوت



شکل ۱- تأیید بافت‌شناسی برای نشان دادن محل تزریق در بخش سری شکمی - میانی بصل النخاع



شکل ۲- اثر تنش شنای اجباری و تزریق دی متیل سولفوکساید در بخش سری شکمی- میانی بصل النخاع بعد از تنش شنا بر شدت درد ناشی از آزمون فرمالین (A) و نمودار ستونی میانگین نمره آزمون فرمالین در فاز ۱، اینترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین (B) اختلاف معنی دار با گروه شاهد؛ \* $P < 0.05$ ، \*\* $P < 0.01$ ، \*\*\* $P < 0.001$  اختلاف معنی دار با گروه تنش شنا DMSO: دی متیل سولفوکساید † $P < 0.1$  و †† $P < 0.05$  اختلاف معنی دار با گروه تنش شنا DMSO: دی متیل سولفوکساید

### \*بحث و نتیجه گیری:

خاکستری دور قنات مغزی سبب بی‌دردی می‌شود.<sup>(۲۴)</sup> ماده خاکستری دور قنات مغزی به تحریک آمیگدال پاسخ می‌دهد و تحریک الکتریکی و تزریق مرفین در آمیگدال سبب بی‌دردی می‌شود که از طریق مسیره‌های پایین‌رو ماده خاکستری دور قنات مغزی به بخش سری شکمی- میانی بصل النخاع وساطت می‌کند.<sup>(۷)</sup> تزریق مرفین و تحریک الکتریکی بخش سری شکمی- میانی بصل النخاع سبب تضعیف رفتارهای درد می‌شود، چون بخش سری شکمی- میانی بصل النخاع خروجی پایانی مسیر مهارتی پایین‌رو احساس درد است، از این‌رو این بخش توجه فراوانی را در پژوهش‌ها به خود جلب کرده است. بخش سری شکمی- میانی بصل النخاع و ماده خاکستری دور قنات مغزی با فرستادن انشعابات به شاخ پستی نخاع، مسیر و ابران سیستم کنترل درد را تشکیل می‌دهند.<sup>(۲۵)</sup>

دی متیل سولفوکساید دارای یک طیف گسترده‌ای از اثرات سلولی از جمله سبب افزایش تحریک‌پذیری سلول‌ها از طریق تغییر جریان یونی از کانال‌های کلسیم، سدیم و یا کلری می‌شود.<sup>(۱۴)</sup> اثرات رفتاری دی متیل سولفوکساید در مدل‌های حیوانی بررسی درد حاد و مزمن نیز گزارش شده است.<sup>(۱۳)</sup> مطالعات قبلی نشان دادند دی متیل

نتایج نشان داد، تنش شنای اجباری شدت درد در مراحل مختلف آزمون فرمالین را کاهش داد و همچنین تزریق دی متیل سولفوکساید در بخش سری شکمی- میانی بصل النخاع اثر ضدردی تنش را تقویت کرده است، هر چند که در فاز ۲A آزمون فرمالین این اثر دیده نشد. تنش سبب فعال‌سازی چند سیستم عصبی درگیر در سرکوب درد می‌شود، این پدیده به‌عنوان بی‌دردی ناشی از تنش شناخته شده و توسط سیستم‌های مهارتی درد درون‌زاد فعال می‌شود.<sup>(۵۱)</sup> در این مطالعه نیز مشخص شد که تنش شنای اجباری توانسته است موجب کاهش درد در مراحل مختلف آزمون فرمالین شود. مکانیسم‌های اپیوئیدرژیک درون‌زاد و غیراپیوئیدی در بی‌دردی ناشی از تنش در جوندگان دخیل هستند. در برخی از شرایط تنش‌زا، مهار سیستم اپیوئیدرژیک درون‌زاد سبب مهار بی‌دردی ناشی از تنش می‌شود، اما در برخی دیگر از موارد مهار سیستم اپیوئیدی نمی‌تواند بی‌دردی ناشی از تنش را به‌طور کامل سرکوب کند که نشان می‌دهد مکانیسم‌های غیراپیوئیدی نیز ممکن است در بروز بی‌دردی ناشی از تنش دخیل باشند.<sup>(۲۳،۲۲)</sup> مراکز مختلفی در سیستم عصبی مرکزی پاسخ به تحریک دردزا را تعدیل می‌کنند. تحریک هیپوتالاموس پهلویی از راه رله اطلاعات به ماده

در نمره رفتارهای درد می‌شود، احتمالاً مکانیسم‌های مهارتی فعال مرحله اینترفاز سبب کاهش درد بعد از تزریق دوم فرمالین شده است. در این مکانیسم‌ها شکلی از بی‌دردی غیراپیوئیدی که از مناطق فوق نخاعی منشأ می‌گیرد و سبب افزایش خروجی‌های مهارتی پایین‌رو در طی مرحله اینترفاز می‌شود نقش دارد که سبب افزایش مهار در فاز ۲ آزمون فرمالین می‌شود.<sup>(۳۱)</sup> در این مطالعه کاهش رفتارهای درد در قسمت اول فاز ۲ ممکن است طولانی شدن مرحله اینترفاز را منعکس کند.

دی‌متیل سولفوکساید به‌عنوان حلال برای تزریق ترکیبات مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. اثرات ضد‌دردی دی‌متیل سولفوکساید پس از تزریق سیستمیک گزارش شده است و این اثرات بسته به طول مدت و غلظت مورد استفاده متفاوت می‌باشد.<sup>(۳۴)</sup> در این مطالعه نیز مشخص شد که تزریق مرکزی دی‌متیل سولفوکساید موجب تقویت اثر بی‌دردی ناشی از تنش‌شنای اجباری شده است. با توجه به اثرات ضد‌دردی دی‌متیل سولفوکساید و همچنین توانایی آن در تقویت بی‌دردی ناشی از تنش در مطالعه‌های مربوط به تنش و درد باید با احتیاط بیش‌تری از آن به‌عنوان حلال استفاده کرد. این اطلاعات در شناخت مکانیسم‌های دخیل در ایجاد بی‌دردی ناشی از تنش مفید بوده و می‌تواند در انتخاب حلال مناسب برای بررسی اثر داروهای مختلف در تحقیقات درد مفید باشد.

### \*سپاس‌گزاری:

این مقاله بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان بوده و دارای کد اخلاق به شماره RI.RUMS.REC.1394.191 از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان می‌باشد.

### \*مراجع:

1. Butler RK, Finn DP. Stress-induced analgesia. Prog Neurobiol 2009; 88(3): 184-

سولفوکساید سبب افزایش اثرات ضد‌دردی مورفین شده و فعالیت حرکتی حیوان را افزایش می‌دهد.<sup>(۱۵،۱۳)</sup> نتایج این مطالعه نیز نشان داد که تزریق دی‌متیل سولفوکساید به بخش سری شکمی - میانی سبب تقویت اثر ضد‌دردی ناشی از تنش شنا شده که احتمالاً دی‌متیل سولفوکساید با افزایش تحریک‌پذیری نورون‌های این قسمت از بصل‌النخاع موجب تقویت مسیری‌های اپیوئیدی و غیراپیوئیدی دخیل در مهار درد شده است.

آزمون فرمالین به‌عنوان مدل درد التهابی دارای سه مرحله می‌باشد و با هدف ایجاد روشی برای تحریک دردناک طولانی مدت طراحی شد.<sup>(۲۶)</sup> پاسخ دردناک دو فازی که به‌این ترتیب ایجاد می‌شود در بسیاری از جوندگان از جمله؛ رت و موش سوری مورد بررسی قرار گرفته است. در جوندگانی نظیر رت پس از تزریق فرمالین، یک فاز مقدماتی کوتاه (فاز ۱) همراه با درد شدید، مرحله بینابینی (اینترفاز) که شدت درد به کم‌ترین مقدار خود و در مواردی به صفر می‌رسد و در پایان، یک فاز بلند مدت (فاز ۲) که همراه با شدت گرفتن دوباره درد است، پدید می‌آید. فرضیه مطرح در مورد فاز ۱ را مربوط به تحریک مستقیم گیرنده‌های درد می‌دانند. ولی فاز ۲ را به حساس شدن نورون‌های مسیر درد در سیستم عصبی مرکزی بر اثر ورودی‌های مسیر آوران اولیه درد در طول فاز اول و یا گسترش التهاب نسبت می‌دهد.<sup>(۳۰-۳۷)</sup> با این حال، مکانیسم واقعی مسئول کاهش رفتار مشخصه درد در پایان فاز ۲ روشن نیست.<sup>(۳۱)</sup>

قبلاً مرحله اینترفاز را به‌عنوان یک مرحله مهارتی غیرفعال می‌شناختند و شاید به‌این دلیل مورد توجه زیاد قرار نگرفته بود، در حالی که چندین مطالعه گزارش کرده‌اند که مرحله اینترفاز به‌صورت فعال ایجاد می‌شود و نتیجه مکانیسم‌های متوقف‌کننده درد درون‌زاد می‌باشد. هر چند که پنتوباریتال و دیازپام سبب مهار مرحله اینترفاز می‌شود،<sup>(۳۲)</sup> پیشنهاد کردند که آگونیست‌های GABA<sub>A</sub>، سبب بروز درد در مرحله اینترفاز می‌شوند.<sup>(۳۳)</sup> تزریق بی‌دردی فرمالین به کف پای حیوان سبب کاهش ثانویه

202. doi: 10.1016/j.pneurobio.2009.04.003.
2. Johnson AC, Greenwood-Van Meerveld B. Stress-induced pain: a target for the development of novel therapeutics. *J Pharmacol Exp Ther* 2014; 351(2): 327-35. doi: 10.1124/jpet.114.218065.
3. Rajaei F, Erami E, Azhdari-Zarmehri H. Effect of exposure to chronic heterogeneous sequential stress during prenatal on formalin-induced nociceptive behaviour in adult offspring in rats. *J Isfahan Med Sch* 2013; 31(256): 1640-8.
4. Ghasemi E, Erami E, Elahdadi Salmani M, Azhdari zarmehri H. Chronic heterogeneous sequential stress increases formalin-induced nociceptive. *Physiol Pharmacol* 2013; 16(4): 371-9. [In Persian]
5. Parikh D, Hamid A, Friedman TC, Nguyen K, Tseng A, Marquez P, et al. Stress-induced analgesia and endogenous opioid peptides: the importance of stress duration. *Eur J Pharmacol* 2011; 650(2-3): 563-7. doi: 10.1016/j.ejphar.2010.10.050.
6. Ezzatpanah S, Babapour V, Sadeghi B, Haghparast A. Chemical stimulation of the lateral hypothalamus by carbachol attenuated the formalin-induced pain behaviors in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2015; 129: 105-10. doi: 10.1016/j.pbb.2014.12.012.
7. McGaraughty S, Farr DA, Heinricher MM. Lesions of the periaqueductal gray disrupt input to the rostral ventromedial medulla following microinjections of morphine into the medial or basolateral nuclei of the amygdala. *Brain Res* 2004; 1009(1-2): 223-7.
8. Soliemani N, Moslem A, Shamsizadeh A, Azhdari-Zarmehri H. Administration of orexin receptor 1 antagonist into the rostral ventromedial medulla increased swim stress-induced antinociception in rat. *Iran J Basic Med Sci* 2016; 19(5): 542-9.
9. Shamsizadeh A, Soliemani N, Mohammad-Zadeh M, Azhdari-Zarmehri H. Permanent lesion in rostral ventromedial medulla potentiates swim stress-induced analgesia in formalin test. *Iran J Basic Med Sci* 2014; 17(3): 209-15.
10. Haidari-Oranji N, Soleimani N, Sofiabadi M. Effects of lidocaine injections into the rostral ventromedial medulla on nociceptive behaviours in hot-plate and formalin tests in rats. *Koomesh* 2013; 14(4): 490-6. [In Persian]
11. Azhdari-Zarmehri H, Semnianian S, Fathollahi Y, Pakdel FG. Tail flick modification of orexin-a induced changes of electrophysiological parameters in the rostral ventromedial medulla. *Cell J* 2014; 16(2): 131-40.
12. Jennings EM, Okine BN, Olango WM, Roche M, Finn DP. Repeated forced swim stress differentially affects formalin-evoked nociceptive behaviour and the endocannabinoid system in stress normo-responsive and stress hyper-responsive rat strains. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2016; 64: 181-9. doi: 10.1016/j.pnpbp.2015.05.008.
13. Fossum EN, Lisowski MJ, Macey TA, Ingram SL, Morgan MM. Microinjection of the vehicle dimethyl sulfoxide (DMSO) into the periaqueductal gray modulates morphine antinociception. *Brain Res* 2008; 1204: 53-8. doi: 10.1016/j.brainres.2008.02.022.
14. Santos NC, Figueira-Coelho J, Martins-Silva J, Saldanha C. Multidisciplinary utilization of dimethyl sulfoxide: pharmacological, cellular, and molecular aspects. *Biochem Pharmacol* 2003; 65(7): 1035-41. doi: 10.1016/S0006-2952(03)00002-9.
15. Colucci M, Maione F, Bonito MC,



- Piscopo A, Di Giannuario A, Pieretti S. New insights of dimethyl sulphoxide effects (DMSO) on experimental in vivo models of nociception and inflammation. *Pharmacol Res* 2008; 57(6): 419-25. doi: 10.1016/j.phrs.2008.04.004.
16. Rosenstein ED. Topical agents in the treatment of rheumatic disorders. *Rheum Dis Clin North Am* 1999; 25(4): 899-918, viii. doi: 10.1016/S0889-857X(05)70109-5.
17. Azhdari Zarmehri H, Semnanian S, Fathollahi Y, Erami E, Khakpay R, Azizi H, et al. Intra-periaqueductal gray matter microinjection of orexin-A decreases formalin-induced nociceptive behaviors in adult male rats. *J Pain* 2011; 12(2): 280-7. doi: 10.1016/j.jpain.2010.09.006.
18. Azhdari Zarmehri H, Semnanian S, Fathollahi Y. Comparing the analgesic effects of periaqueductal gray matter injection of orexin A and morphine on formalin-induced nociceptive behaviors. *Physiol Pharmacol* 2008; 12(3): 188-93. [In Persian]
19. Heidari-Oranjaghi N, Azhdari-Zarmehri H, Erami E, Haghparast A. Antagonism of orexin-1 receptors attenuates swim-and restraint stress-induced antinociceptive behaviors in formalin test. *Pharmacol Biochem Behav* 2012; 103(2): 299-307. doi: 10.1016/j.pbb.2012.08.007.
20. Coderre TJ, Abbott FV, Sawynok J. Formalin test. In Gebhart, G.F., Schmidt, Robert F. (Eds.) *Encyclopedia of Pain*. Springer Berlin Heidelberg; 2013.1303-08.
21. Sofiabad M, Heidari N, Ghasemi E, Esmaeili MH, Haghdoost-Yazdi H, Erami E, et al. Assessment of orexin receptor 1 in stress attenuated nociceptive behaviours in formalin test. *Physiol Pharmacol* 2011; 15(3): 395-402. [In Persian]
22. Valentino RJ, Van Bockstaele E. Endogenous opioids: the downside of opposing stress. *Neurobiol Stress* 2015; 1: 23-32. doi: 10.1016/j.ynstr.2014.09.006.
23. Guevara C, Fernandez AC, Cardenas R, Suarez-Roca H. Reduction of spinal PGE2 concentrations prevents swim stress-induced thermal hyperalgesia. *Neurosci Lett* 2015; 591: 110-4. doi: 10.1016/j.neulet.2015.02.035.
24. Holden JE, Naleway E. Microinjection of carbachol in the lateral hypothalamus produces opposing actions on nociception mediated by  $\alpha$  1-and  $\alpha$  2-adrenoceptors. *Brain Res* 2001; 911(1): 27-36. doi: 10.1016/S0006-8993(01)02567-7.
25. Heinricher M, McGaraughty S, Tortorici V. Circuitry underlying antiopioid actions of cholecystinin within the rostral ventromedial medulla. *J Neurophysiol* 2001; 85(1): 280-6. doi: 10.1152/jn.2001.85.1.280.
26. Azhdari-Zarmehri H, Semnanian S, Fathollahi Y. Orexin-A microinjection into the rostral ventromedial medulla causes antinociception on formalin test. *Pharmacol Biochem Behav* 2014; 122: 286-90. doi: 10.1016/j.pbb.2014.03.017.
27. Barragan-Iglesias P, Mendoza-Garces L, Pineda-Farias JB, Solano-Olivares V, Rodriguez-Silverio J, Flores-Murrieta FJ, et al. Participation of peripheral P2Y1, P2Y6 and P2Y11 receptors in formalin-induced inflammatory pain in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2015; 128: 23-32. doi: 10.1016/j.pbb.2014.11.001.
28. Haghparast A, Naderi N, Khani A, Lashgari R, Motamedi F. Formalin-induced differential activation of nucleus cuneiformis neurons in the rat: an electrophysiological study. *J Pain* 2010; 11(1): 32-43. doi: 10.1016/j.jpain.2009.05.005.
29. Yamato K, Kataoka T, Nishiyama Y,

- Taguchi T, Yamaoka K. Antinociceptive effects of radon inhalation on formalin-induced inflammatory pain in mice. *Inflammation* 2013; 36(2): 355-63. doi: 10.1007/s10753-012-9554-2.
30. Orru A, Casu MA, Tambaro S, Marchese G, Casu G, Ruiu S. *Withania somnifera* (L.) Dunal root extract alleviates formalin-induced nociception in mice: involvement of the opioidergic system. *Behav Pharmacol* 2016; 27(1): 57-68. doi: 10.1097/FBP.000000000000195.
31. Azhdari-Zarmehri H, Mohammad-Zadeh M, Feridoni M, Nazeri M. Termination of nociceptive behaviour at the end of phase 2 of formalin test is attributable to endogenous inhibitory mechanisms, but not by opioid receptors activation. *Basic Clin Neuro sci* 2014; 5(1): 48-54.
32. Fischer M, Carli G, Raboisson P, Reeh P. The interphase of the formalin test. *Pain* 2014; 155(3): 511-21. doi: 10.1016/j.pain.2013.11.015.
33. Potes CS, Neto FL, Castro-Lopes JM. Inhibition of pain behavior by GABA(B) receptors in the thalamic ventrobasal complex: effect on normal rats subjected to the formalin test of nociception. *Brain Res* 2006; 1115(1): 37-47. doi: 10.1016/j.brainres.2006.07.089.
34. Hough LB, Nalwalk JW, Yang W, Ding X. Significance of neuronal cytochrome P450 activity in opioid-mediated stress-induced analgesia. *Brain Res* 2014; 1578: 30-7. doi: 10.1016/j.brainres.2014.07.007.