

The Effect of Experimental Parkinson on Formalin-Induced Pain in Rat

Sofiabadi M; Haghdoost Yazdy H*

Department of Physiology, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

* Corresponding Author. Tel: 02813336001 Fax: 02813324971 E-mail: hhaghdoost@qums.ac.ir

Received: 27 Sep 2012 Accepted: 1 Aug 2013

ABSTRACT

Background & Objectives: Pain is one of the preceding claims of Parkinson's disease (PD), that its mechanisms have not been fully identified. The purpose of this study was to investigate the chemical pain responses induced by subcutaneous injection of formalin in male parkinsonized rats.

Method: In this experimental study, 40 Wistar male rats were used and PD was established by stereotaxic injection of 6-OHDA toxin into the striatum. Parkinson's disease severity determined by apomorphine-induced rotation test and then the pain response of 4 groups, the control, sham and 2 weak or full Parkinson groups, were evaluated using formalin test. Data were analyzed using ANOVA and Tukey test.

Results: In both acute and chronic phases of the formalin test, the symptoms of pain in different groups were same, but at the interphase stage, pain intensity increased more in Parkinson 's rats, especially in full PD group compared to control ($p<0.01$).

Conclusion: These results suggest that the nigrostriatal dopaminergic pathway have important modulating role on chronic pain.

Key words: Parkinson Disease; Pain; Formalin test; Rats

اثر پارکینسون تجربی بر درد القا شده با فرمالین در رت

محمد صوفی آبادی؛ هاشم حقدوست یزدی*

گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

*نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۸۱۳۳۳۶۰۸ فاکس: ۰۲۸۱۳۳۲۴۹۷۱ پست الکترونیک: hhaghdoust@qums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: درد یکی از شکایت های بیماری پارکینسون می باشد که مکانیسم آن بطور کامل شناسایی نشده است. هدف از این تحقیق بررسی نحوه پاسخ به درد شیمیایی درموش های پارکینسونی از طریق تزریق زیر جلدی فرمالین بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی از ۴۰ سر موش صحرایی نر استفاده گردید. با تزریق سم ۶-هیدروکسی دوپامین به استریاتوم، موش ها پارکینسونی شدند و شدت پارکینسون، بوسیله آزمون چرخش القاء شده با آپومرفین تعیین شد. سپس پاسخ به درد در ۴ گروه کنترل، شم و دو گروه پارکینسون ضعیف یا کامل با بکارگیری مدل تست فرمالین، بررسی گردید و داده ها با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی تحلیل شدند.

یافته ها: در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین، شدت درد در گروه های مختلف آزمون یکسان بود ولی در مرحله فاز میانی، شدت درد در موش های پارکینسونی شده بویژه در گروه پارکینسونی کامل بیشتر از گروه کنترل بود ($p < 0.01$).

نتیجه گیری: این نتایج نشان می دهد که احتمالاً مسیر دوپامینرژیک هسته جسم سیاه به استریاتوم در تعدیل درد مزمن اهمیت دارد.

کلمات کلیدی: بیماری پارکینسون؛ درد؛ آزمون فرمالین؛ موش های صحرایی نر

دریافت: ۹۱/۷/۸ پذیرش: ۹۲/۵/۱۰

مقدمه

پارکینسون از گروه بیماری های تحلیل برنده دستگاه خارج هرمی است که بعد از بیماری آلزایمر در دومین رده از این دست بیماری ها قرار دارد در پارکینسون سلولهای هسته جسم سیاه واقع در مغز میانی به تدریج از بین می روند و دوپامین مغز که توسط آنها ساخته می شود کاهش می یابد [۱]. افراد مبتلا به پارکینسون به اختلالات حرکتی و لرزش مبتلا می شوند و این بیماری در نهایت می تواند به فلج و نهایتاً مرگ منجر شود. عوامل اصلی خطر ساز برای ابتلا به پارکینسون هنوز شناخته نشده است اما برخی مطالعات نشان می دهند که تشکیل رادیکالهای آزاد در میتوکندری و واکنش های متابولیسمی از عواملی است که منجر به مرگ سلول و ایجاد بیماری می شود. اگر چه نشان داده شده است که عوامل

ژنتیکی در ایجاد این بیماری موثر می باشند لکن در ۹۵٪ موارد عامل ژنتیکی مشخصی شناسایی نشده است [۳ و ۲]. درد از عوارضی است که براحتی در بیماری پارکینسون قابل شناسایی بوده و در بعضی از مبتلایان موجب ناتوانی جدی شده و بر کیفیت زندگی اثر منفی می گذارد. البته شکل درد در این مبتلایان مختلف بوده که بر اساس نوع درمان متفاوتی را هم می طلبد. عمده درمان ها شامل تجویز دارو و یا جراحی است. یکی دیگر از این روش ها تحریک هسته عمقی ساب تالامیک می باشد [۴]. تحقیقات جدید نشان داده که هسته های قاعده ای نه تنها در کنترل حرکتی نقش دارند بلکه در بروز احساسات، یادگیری، تصمیم گیری و نیز پردازش حس درد هم تاثیر گذار هستند [۵].

روش کار

در این مطالعه تجربی که در سال ۹۲-۱۳۹۱ در دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد از ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شد. موش ها در حیوانخانه دانشگاه تحت شرایط ۱۲ ساعت تاریکی/۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شده و به آب و غذا به صورت نامحدود دسترسی داشتند. حیوانات به ۴ گروه ده تایی تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه شم و ۲ گروه تیمار. موش های گروه تیمار و شم با تزریق مخلوط کتامین و زایلازین (به ترتیب ۱۰۰ و ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلو وزن درون صفاقی) بیهوش شده و به گروه های تیمار ۶ میکرولیتر از محلول سالین حاوی ۲٪ اسید اسکوربیک که در سم ۶- هیدروکسی دوپامین حل شده بود با غلظت ۲/۵ میکرو گرم در هر میکرو لیتر بوسیله سرنگ ها میلون و از طریق جراحی استریوتاکسی به ناحیه چپ استریاتوم با مختصات ۲/۹ میلی متر در محور قدامی خلفی، ۳/۱ میلی متر در محور میانی جانبی از مرکز خط بین گوشی و ۶ میلی متر در محور پشتی شکمی از سطح جمجمه بر اساس اطلس پاکسینوز و واتسون [۱۰] تزریق گردید و گروه شم فقط حلال دریافت نمود. سم ۶- هیدروکسی دوپامین در عرض چند روز سبب تخریب نورون های هسته جسم سیاه گردیده و بیماری پارکینسون را در موشها ایجاد می نماید. دو هفته پس از جراحی، بوسیله آزمون های چرخش القاء شده با آپومرفین (آگونیست گیرنده های دوپامین) شدت پارکینسون مورد ارزیابی قرار گرفت. موش ها پس از تزریق آپومرفین چرخش های مکرری را به طرف مقابل تزریق (راست) نشان می دهند که تعداد این چرخش ها در واحد زمان نشان دهنده شدت تخریب نورونی در جسم سیاه و شدت بیماری پارکینسون میباشد [۱۱].

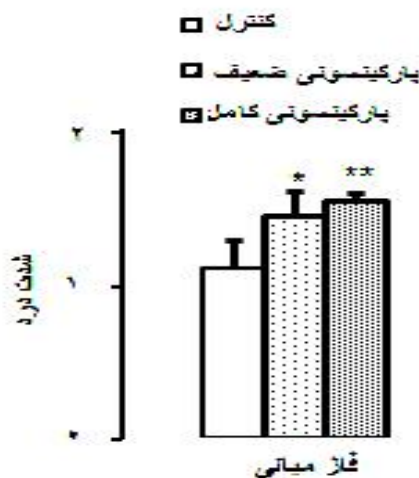
در این تحقیق موش هایی به عنوان موش های پارکینسونی ضعیف در نظر گرفته می شدند که بر

شواهد نورواناتومیک نشان می دهد که اطلاعات درد ممکن است از طریق مسیرهای مختلف به عقده های قاعده ای برسند از جمله پروژکشن های قشر حسی پیکری به جسم مخطط و مسیر نخاعی تالاموسی، که بطور جانبی با جسم سیاه و جسم مخطط ارتباط دارد و نیز بوسیله پروژکشن های متقاطع بین تالاموس میانی و جسم مخطط. در این راستا مطالعات الکتروفیزیولوژیک نشان داده اند که سلول های عصبی در عقده های قاعده ای به محرک های حسی پاسخ می دهند و نورون جسم سیاه و جسم مخطط به محرک های مکانیکی و یا آسیب رسان دو طرفه با میدان گیرندگی بزرگ پاسخ می دهند. علاوه بر این، مطالعات تصویر برداری سیستم عصبی نشان داده اند که گیرنده های D2 دوپامینی جسم مخطط در تعدیل درد نقش بارزی دارند [۷۶].

علل افزایش شکایات درد در بیماران پارکینسونی متعدد است و احتمالا حدود ۳۰ تا ۵۰ درصد آن ها درد را عنوان می کنند علاوه بر آسیب های عصبی، دفورمیتی و آرتروز مفصلی هم باعث بروز دردهای اسکلتی عضلانی می شود که شاخص ترین آن ها درد شانه و کمر می باشد. علاوه داشتن جنس مونث، افزایش سن و مدت بیماری، وجود بیماری های مزمن و متابولیک مانند استئوپروز و رماتیسم و بیماری افسردگی احتمال تجربه این گونه از درد ها را بیشتر می کند [۹۸]. با توجه به افزایش شکایت از درد در بیماران پارکینسونی نسبت به همسالان غیرپارکینسونی خود به نظر می رسد که این پردردی با سیستم دوپامینرژیک مغز هم مر بوط باشد. از آنجایی که هنوز بطور کامل تغییرات ساز و کار حس درد در بیماران پارکینسونی شناسایی نشده است، در این تحقیق پاسخ به درد شیمیایی ناشی از تزریق زیر جلدی فرمالین در موش های پارکینسونی شده تجربی نر مورد بررسی قرار گرفت.

از شلوعی و سردرد کمی از نمایش گروه شم در شکل ها صرف نظر گردید.

علائم درد در فاز حاد و مزمن آزمون فرمالین در گروه های آزمایش نسبت به گروه کنترل و شم نیز تفاوت آماری قابل ملاحظه ای نداشت. ولی در مرحله فاز میانی آزمون، رفتارهای دردآور در موش های پارکینسونی ضعیف ($p < 0.05$) و پارکینسونی کامل، بطور چشمگیری افزایش یافت که در گروه پارکینسونی کامل اهمیت بیشتری داشت ($p < 0.01$) (شکل ۲).



شکل ۱. مقایسه میزان درد در گروه های آزمون. در فاز میانی آزمون فرمالین میزان درد در گروه های پارکینسونی بطور معنی داری افزایش یافت. $p < 0.05 = *$, $p < 0.01 = **$ در مقایسه با گروه کنترل. (هر نقطه بیانگر $\text{mean} \pm \text{SEM}$ برای ۱۰ سر موش در هر گروه می باشد)

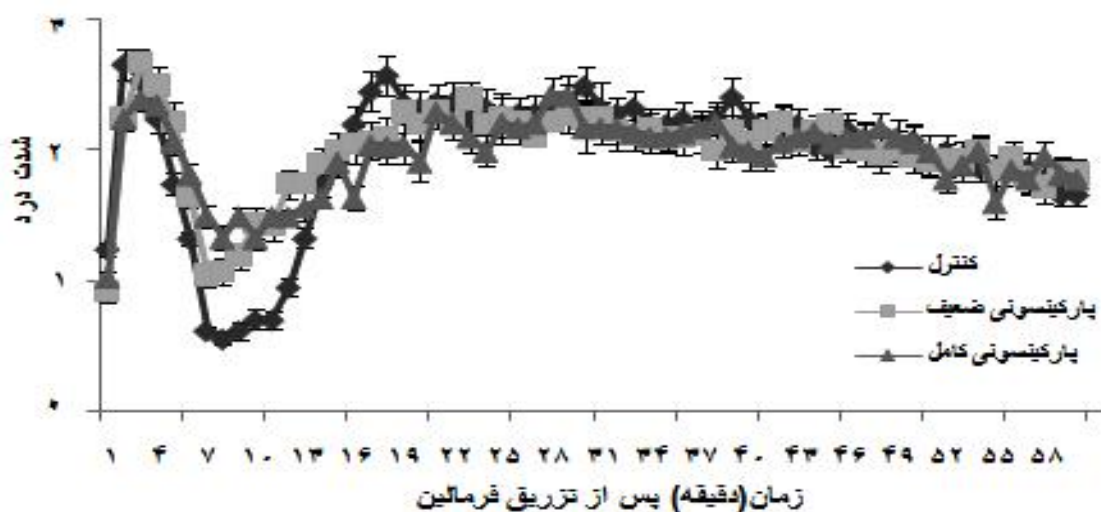
بحث

در مطالعه حاضر تاثیر تزریق فرمالین بر کیفیت حس درد در موش های پارکینسونی شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان بروز علائم درد در موش های پارکینسونی طی دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین، تفاوتی با گروه کنترل نداشت ولی میزان درد در مرحله فاز میانی در موش های پارکینسونی افزایش یافت که شدت آن در موش های کاملاً پارکینسونی شده به مراتب

اساس نمره ۳۰-۵۰ چرخش خالص در یک ساعت در خلاف جهت تزریق سم نشان می دادند و موش هایی که بیش از ۵۰ چرخش در یک ساعت در خلاف جهت تزریق سم داشتند در گروه موش های پارکینسونی کامل قرار گرفتند. آنگاه با بکارگیری مدل تست فرمالین (تزریق ۴۰ میکرولیتر محلول فرمالین ۲/۵٪ به زیر پوست کف پای راست حیوان)، پاسخ به درد در گروه کنترل، شم و ۲ گروه موش های پارکینسونی ضعیف و کامل بمدت ۶۰ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. نحوه نمره دهی به رفتار درد بدین صورت بود که: (۰- نگهداشتن وزن بطور مساوی روی دو پا، ۱- لنگش هنگام راه رفتن یا گذاشتن ناخن به کف، ۲- بالا نگهداشتن پنجه تزریق شده و ۳- گاز گرفتن یا لیسیدن پنجه تزریق شده [۱۱و۱۰]). مشاهده رفتار درد هر ۱۵ ثانیه و درکل بمدت یک ساعت پس از تزریق فرمالین انجام و اطلاعات به دست آمده برای هر موش به طور میانگین محاسبه شد. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و تست توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها

تزریق فرمالین سبب رفتارهای دردآور شد که در بازه زمانی ۶۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین مشاهده شدند، این رفتارها از دو فاز تشکیل شده است که این دو فاز توسط فاز میانی (اینترفاز) از هم جدا می شوند فاز اول از دقیقه صفر تا هفت می باشد. بعد از فاز اول اغلب رفتارهای دردآور کاهش پیدا می کند (فاز میانی از دقیقه ۸ تا ۱۴). سپس فاز دوم شروع می شود (از دقیقه ۱۵ تا ۶۰) که شدت درد در ابتدا افزایش و معمولا در اواخر این مرحله کم می شود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که رفتارهای دردآور در فاز یک (حاد) و دو (مزمن) و فاز میانی آزمون فرمالین در گروه های کنترل و شم تقریباً مشابه بوده و تفاوت آماری نداشت. لذا برای پرهیز



شکل ۲. مقایسه الگوی درد در گروه های مورد آزمایش در ۶۰ دقیقه آزمون فرمالین. (هر نقطه بیانگر $\text{mean} \pm \text{SEM}$ برای ۱۰ سر موش در هر گروه می باشد)

بیشتر بود. یافته های حاضر که با آزمون فرمالین و تخریب نورون های ترشح کننده دوپامینی استریاتوم صورت گرفت هم جهت با نتایج مطالعات متعددی است که نقش تعدیلی دوپامین را بر درد با استفاده از آزمون های دیگر نشان داده اند. امروزه در مطالعات رفتاری و الکتروفیزیولوژی بطور وسیعی از فرمالین به عنوان یک محرک در دوز استفاده می شود. آزمون فرمالین یک روش ارزشمند و مدل مناسب برای سنجش و ارزیابی درد مداوم و پایدار ناشی از یک محرک شیمیایی می باشد و از سوی دیگر می توان اثرات درد حاد را نیز در طیف فاز نخست این تست بررسی کرد [۱۴-۱۲]. در گذشته مرحله فاز میانی به عنوان یک مرحله مهارتی غیر فعال شناخته می شد و شاید به همین علت چندان مورد توجه قرار نمی گرفت لیکن در سال های اخیر نشان داده شده است که مرحله فاز میانی اهمیت مخصوصی داشته و یک مرحله غیر فعالی نیست بلکه بصورت فعال و عمل بخشی از سیستم عصبی ایجاد شده و بطور درونزاد متوقف کننده درد می باشد. برای مثال فرانکلین و همکاران وی در مطالعه ای نشان دادند که تجویز پنتوباریتال سبب مهار بی

دردی مرحله فاز میانی شده و لذا پیشنهاد کردند که آگونیست های گابا A سبب بروز درد در این مرحله می شوند [۱۵]. همچنین هنری و همکاران وی نیز مشاهده کردند که تزریقات متوالی فرمالین به کف پای موش ها سبب کاهش ثانویه رفتارهای درد پس از تزریق اول آن می شود در حالی که انتظار می رفت با افزایش غلظت فرمالین در محل، درد تشدید یابد بنابراین یافته ها وجود مکانیسم های مهارتی فعال سرکوب کننده سیگنال های درد که سبب کاهش درد در مرحله فاز میانی می شود قطعی به نظر می رسد و ممکن است این مکانیسم به سیستم اویپوئیدی که از مناطق فوق نخاعی منشأ می گیرد وابسته نباشد و بصورت پایین رو درد را در مناطق مختلف سیستم انتقال، مثل مسیرهای نخاعی مهار سازند [۱۶]. در همین زمینه نشان داده شده که مرحله فاز میانی موش های ماده از موش های نر متفاوت می باشد و مهم ترین علت این اختلاف آن است که هورمون استروژن به عنوان اصلی ترین هورمون جنسی حیوانات ماده بر نوروترانسمیترهای مغزی دخیل در حس درد بویژه دوپامین تاثیر گذار می باشد [۱۷].

دست نخورده مانده بوده یا ناحیه تزریق آگونیزست و یا آنتاگونیزست های دوپامینی متفاوت بوده است. همچنین روش سنجش درد نیز یکسان نبوده است در همین زمینه باید اذعان نمود که روش نمره دهی به علایم درد در آزمون فرمالین از اعتبار بیشتری نسبت به شمارش دفعات جمع کردن پشت برخوردار است [۱۲-۱۴]. از سوی دیگر اثر گذاری بر هر بخش از سیستم دوپامینرژیک مغز نیز ممکن است پاسخ متفاوت و گاه متناقضی را بروز دهد که ناشی از تاثیر متفاوت بر مکانیسم های مسیرهای انتقال درد و یا سیستم های سرکوبگر فیزیولوژیک درد در مغز و نخاع باشد. بیماری پارکینسون ماهیت تخریبی چند کانونی، رو به توسعه دارد و با چندین مکانیسم و در چندین نقطه از بدن فرایند انتقال و درک درد را درگیر می سازد که تخریب لایه یک شاخ خلفی نخاع و هسته رافه نمونه هایی از آن هستند [۲۴ و ۲۵].

نتیجه گیری

مطالعه حاضر اهمیت سیستم دوپامینی مغز را بر تعدیل درد شیمیایی نشان داد و احتمالا مسیرهای دوپامینرژیک با منشا ماده سیاه به جسم مخطط نقش مهمی را در تعدیل درد التهابی و شیمیایی ایفا می کنند. البته در بیماران پارکینسون به علت سفتی عضلانی و تغییر در وضعیت اسکلتی و تعادلی بدن، میزان تولید درد هم در مقایسه با افراد سالم افزایش می یابد لذا نباید احتمال دخالت سایر مکانیسم های عصبی و یا حالات روحی روانی را در افزایش احساس درد در این بیماران از نظر دور داشت.

تشکر و قدردانی

از شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و دانشکده پزشکی قزوین جهت همکاری در اجرای این پژوهش قدردانی می نمایم.

در تحقیق دیگری که تاثیر تزریق آگونیزست های دوپامینی D1, D2 در ناحیه بطنی جانبی قشر ارییتال موش ها بر درد مورد بررسی قرار گرفت نشان داده شد که تجویز آگونیزست غیر اختصاصی دوپامینی آپومرفین سبب کاهش درد مرحله دوم آزمون فرمالین می شود که با دادن آنتاگونیزست D2 این اثر تضعیف، ولی آنتاگونیزست D1 دوپامینی تاثیری ندارد [۱۸]. لذا همه این گزارشات بر نقش سیستم دوپامینی بر کاهش انتقال درد در مسیرهای عصبی تا درک آن در قشر حسی پیکری و نواحی زیر قشری تاکید می کند و هم راستا با نتایج مطالعه حاضر می باشد. البته گزارشات متناقضی هم در این زمینه وجود دارد برای مثال تاسورلی و همکارانش دریافتند که تزریق فرمالین به کف پای راست موش ها موجب افزایش تجمعی تعداد دفعات جمع کردن پشت و تکانش پای تزریق شده می شود که نشانه کاهش آستانه درد و پردردی در بیماری پارکینسون است [۱۹] ولی پروتا و همکارانش با بررسی حساسیت به درد با آزمون جمع کردن دم بدنبال تحریک دردناک آن به این نتیجه رسیدند که میزان تاخیر در پاسخ به درد افزایش می یابد که نشانه افزایش آستانه درد است [۲۰]. همانطور که ذکر شد مطالعات متعددی اثر تعدیلی سیستم دوپامین را بر درد نشان داده اند و نواحی متعدد آناتومیک مغز مانند ناحیه لیمبیک قدامی، هسته آکومبنس، ناحیه جانبی پشتی استریاتوم و شکنج زاویه ای قشر اینسولا [۲۱-۲۳] در آن درگیر می باشند. در مطالعه حاضر نورون های آوران از جسم سیاه به ناحیه جسم مخطط با تزریق سم تخریب شدند که این فرایند بر درد ناشی از تزریق فرمالین فقط در فاز میانی موثر بود ولی بر فاز حاد و یا مزمن آن تفاوتی نداشت که احتمال تفاوت نتیجه بررسی حاضر با گزارشات مورد اشاره در این است که در مطالعات دیگران اغلب نورون های دوپامینرژیک استریاتوم تخریب نشده و

References

- 1- Chuang C, Su H, Cheng F, Hsu SH, Chuang CF, Liu CS. Quantitative evaluation of motor function before and after engraftment of dopaminergic neurons in a rat model of Parkinson's disease. *J Bio Sci.* 2010 Feb; 17(13):9.
- 2- Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron.* 2003 Sep; 39: 889-909.
- 3- Kim HJ, Jeon BS, Paek SH. Effect of deep brain stimulation on pain in Parkinson disease. *J Neurol Sci.* 2011 Nov; 310(1-2):251-5.
- 4- Juri MC, Rodriguez O, Obese JA. The pathophysiological basis of sensory disturbances in Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 2010 Feb; 289: 60-65.
- 5- Obeso JA, Marin C, Rodriguez O, Blesa J, Benitez BT, Mena JS. The basal ganglia in Parkinson's disease: current concepts and unexplained observations. *Ann Neurol.* 2008 Dec; 64: 30-46.
- 6- Defazio G, Gigante A, Mancino P, Tinazzi M. The epidemiology of pain in Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 2013 Apr; 120(4): 583-6.
- 7- Truini A, Frontoni M, Cruccu G. Parkinson's disease related pain: a review of recent findings. *J Neurol.* 2013 Jan; 260(1): 330-4.
- 8- Fil A, Cano-de-la-Cuerda R, Munoz-Hellín E, Vela L, Ramiro-Gonzalez M, Fernandez-de-Las-Penas C. Pain in Parkinson disease: a review of the literature. *Parkinsonism Relat Disord.* 2013 Mar; 19(3):285-94.
- 9- Kim YE, Jeon BS. Musculoskeletal problems in Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 2013 Apr; 120(4): 537-42.
- 10- Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates, Vol: 2. San Diego: Academic Press, 1998: 143.
- 11- Fujita M, Nishino H, Kumazaki M, Shimada S, Tohyama M, Nishimura T. Expression of dopamine transporter mRNA and its binding site in fetal nigral cells transplanted into the striatum of 6-OHDA lesioned rat. *Mol Brain Res.* 1996 Jul; 39 (1-2):127-36.
- 12- Mohajjel Nayebi A, Rezazadeh H. Involvement of serotonergic mechanism in analgesia by castration and flutamide, a testosterone antagonist, in the rat formalin test. *Pharmacol Biochem Behav.* 2004 Jan; 77(1): 9-14.
- 13- Ray M, Medira PK, Mahajan P, Sharma KK. Evaluation of the role of melatonin in formalin-induced pain response in mice. *Indian J Med sci.* 2004 Mar; 58(3):122-30.
- 14- Hunskaar S, Hol K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain.* 1987 Jul; 30: 103-114.
- 15- Franklin KB, Abbott FV. Pentobarbital, diazepam, and ethanol abolish the interphase diminution of pain in the formalin test: evidence for pain modulation by GABAA receptors. *Pharmacol Biochem Behav.* 1993 Nov; 46(3):661-6.
- 16- Henry JL, Yashpal K, Pitcher GM, Coderre TJ. Physiological evidence that the 'interphase' in the formalin test is due to active inhibition. *Pain.* 1999 Jul; 82(1): 57-63.
- 17- Gaumond I, Arsenault P, Marchand S. Specificity of female and male sex hormones on excitatory and inhibitory phases of formalin-induced nociceptive responses. *Brain Res.* 2005 Aug; 1052(1):105-11.
- 18- Tassorelli C, Armentero MT, Greco R, Fancellu R, Sandrini G, Nappi G, et al. Behavioral responses and Fos activation following painful stimuli in a rodent model of Parkinson's disease. *Brain Res.* 2007 Oct; 1176: 53-61.
- 19- Perrotta A, Serrao M, Bartolo M, Valletta L. Abnormal head nociceptive withdrawal reaction to facial nociceptive stimuli in Parkinson's disease. *Clin Neurophysiol.* 2005 Sep; 116: 2091-2098.
- 20- Dang YH, Xing B, Zhao Y, Zhao XJ, Huo FQ, Tang JS, et al. The role of dopamine receptors in ventrolateral orbital cortex-evoked antinociception in a rat formalin test model. *Eur J Pharmacol.* 2011 Apr; 657(1-3): 97-103.

- 21- Taylor BK, Taylor CJ, Uppal H. Stimulation of dopamine D2 receptors in the nucleus accumbens inhibits inflammatory pain. *Brain Res.* 2003; 987: 135-143.
- 22- Coffeen U, Coffeen A, Lopez A, Ortega JM, Angel R, Pellicer F. Dopamine receptors in the anterior insular cortex modulates long-term nociception in the rat. *Eur J Pain.* 2008 Jul; 12: 535-543.
- 23- Koyanagi S, Himukashi K, Mukaida TS, Fukuda K. Dopamine D2-like receptor in the nucleus accumbens is involved in the antinociceptive effect of nitrous oxide. *Aneth Analg.* 2008 Jun;106: 1904–1909.
- 24- Nolano M, Provitera V, Estraneo A, Selim MM, Caporaso G, Stancanelli A, et al. Sensory deficit in Parkinson's disease: evidence of a cutaneous denervation *Brain.* 2008 Jul; 131: 1903–1911.
- 25- Gebhart GF. Descending modulation of pain. *Neurosci Biobehav Rev.* 2004 Jan; 27: 729–737.