IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران

۱ (۳)، ۱۵۷- ۱۴۸ پاییز ۱۳۹۶

مقاله پژوهشی

درد حاد و آلودینیای ناحیه صورت در موش های صحرایی نر متعاقب اختلال بعد از تروما

مرجان نیک‌بخت‌زاده[۱]، وحید شیبانی[۱و۲*]، غلامرضا سپهری[۱و۲]، مسعود ناظری[۲]، خدیجه اسماعیل پور[۲]، محمد رضا آفرینش[۲]

۱. گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان
۲. مرکز تحقیقات علوم اعصاب و نورو فارماکولوژی، گروه فیزیولوژی، کرمان

دریافت: ۳ خرداد ۹۴ پذیرش: ۲۳ آذر ۹۴

چکیده

مقدمه: علائم اختلال بعد از تروما (Posttraumatic stress disorder = PTSD) و درد می تواند به طور مکرر به دنبال یک حادثه تروماتیکی در فرد بروز نماید. اگر چه در شرایط استرس حاد، ادراک درد به طور قابل توجهی در اثر استرس پوشیده می شود، مطالعات کمی در رابطه با تغییرات ادراک درد در شرایط استرس ناشی از PTSD در صورت وجود دارد. در مطالعه حاضر، تغییرات درد حاد و آلودینیا ی ناحیه صورت موش صحرایی در مدل حیوانی PTSD مورد بررسی قرار می گیرد.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۹۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد. موش های صحرایی به دو دسته کنترل و استرس تقسیم بندی شدند. بعد از ایجاد PTSD به روش SPS (Single Prolonged Stress) در گروه استرس، و تایید ایجاد SPS به روش ارزیابی رفتاری ماز بعلاوه و سنجش کورتیکوسترون پلاسما، درد حاد و آلودینیا در ناحیه صورت توسط آزمون مالش چشم (Eye wiping) و وون فری مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: تعداد ورود و زمان سپری شده در بازوی باز ماز بعلاوه در گروه استرس نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد ($p < ۰/۰۵$). میزان کورتیکوسترون بعد از تزریق دگزامتازون، در گروه استرس + دگزامتازون درمقایسه با گروه کنترل + دگزامتازون به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < ۰/۰۵$). تعداد مالش چشم در گروه استرس، در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد ($p < ۰/۰۰۱$). آستانه پاسخ در اثر اعمال فیلامان های وون فری، در صورت موش صحرایی گروه استرس، در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار نشان داد ($p < ۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که در شرایط استرس ناشی از SPS، ادراک درد حاد و آلودینیای ناحیه صورت کاهش می یابد. احتمالا، افزایش اپیوئیدهای اندوژن درشرایط PTSD، سبب کاهش ادراک درد ناحیه صورت موش های صحرایی می‌شود.

واژه‌های کلیدی : PTSD، درد حاد و آلودینیا، صورت موش صحرایی، کورتیکوسترون، ماز بعلاوه

مقدمه

بر اساس معیار (diagnostic statistical manual of mental disorder 4th–edition) DSM-IV، PTSD (post traumatic stress disorder) یک اختلال اضطرابی محسوب می‌شود و زمانی که فرد در برابر عوامل تهدیدکننده زندگی قرار می‌گیرد، علائم آن در فرد ظاهر می شود که شامل: تجربه مجدد (re–experiencing)، پرهیز (avoidance)، کرختی عاطفی (emotional numbing) و بیش انگیختگی (hyperarousal) می باشد. اگر این علائم بین یک تا سه ماه طول بکشد، PTSD حاد و اگر بیش از سه ماه طول بکشد، PTSD مزمن دسته بندی می‌شود [۱]. شیوع مادام العمر PTSD در جامعه ۸٪ تخمین زده شده است که این مقدار در زنان۱۰٪ و در مردان ۵٪ است [۲]. مدل‌های حیوانی مختلفی برای اعمال PTSD وجود دارد از جمله: SPS (Single prolonged stress) شامل ۲ ساعت Restrainer، ۲۰ دقیقه شنا، ۱۵ دقیقه استراحت و سپس بی‌هوشی با

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: vsheibani2@yahoo.com
وبگاه مجله: http://ijpp.phypha.ir
پست الکترونیکی: ijpp@phypha.ir

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

دی اتیل اتر)، (chronic acute prolonged stress [CAPS]) ۲۰ دقیقه دوری از مواجهه با حیوانات هم نوع (social defeated stress)، ۳۰ دقیقه بی‌حرکتی و ۱۰ دقیقه شنا، و انواع دیگرآن شامل: شوک الکتریکی، شنای اجباری در زیر آب و قرار دادن حیوان در مواجهه با شکارچی و یا بوی آن است [۳]. PTSD به رفتار استرسی و اضطرابی منجر می‌شود که می تواند تغییراتی در محورHPA ایجاد کند [۳].

مشخص شده است که متعاقب (post traumatic stress) PTS افسردگی و ناتوانی بوجود می‌آید که می تواند میزان ادراک درد را تحت تاثیر قرار دهد [۱]. درد به عنوان یک تجربه ناخوشایندی است که با یک آسیب بافتی همراه است [۴]. درد حاد و آلودینیا دو دسته درد با منشا متفاوت هستند. درد حاد دردی است که بوسیله یک بیماری یا آسیب خاص بوجود می آید و آلودینییا دردی است که در پاسخ به یک محرک غیر درد زا همچون آفتاب سوختگی ایجاد می شود [۴].

Zhang و همکارانش (۲۰۱۲) نشان دادند که در اثر استرس ۲۸ روزه SPS، علاوه بر تاخیر در عقب کشیدن اندام عقبی موش صحرایی در آزمون اشعه مادون قرمز، آستانه پاسخ گویی نسبت به منوفیلامان‌های الکتریکی وون فری نیز کاهش می یابد [۵]. Roca و همکارانش (۲۰۱۴) نیز نشان دادند که بعد از استرس شنای اجباری، در آزمون Hot plate، هیپر آلژزیا ایجاد می شود [۶]. برعکس، Berry و همکارانش (۲۰۱۴) نشان دادند که در استرس دوری از مواجهه با حیوانات هم نوع، آستانه درد در آزمون hot plate در اندام عقبی و جلویی موش صحرایی افزایش یافته و درد کاهش می‌یابد [۷].

یکی از انواع دردها، درد در ناحیه صورت است و اختلال تمپورو ماندیبولار (TMD) به عنوان یکی از مهمترین آسیب‌ها و اختلالات صورت می‌باشد که به دو دسته مفصلی و عضلانی تقسیم می شود و از نمونه‌های آن می‌توان به درد در مفاصل (TMJ [Temporomandibular joint disorder]) و یا عضلات جویدن اشاره کرد [۸]. De leeuw و همکارانش (۲۰۰۵) گزارش دادند که ۵۰٪ از بیماران با اختلال TMD مزمن، حداقل یکی از علائم استرس ناشی از تروما را تجربه کرده‌اند [۹].

اگرچه در مطالعات قبلی نشان داده شده که استرس SPS می‌تواند آستانه درد حرارتی و درد مکانیکی را در اندام عقبی موش های صحرایی تغییر دهد [۵]، بر اساس دانش ما تاکنون مطالعه ای در زمینه استرس PTSD از نوع SPS بر آستانه درد حاد و آلودینیای ناحیه صورت با آزمون مالش چشم و آزمون وون فری انجام نشده است. با توجه به تفاوت‌های آناتومیک و فیزیولوژیک در ادراک درد اندام ها با نواحی سر و گردن [۱۰]، در مطالعه حاضر، تغییرات آستانه درد حاد و آلودینیا در صورت موش صحرایی تحت استرس SPS مورد مطالعه و بررسی قرار می گیرد.

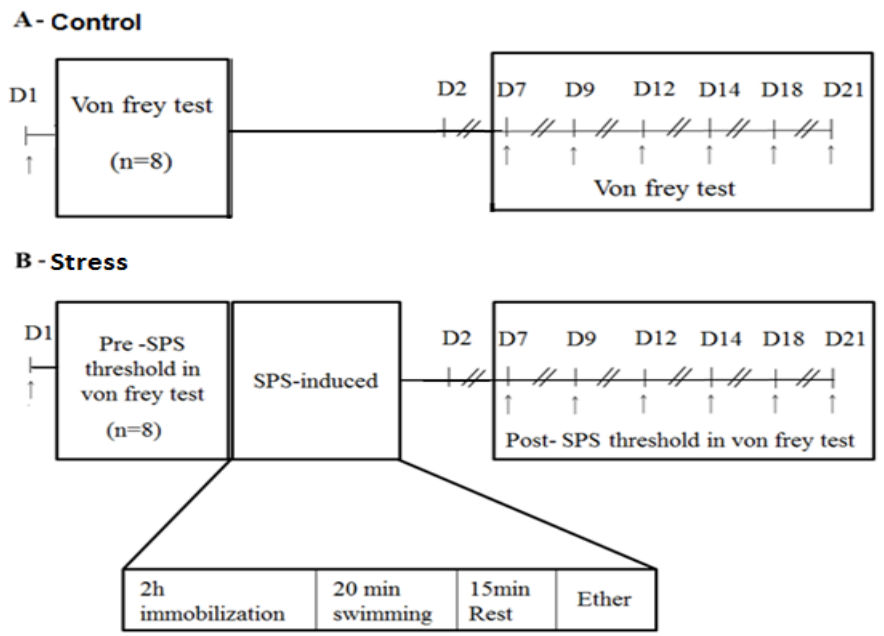
مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر، از ۹۵ عدد موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن حدود ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. موش‌های صحرایی در خانه حیوانات مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان با سیکل های متوالی ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی با دسترسی آزادانه به آب و مواد غذایی نگه داری می شدند. تمام آزمایشات بر اساس قواعد بین المللی مرتبط با مطالعه‌ی درد انجام شد و در طی آزمایشات مختلف کمترین آسیب به حیوان زده می شد. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی کرمان انجام شد.

ایجاد PTSD

موش های صحرایی به طور تصادفی به دو گروه کنترل و گروه استرس ناشی از SPS تقسیم شدند. در گروه استرس، حیوانات ابتدا در یک مقید کننده پلاستیکی شفاف به مدت ۲ ساعت قرار داده می شدند و سپس آن ها به مدت ۲۰ دقیقه مجبور به شنا در یک استخر آبی پلاستیکی سیلندری شکل شفاف (با دمای ۲۴ سانتی گراد) با ارتفاع ۵۰ سانتی متر و قطر۲۴ سانتی متر شدند. ۱۵دقیقه پس از شنا، حیوانات بوسیله دی اتیل اتر (Merck آلمان) بی هوش شدند و دوباره به قفس بر گردانده شدند تا به هوش آیند. حیوانات سپس به مدت ۷ روز به صورت انفرادی در قفس های جداگانه ایزوله شدند [۳] (شکل ۱). تمامی آزمایشات مربوط به ایجاد مدل PTSD بین ساعت ۱۰ صبح تا ۳ بعد از ظهر انجام شد.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]



شکل ۱– پروتکل آزمایش مربوط به آزمون وون فری در گروه های کنترل (A) و استرس ناشی از SPS (B) و نحوه ایجاد و القای استرس SPS در این گروه.

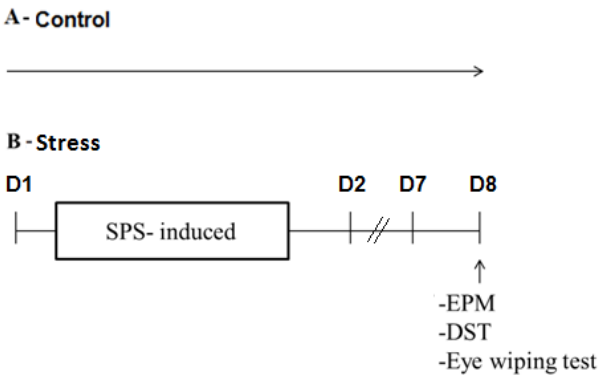
آزمون ماز بعلاوه مرتفع

جهت تایید ایجاد PTSD در موش‌های گروه استرس، آزمون ماز بعلاوه مرتفع و آزمایش سرکوب دگزامتازون انجام گردید . ماز بعلاوه از دو بازوی بسته و دو بازوی باز تشکیل شده است که ابعاد بازوی باز آن (۱۰ × ۵۰ سانتی متر) و بسته آن (۵۰ × ۱۰ × ۴۰ سانتی متر) است و پایه های ماز ۴۰ سانتی متر از زمین فاصله دارد. میزان نور روی دستگاه ۵۵–۴۰ لوکس می باشد. حیوانات ابتدا در داخل ماز رو به بازوی باز قرارداده می شدند و حرکات هر حیوان در بازو ها بوسیله یک دوربین که در بالای ماز روی مرکز ماز نصب شده است، به مدت ۵ دقیقه فیلم برداری می‌شد و متغیر های وابسته ذیل ثبت می گردید: ۱) فرکانس ورود به بازوی باز و بسته ۲) زمان سپری شده در بازوی باز و بسته ۳) مسافت طی شده در بازوی بازو بسته. در ضمن ورود به یک بازو زمانی در نظر گرفته می شدکه حیوان با ۴ اندام خود در آن قرار می گرفت [۵]. پس از ورود هر حیوان برای تکرار بعدی ماز با الکل ضد عفونی می‌شد. تمامی آزمایش در ساعت۰۰ : ۰۹ تا ۳۰ :۱۰ صبح انجام شد. تعداد ۸ عدد از موش‌های گروه کنترل و گروه استرس در این آزمون مورد آزمایش قرار گرفتند. پروتکل آزمایش مربوط به آزمون ماز بعلاوه مرتفع (EPM) در گروه های کنترل و گروه ناشی از SPS در شکل ۲ نشان داده شده است.

اندازه گیری غلظت کورتیکوستورون پلاسما (آزمایش سرکوب دگزامتازون)

در این قسمت نیز موش های صحرایی به دو طور تصادفی به گروه کنترل و گروه استرس ناشی از SPS تقسیم شدند. در دو زیر گروه جداگانه کنترل + دگزامتازون (n = ۶) و استرس + دگزامتازون (n = ۸)، دگزامتازون (دارو پخش، ایران) با دوز ۰/۰۵mg/kg در ساعت ۸ صبح به صورت زیر جلدی تزریق می شد و در ساعت ۲ بعد از ظهر نمونه خون جمع آوری گردید. در زیر گروه های جداگانه دیگر نیز خون موش های گروه های کنترل + سالین (n = ۸) و استرس+سالین (n = ۷) جمع آوری شده و پلاسمای بدست آمده در دمای۸۰– درجه سانتی گراد نگهداری می شد. لازم به ذکر است که در گروه کنترل + سالین و گروه استرس + سالین در ساعت ۸ صبح نرمال سالین (هم حجم با دگزامتازون) به صورت زیر جلدی تزریق می شد. رآس ساعت ۲ بعد از ظهر سر حیوان جدا شده و خون حیوان در یک لوله آزمایش حاوی مادهی EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) (Merck آلمان) به عنوان ماده ضد انعقاد و ضد تخریب کورتیکوستورون جمع‌آوری می‌شد. خون به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و پلاسما جدا شد. میزان غلظت کورتیکوستورون پلاسما هر حیوان با استفاده از کیت کورتیکوستورون (Bendermed استرالیا) برحسب نانوگرم

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]



شکل ۲- پروتکل آزمایش‌های مربوط به آزمون ماز بعلاوه مرتفع (EPM)، اندازه‌گیری غلظت کورتیکوسترون خون و آزمایش سرکوب دگزامتازون (DST) و آزمون مالش چشم (Eye wiping) در در گروه‌های کنترل (A) و استرس ناشی از SPS (B).

در هر میلی لیتر با روش رادیوایمونواسی سنجیده شد [۵]. پروتکل روش کار آزمایش‌های مربوط به اندازه‌گیری غلظت کورتیکوسترون پلاسما و آزمایش سرکوب دگزامتازون (DST) در گروه های کنترل و استرس ناشی از SPS در شکل ۲ نشان داده شده است.

آزمون مالش چشم (Eye wiping test)

در تعدادی از موش‌های گروه کنترل و گروه استرس میزان درد چشم به روش آزمون مالش چشم مورد مطالعه قرار گرفت (n = ۸). پروتکل آزمایش مربوط به آزمون مالش چشم در گروه های کنترل و استرس ناشی از SPS در شکل ۲ نشان داده شده است. برای تطابق حیوان با شرایط محیطی، هر حیوان ابتدا روی یک میز با ابعاد (۵۰ × ۵۰ سانتی متر) به مدت ۱۰دقیقه قرار داده می شد. سپس یک قطره (در حدود ۴۰ ماکرولیتر) سدیم کلرید (ساخت ایران) با غلظت ۵ مولار به طور تصادفی در چشم چپ و یا راست ریخته می شد و تعداد مالش چشم به مدت ۳۰ ثانیه شمرده شد [۱۱].

آزمون آلودینیای مکانیکی به روش آزمون وون فری

برای ارزیابی آلودینیای مکانیکی (پاسخ دردناک به یک محرک غیر دردناک) از فیلامان‌های نایلونی وون فری (Stoelting ,Wood Dale, IL کشور امریکا) با وزن مشخص (۰/۰۰۸ تا ۶۰ گرم) استفاده شد. این فیلامان ها وقتی به ناحیه ویسکر در صورت حیوان وارد شود، خم شده و نیروی مشخصی به صورت وارد می کند. در مطالعه حاضر، در شروع آزمایش ها از منو فیلامان با اندازه متوسط ۰/۲ گرمی استفاده شد و در صورت پاسخ دادن حیوان، از منو فیلامان با وزن کمتر استفاده شد. در غیر این صورت از منوفیلامان با وزن بالاتر استفاده می شد. هر فیلامان ۳ بار و با فاصله زمانی۱۰ ثانیه به ناحیه‌ی ویسکر حیوان وارد می شد. پاسخ هر حیوان به هر محرک شامل عقب کشیدن سر، لمس کردن و خراش دادن ناحیه صورت تعریف می شد. ماکزیمم شدت فیلامان استفاده شده در این آزمایشات فیلامان ۶۰ گرمی می باشد. روند اجرای آزمون درد مکانیکی به روش آزمون وون فری در شکل ۱ نشان داده شده است. این آزمون در موش های گروه کنترل (n = ۸) در روز های۱، ۷، ۹، ۱۲، ۱۴، ۱۸ و۲۱ انجام می شد. در گروه استرس (n = ۸) پس از انجام آزمون وون فری در روز ۱، حیوانات استرس داده شدند و به مدت یک هفته در قفس های انفرادی حبس می شدند و مجددا در روزهای ۷، ۹، ۱۲، ۱۴، ۱۸ و۲۱ آزمون وون فری تکرار می شد [۱۲].

داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری (unpaired student’s t-test، two way ANOVA و repeated measurement ANOVA) و با استفاده از نرم افزارآماری SPSS (version, 19.0) آنالیز شدند. برای یافتن جایگاه اختلاف معنی داری بین گروه ها از پس آزمون توکی-کرامر استفاده شد. تمامی داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند. اختلاف معنی دار بین گروه ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

اثر استرس ناشی ازSPS بر رفتار شبه اضطرابی در آزمون ماز بعلاوه مرتفع

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که موش های هر دو گروه کنترل و استرس، زمان سپری شده، تعداد ورود و مسافت بیشتری در بازوی بسته ماز بعلاوه در مقایسه با بازوی باز داشتند (جدول ۱). استرس ناشی از SPS سبب افزایش معنی دار ($p < ۰/۰۱$) تعداد ورود موش های صحرایی در بازوی بسته در مقایسه با گروه کنترل معنی دار شد ($p < ۰/۰۱$) اما بر زمان سپری شده حیوانات این گروه در این بازو نسبت به گروه کنترل تاثیری نداشت. در بازوی باز ماز بعلاوه، زمان سپری شده و تعداد ورود حیوانات گروه استرس در مقایسه با گروه

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

جدول ۱- اثر استرس SPS بر رفتار شبه اضطرابی موش‌های صحرایی در آزمون ماز بعلاوه مرتفع

معیار	گروه (n = ۸)	میانگین ± انحراف معیار	معنی داری
تعداد ورود به بازوی بسته	کنترل	۹/۵ ± ۰/۵	۰/۰۰۷**
	استرس	۲۷/۴ ± ۵/۶	
تعداد ورود به بازوی باز	کنترل	۵/۵ ± ۰/۲	۰/۰۱۷*
	استرس	۴/۶ ± ۰/۲	
زمان ماندن در بازوی بسته (ثانیه)	کنترل	۱۸۳ ± ۹/۶	۰/۴۳۳
	استرس	۱۹۵ ± ۱۱/۷	
زمان ماندن در بازوی باز (ثانیه)	کنترل	۵۰/۹ ± ۵/۷	۰/۰۱۵*
	استرس	۳۰/۶ ± ۴/۴	
مسافت طی شده در بازوی بسته (سانتی متر)	کنترل	۲۱۸۸ ± ۱۱۳	۰/۱۵
	استرس	۲۴۳۱ ± ۱۱۴	
مسافت طی شده در بازوی باز (سانتی متر)	کنترل	۴۵۴/۵ ± ۶۸	۰/۸۸۱
	استرس	۴۳۲ ± ۱۲۷	

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می باشند. علامت (*) اختلاف معنی دار بین گروه استرس با گروه کنترل را نشان می‌دهد. (**p < ۰/۰۱ ، *p < ۰/۰۵) و (n = ۸).

کنترل کاهش معنی داری نشان داد (p < ۰/۰۵). حیوانات گروه استرس در مقایسه با گروه کنترل از نظر مسافت طی شده در ماز تفاوتی با یکدیگر نشان نداند (جدول ۱).

اثر استرس ناشی از SPS بر میزان غلظت کورتیکوسترون

تجزیه و تحلیل داده های آماری میزان غلظت کورتیکوسترون در گروه های آزمایشی نشان داد که غلظت خونی کورتیکوسترون موش های صحرایی می تواند تحت تاثیر هر دو فاکتور استرس ناشی از القا SPS [p < ۰/۰۱، $F_{(۲،۳۴)}$ = ۴/۹] و تزریق دگزامتازون [p < ۰/۰۱، $F_{(۱،۳۴)}$ = ۲۳/۲] در آزمایش سرکوب دگزامتازون قرار گیرد. تداخل اثر این دو فاکتور یعنی استرس × تزریق دگزامتازون نیز از نظر آماری معنی‌دار بود [p < ۰/۰۰۱، $F_{(۲،۳۴)}$ = ۹۱/۸].

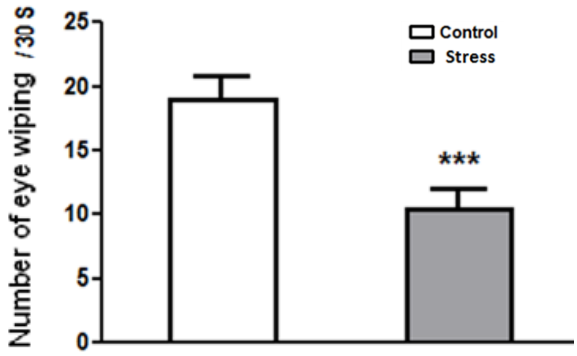
نتایج نشان داد که استرس ناشی از تزریق سالین در گروه کنترل + سالین، خود می تواند سبب افزایش معنی‌دار غلظت کورتیکوسترون در مقایسه با گروه کنترل گردد (p < ۰/۰۵). با این وجود غلظت کورتیکوسترون در گروه استرس ناشی از SPS + سالین در مقایسه با گروه کنترل + سالین کاهش می یابد، اگرچه این کاهش از نظر آماری اختلاف معنی‌داری

جدول۲- اثر استرس SPS بر غلظت خونی کورتیکوسترون در موش‌های صحرایی

گروه ها	تعداد موش (n)	میانگین ± انحراف معیار غلظت کورتیکوسترون (ng/ml)
A- کنترل	۶	۱۴۸/۲ ± ۷
B- کنترل + سالین	۸	۲۳۱/۵ ± ۴/۹*
C- استرس + سالین	۷	۲۰۲/۱ ± ۶
D-کنترل + دگزامتازون	۶	۱۸۰/۲ ± ۵/۹***
E- استرس + دگزامتازون	۸	۱۳۴/۸ ± ۸/۹***

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشند. گروه B در مقابل گروه A (*p < ۰/۰۵)، گروه D در مقابل گروه B. (***p < ۰/۰۰۱) و گروه E در مقابل گروه D (***p < ۰/۰۰۱).

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]



نمودار ۱- اثر استرس ناشی از SPS بر تعداد دفعات مالش چشم در دو گروه کنترل و گروه استرس. علامت (*) اختلاف معنی‌دار بین گروه استرس با گروه کنترل را نشان می‌دهد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشند (***$p < ۰/۰۰۱$ و $n = ۸$).

نشان نداد ($p = ۰/۰۸$). همچنین تزریق دگزامتازون در گروه کنترل + دگزامتازون منجر به کاهش معنی‌دار غلظت کوتیکوسترون در مقایسه با گروه کنترل + سالین گردید ($p < ۰/۰۰۱$). علاوه بر این، ایجاد استرس SPS در گروه استرس + دگزامتازون، غلظت کورتیکوسترون را در مقایسه با گروه کنترل + دگزامتازون کاهش داد که این کاهش از نظر آماری معنی دار ($p < ۰/۰۰۱$) بود (جدول ۲).

اثر استرس ناشی از SPS در آزمون مالش چشم

در آزمون مالش چشم تعداد دفعات مالش چشم گروه استرس (۱/۷ ± ۱۰/۲) ، در مقایسه با گروه کنترل (۱/۷ ± ۱۹) به طور معنی داری ($p < ۰/۰۰۱$) کاهش یافت (نمودار ۱).

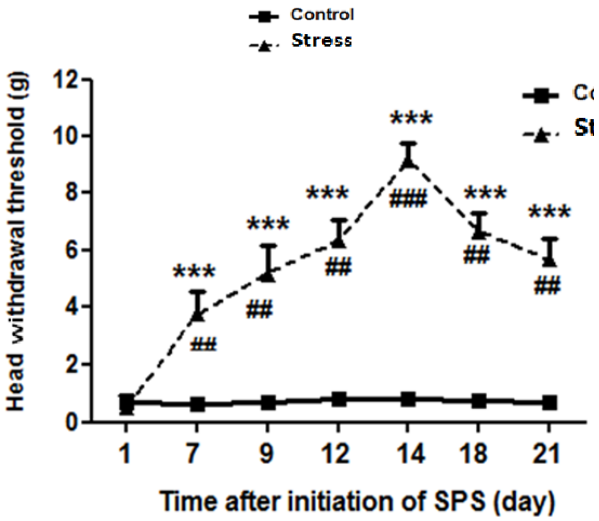
اثر استرس ناشی از SPS در آزمون وون فری

تجزیه و تحلیل داده های مطالعه حاضر به روش Repeated measurement ANOVA نشان داد که آستانه پاسخ گویی نسبت به منوفیلامان های وون فری به طور معنی داری تحت تاثیر فاکتور زمان [$p < ۰/۰۰۱$، ۵/۰۴۴ = $F_{(۶، ۵۵/۴)}$]و تداخل بین زمان ×گروه [$p < ۰/۰۰۱$ ، ۴/۶۲۱ = $F_{(۶، ۴/۶۱۷)}$] قرار می‌گیرد. در موش های گروه استرس، استرس منجر به افزایش آستانه عقب کشیدن سر نسبت به اعمال منوفیلامان های وون فری در نهمین روز بعد از ایجاد SPS در مقایسه با روز اول شد که این افزایش آستانه تا روز بیست و یکم ادامه یافت (نمودار ۲) و معنی دار بود ($p < ۰/۰۵$). در گروه کنترل، آستانه ی پایین عقب کشیدن سر حفظ شده و هیچ تفاوت معنی‌داری میان روز های مختلف آزمون مشاهده نشد. همان طور که درنمودار ۲ نشان داده شده است، آستانه عقب کشیدن سر موش های صحرایی در اثر اعمال فیلامان های وون فری در صورت گروه استرس، در تمامی روز های ۷، ۹، ۱۲، ۱۴، ۱۸ و ۲۱ در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار نشان می دهد ($p < ۰/۰۰۱$).

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که موش‌های صحرایی گروه استرس فرکانس ورود و زمان سپری شده کمتری در بازوی باز ماز بعلاوه دارند که تایید کننده ایجاد PTSD در این مدل حیوانی می باشد. در همین راستا، مشخص شده که در استرس ۱۴و ۲۸ روزه SPS، میزان ورود به بازوی باز ماز بعلاوه و زمان ماندن در آن بازو کاهش می‌یابد [۵]. Goswami و همکارانش (۲۰۱۰) در مدل دیگری از PTSD که شامل استرس بوی شکارچی حیوان بود، نشان دادند که زمان ورود به بازوی باز ماز بعلاوه کاهش می یابد [۱۳]. مطالعه حاضر نشان داد که تزریق نرمال سالین در موش های سالم غلظت خونی کورتیکوسترون در موش‌های صحرایی را در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌دهد. به همین دلیل برای ارزیابی غلظت کورتیکوسترون در آزمون سرکوب دگزامتازون، غلظت کورتیکوسترون گروه استرس + دگزامتازون با خون گروه کنترل + دگزامتازون مقایسه گردید. در مطالعه حاضر تجویز دگزامتازون، در گروه استرس + دگزامتازون، سبب کاهش غلظت کورتیکوسترون نسبت به گروه کنترل + دگزامتازون می شود. هم راستا با نتایج مطالعه حاضر، Kohda و همکارانش (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که با تزریق دگزامتازون در روز ۷ بعد از استرس SPS، محور HPA مهار شده و غلظت کورتیکوسترون کاهش می‌یابد [۱۴]. در مدل دیگری از PTSD با عنوان CAPS، بعد از تزریق دگزامتازون کاهش پاسخ محور HPA و کاهش سطوح کورتیکوسترون مشاهده گردیده است [۳]. بر عکس Keeney و همکارانش (۲۰۰۶) نشان دادند که قرارگیری در معرض استرس دوری از مواجهه با حیوانات هم نوع، به طور حاد و مزمن سطوح کورتیکوسترون را افزایش می‌دهد [۱۵]. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان کورتیکوسترون خون در روز هشتم بعد از استرس SPS، متعاقب تزریق دگزامتازون کاهش می یابد که نشان دهنده تائید و القای PTSD با این مدل

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]



نمودار ۲- اثر استرس ناشی از SPS بر آستانه عقب کشیدن سر در گروه‌های کنترل و استرس در آزمون وون فری (A). علامت (*) اختلاف معنی دار بین گروه استرس با گروه کنترل را نشان می دهد. علامت (#) نیز جایگاه اختلاف معنی دار روزهای مختلف پس از ایجاد SPS در گروه استرس را در مقایسه با روز اول نشان می دهد. داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشند (***$p < ۰/۰۰۱$) (## $p < ۰/۰۵$ و ### $p < ۰/۰۱$ و n = ۸).

براساس مطالعه Kohda و همکاران (۲۰۰۷) می باشد [۱۴].

به طور کلی در مطالعه حاضر مشخص شد که در گروه استرس کاهش مشخصی در تعداد دفعات مالش چشم نسبت به گروه کنترل مشاهده می شود. برای القای درد حاد در سیستم تری ژمینال به جهت این که گیرنده های درد قرنیه حضور بسیار زیادی در گانگلیون تری ژمینال از طریق شاخه افتالمیک عصب تری ژمینال دارند، از آزمون مالش چشم استفاده می‌شود [۱۱]. بیشتر فیبر های حسی قرنیه (حدود ۷۰٪)، از نوع گیرنده‌های-C پلی مودال هستند که به طور یکسانی به محرک مکانیکی آسیب رسان، گرما، محرک های شیمیایی اگزوژن و میانجی های شیمیایی اندوژن رها شده از قرنیه آسیب دیده پاسخ می دهند [۱۶]. نورون های درد در هسته تری ژمینال به میزان شدیدی در پاسخ به ریختن سدیم کلرید به عنوان محرک قرنیه پاسخ می‌دهند [۱۱]. کاهش درد در شرایط استرس در گروه استرس مطالعه حاضر می تواند به دلیل بتا اندورفین به عنوان یک اپیوئید درون‌زا باشد که در اختلالات روانی همچون استرس شنا، افسردگی و PTSD در مغز رها می‌شود [۱۷]. همچنین استرس طولانی مدت در حیوانات، گیرنده اپیوئیدی مغز را فعال می کند و این امر مشابه با روندی است که پس از دریافت اپیوئید خارجی رخ می دهد [۱۷]. در این راستا مشخص شده که در حیواناتی که در معرض محرک گرمایی hot plate با دمای ۵۵ درجه سانتی گراد قرار گرفته‌اند، بتا اندورفین افزایش می یابد [۱۸]. پس به همین دلایل احتمالا در مطالعه ما نیز در موش های گروه استرس با افزایش فعالیت سیستم اپیوئیدی درونی بتا اندورفین، حساسیت نسبت به چکاندن سدیم کلرید در چشم کاهش یافته است که نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

مطالعه حاضر همچنین نشان داد که در گروه استرس، استرس ایجاد شده می تواند سبب کاهش حساسیت نسبت به محرک غیر دردزا (فیلامان‌های وون فری) در صورت شده و افزایش آستانه پاسخ گویی به میزان حفظ شده‌ای از روز نهم استرس به بعد تا روز بیست و یکم باقی مانده است. در گروه کنترل در تمام مدت ۲۱ روز آستانه پاسخ گویی پایین بوده و هیچ تغییری در میزان پاسخ گویی به منوفیلامان ها ایجاد نمی‌شود. هم راستا با مطالعه حاضر، مشخص شده که در موش‌های صحرایی که اندام عقبی آن ها در معرض استرس بی حرکتی قرار می گیرد و سپس بوسیله یک chiropractic manipulator نخاعی، محرک بر روی اندام عقبی آن‌ها اعمال می‌شود، آستانه پاسخ‌گویی نسبت به منوفیلامان‌های وون‌فری افزایش می یابد [۱۹]. برعکس Zhang و همکارانش (۲۰۱۲) مشاهده کردند که در مدل استرس SPS، متعاقب روزهای ۷ تا ۲۸ استرس، کاهش در آستانه پاسخ گویی نسبت به منوفیلامان های وون فری اعمال شده در اندام عقبی موش های صحرایی ایجاد می شود. این گزارش نشان داد که در گروه کنترل نیز، هیچ تغییری در آستانه پاسخ گویی نسبت به منوفیلامان های وون فری در طی ۲۸ روز ایجاد نمی شود [۵]. در مطالعه دیگری، آن ها گزارش دادند که در روز های ۷ تا ۲۱ پس از ایجاد SPS، نیز کاهش آستانه پاسخ‌گویی به اعمال محرک مکانیکی وون فری در اندام عقبی موش‌ها مشاهده می‌شود [۱۲]. در آلودینیا، التهاب TMJ تحریک‌پذیری گانگلیون تری ژمینال Aß (TRG) (که ناحیه جلدی صورت را بوسیله مکانیسم‌های پاراکراین عصب‌دهی می‌کند) تعدیل می‌کند [۲۰]. ورودی‌های فیبر C در شاخ پشتی نخاع به طور مداوم تحریک می شوند. این فعالیت مداوم و قوی در گیرنده‌ها منجر به رهایش کانابینوئید های درونی از نورون های هدف پس سیناپسی در شاخ پشتی نخاع شده و این کانابینوئیدهای درونی، نورون های مهاری مجاور را مهار کرده و اجازه می دهد که ورودی های آستانه پایین مدارهای درد را

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

که در شاخ پشتی سطحی نخاع تشکیل داده اند را فعال نموده و آلودینیا ایجاد شود. به همین دلیل القای درد توسط ماده درد زای CFA(Complete fraund's adjuvant)، آستانه پاسخ نسبت به محرک مکانیکی در صورت موش صحرایی را کاهش می دهد که دلیل آن را به حساس کردن مرکزی ارتباط داده اند اما در موش های صحرایی دست نخورده، درک محرک غیر دردزا در انتهای مسیر درد میسر نیست و تنها به صورت یک احساس لمس ادراک می شود [۲۰]. در مطالعه حاضر، در گروه کنترل و گروه استرس احتمالا محرک مکانیکی به صورت یک حس لمس ادراک شده است به دلیل این که هیچ ماده دردزایی اعمال نشده است. با این تفاوت که در شرایط استرس، احتمالاً از طریق افزایش رهایش اپیوئیدهای درون زا و القا بی‌دردی [۱۷]، آستانه پاسخ دهی به منوفیلامان های وون فری افزایش می یابد.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر استرس ناشی از SPS، سبب افزایش رفتار اضطرابی و کاهش سطح کورتیکوسترون می شود. در شرایط استرس، ادراک درد حاد وآلودینیا ناحیه صورت کاهش می‌یابد و این یافته ممکن است به دلیل درگیر شدن سیستم‌های اپیوئیدی در پدیده کاهش درد در شرایط استرس باشد که نیاز به مطالعات بیشتر در این زمینه دارد.

سپاسگزاری

این مطالعه بخشی از پایان نامه مرجان نیک‌بخت‌زاده می‌باشد که در قالب یک طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی کرمان و مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان با کد کمیته اخلاقی EC/KNRC/93-29 اجـرا گردیده است. لذا بدین وسیله نویسندگان مراتب تشکر و قـدر دانـی خود را از مساعدت‌های مسئولین محتـرم مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان اعـلام می‌دارند.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

سهم نویسندگان

م.ن: انجام مطالعه و نگارش مقاله; و.ش و غ.س: ایده، طراحی، نظارت بر حسن اجرای مطالعه و نگارش مقاله; م.ن: مشاوره; خ.ا و م.آ: اجرای بخشی از مطالعه.

فهرست منابع

[1] de Leeuw R, Bertoli E, Schmidt JE, Carlson CR, Prevalence of post-traumatic stress disorder symptoms in orofacial pain patients. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*** 99 (2005) 558-568.

[2] Kessler RC, Sonnega A, Bromet E, Hughes M, Nelson CB, Posttraumatic stress disorder in the National Comorbidity Survey. ***Arch Gen Psychiatry*** 52 (1995) 1048-1060.

[3] Yamamoto S, Morinobu S, Takei S, Fuchikami M, Matsuki A, Yamawaki S, Liberzon I, Single prolonged stress: toward an animal model of posttraumatic stress disorder. ***Depress Anxiety*** 26 (2009) 1117-1110.

[4] Crain KD, Emotions and psychobilology. In: McMahon SB, Koltzenburg M, editors. ***Wall and Melzack's textbook of pain***. 5nd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone (2006), p. 231-239.

[5] Zhang Y, Gandhi PR, Standifer KM, Increased nociceptive sensitivity and nociceptin/orphanin FQ levels in a rat model of PTSD. ***Mol Pain*** 8 (2012) 76.

[6] Suarez-Roca H, Quintero L, Avila R, Medina S, De Freitas M, Cárdenas R, Central immune overactivation in the presence of reduced plasma corticosterone contributes to swim stress-induced hyperalgesia. ***Brain Res Bull*** 100 (2014) 61-69.

[7] Berry A, Bellisario V, Capoccia S, Francia N, Alleva E, Cirulli F**,** Long-Term Changes in Pain Sensitivity in an Animal Model of Social Anxiety. ***Vet Sci*** 1 (2014) 77-95.

[8] Herb K, Cho S, Stiles MA, Temporomandibular joint pain and dysfunction. ***Curr Pain Headache Rep*** 10 (2006) 408-414.

[9] De Leeuw R, Schmidt JE, Carlson CR, Traumatic stressors and post-traumatic stress disorder symptoms in headache patients. ***Headache*** 45 (2005) 1365-1374.

[10] Cervero F, Laird JM, Visceral pain. ***Lancet*** 353 (1999) 2145-2148.

[11] Farazifard R, Safarpour F, Sheibani V, Javan M, Eye-wiping test: A sensitive animal model for acute trigeminal pain studies. ***Brain Res Brain Res Protoc*** 16 (2005) 44-49.

[12] Zhang Y, Simpson-Durand C, Standifer K, Nociceptin/orphanin FQ peptide receptor antagonist JTC-801 reverses pain and anxiety symptoms in a rat model of post-traumatic stress disorder. ***Br J Pharmacol*** 172 (2015) 571-582.

[13] Goswami S, Cascardi M, Rodríguez-Sierra

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

OE, Duvarci S,Paré D, Impact of predatory threat on fear extinction in Lewis rats. ***Learn Mem*** 17 (2010) 494-501.

[14] Kohda K, Harada K, Kato K, Hoshino A, Motohashi J, Yamaji T, Morinobu S, Matsuoka N, Kato N, Glucocorticoid receptor activation is involved in producing abnormal phenotypes of single-prolonged stress rats: a putative post-traumatic stress disorder model. ***Neuroscience*** 148 (2007) 22-33.

[15] Keeney A, Jessop DS, Harbuz MS, Marsden CA, Hogg S, Blackburn-Munro RE, Differential effects of acute and chronic social defeat stress on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and hippocampal serotonin release in mice. ***J Neuroendocrinol*** 18 (2006) 330-338.

[16] Belmonte C, Acosta M C, Gallar J, Neural basis of sensation in intact and injured corneas. ***Exp Eye Res*** 78 (2004) 513-525.

[17] Christie MJ, Chesher GB, Physical dependence on physiologically released endogenous opiates. ***Life Sci*** 30 (1982) 1173-1177.

[18] Rasmussen NA, Farr LA, Beta-endorphin response to an acute pain stimulus. ***J Neurosci Methods*** 177 (2009) 285-288.

[19] Trierweiler J, Göttert DN, Gehlen G, Evaluation of mechanical allodynia in an animal immobilization model using the Von Frey method. ***J Manipulative Physiol Ther*** 35 (2012) 18-25.

[20] Takeda M, Takahashi M, Matsumoto S, Suppression of neurokinin-1 receptor in trigeminal ganglia attenuates central sensitization following inflammation. ***J Peripher Nerv Syst*** 17 (2012) 169-181.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

Research paper

Acute facial pain and allodynia in rat model of post-traumatic stress disorder

Marjan Nikbakht-Zadeh[1], Vahid Sheibani[1,2]*,Gholamreza Sepehri[1,2] , Masoud Nazeri[2], Khadije Esmail Pour[2], Mohammad Reza Afarinesh[2]

1. Department of physiology, Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
2. Neuroscience Research Center, Institute of Neuropharmachology, Kerman University of Medical Sciences Sciences, Kerman, Iran

Received: 24 May 2015 Accepted: 14 December 2015

Abstract

Introduction: Post-traumatic stress disorder (PTSD) symptoms and pain can be appeared repeatedly following traumatic events. Although in acute stress condition, pain perception significantly covered by stress, few studies have discussed the changes in pain perception in a PTSD stress conditioning. In the present study, changes of facial acute pain and allodynia have been investigated in an animal model of PTSD.

Methods: Male Wistar rats were divided to two groups as control and under stress. PTSD was induced by single prolonged stress (SPS) method and confirmed by elevated plus maze (EPM) and rats plasma corticostrone levels. Acute facial pain and allodynia were evaluated by the eye wiping test and von frey test in the experimental groups.

Results: SPS rats spent less time and made a fewer entries into the open arms of EPM ($p < 0.05$). The corticostrone level was significantly decreased in Stress + DEXA group compared to the Control + DEXA ($p < 0.05$). The number of eye wiping was significantly decreased in SPS-induced rats compared to the control ($p < 0.001$). The response threshold of applying von frey filament in face of SPS-induced rats was significantly increased compared to the control ($p < 0.001$).

Conclusion: Acute pain perception and allodynia of face area of rats was reduced in SPS-induced animals. Increased endogenous opioids in PTSD condition may lead to this observation.

Keywords: Acute pain, Allodynia, Corticostrone, Elevated plus maze, PTSD, Rat face

Please cite this article as follows:
Nikbakht-Zadeh M, Sheibani V, Sepehri G, Nazeri M, Esmail Pour K, Afarinesh MR, Acute facial pain and allodynia in rat model of post-traumatic stress disorder. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 1 (2017) 148-157.

*Corresponding author e-mail: vsheibani2@yahoo.com
Available online at: http://ijpp.phypha.ir
E-mail: ijpp@phypha.ir

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]