

مقاله پژوهشی

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

مرجان نیک‌بخت‌زاده^۱، وحید شبیبانی^{۱*}، غلامرضا سپهری^۲، 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

پذیرش: ۲۳ آذر ۹۴

دریافت: ۳ خرداد ۹۴

چکیده

مقدمه: علائم اختلال بعد از تروما (Posttraumatic stress disorder = PTSD) و درد می‌تواند به طور مکرر به دنبال یک حادثه تروماتیک در فرد بروز نماید. اگر چه در شرایط استرس حاد، ادراک درد به طور قابل توجهی در اثر استرس پوشیده می‌شود، 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 آلودینیای ناحیه صورت موش صحرایی در مدل حیوانی PTSD مورد بررسی قرار می‌گیرد.

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 ماز بعلاوه در گروه استرس نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). میزان کورتیکوسترون بعد از تزریق دگزامتازون، در گروه استرس + دگزامتازون درمقایسه با گروه کنترل + دگزامتازون به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$). تعداد مالش چشم در گروه استرس، در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.001$). آستانه پاسخ در اثر اعمال فیلامان های وون فری، در صورت موش صحرایی گروه استرس، در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار نشان داد ($p < 0.001$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که در شرایط استرس ناشی از SPS، ادراک درد حاد و آلودینیای ناحیه صورت کاهش می‌یابد. احتمالاً، افزایش اپیوئیدهای اندوژن در شرایط 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

تجربه مجدد (re-experiencing)، پرهیز (avoidance)، کرختی عاطفی (emotional numbing) و بیش انگیزشی (hyperarousal) می‌باشد. 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 مادام‌العمر PTSD در جامعه ۸٪ تخمین زده شده است که این مقدار در زنان ۱۰٪ 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

بر اساس معیار (diagnostic statistical manual of PTSD, mental disorder 4th-edition) DSM-IV (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 می‌شود که شامل:

vsheibani2@yahoo.com

http://ijpp.phypha.ir

ijpp@phypha.ir

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

پست الکترونیکی:

اگرچه در مطالعات قبلی نشان داده شده که استرس SPS می تواند 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 تفاوت های 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 روش ها

در مطالعه حاضر، از ۹۵ عدد موش های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن حدود ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. موش های 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 مطالعه ی 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

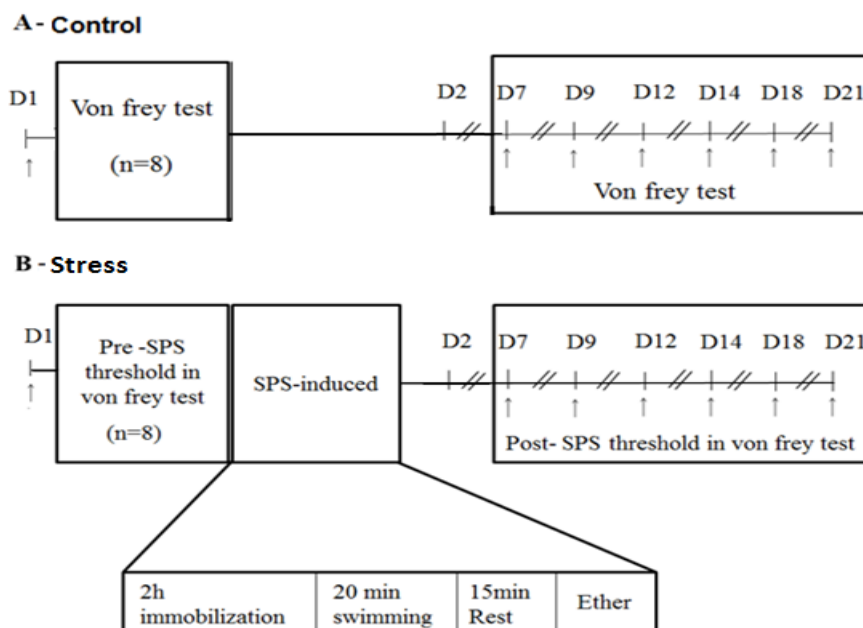
موش های صحرایی به طور تصادفی به دو گروه کنترل و گروه استرس ناشی از SPS تقسیم شدند. در گروه استرس، حیوانات ابتدا در یک مقید کننده پلاستیکی شفاف به مدت ۲ ساعت قرار داده می شدند و سپس آن ها به مدت ۲۰ دقیقه مجبور به شنا در یک استخر آبی پلاستیکی سیلندری شکل شفاف (با دمای ۲۴ سانتی گراد) با ارتفاع ۵۰ سانتی متر و قطر ۲۴ سانتی متر شدند. ۱۵ دقیقه 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.

دی اتیل اتر (chronic acute prolonged stress (CAPS)) ۲۰ دقیقه دوری از مواجهه با حیوانات هم نوع (social defeated stress)، ۳۰ دقیقه بی حرکتی و ۱۰ دقیقه شنا، و انواع دیگر آن 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 می شود که می تواند تغییراتی در محور HPA ایجاد کند [۳].

مشخص شده است که متعاقب (post traumatic stress) PTS افسردگی و ناتوانی بوجود می آید 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 آلودینیا 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 منوفیلان های 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 آلژیا 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 می یابد [۷].

یکی از انواع دردها، درد در ناحیه صورت است و اختلال تمپورو ماندیبولار (TMD) به عنوان یکی از مهمترین آسیب ها و اختلالات صورت می باشد که به دو دسته مفصلی و عضلانی تقسیم می شود و از نمونه های آن می توان 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 کرده اند [۹].



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 موش های 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 ۴۵-۴۰ 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 می شد 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 باز و بسته. در ضمن ورود به یک بازو زمانی در نظر گرفته می شد که حیوان با ۴ اندام خود در آن قرار می گرفت [۵]. پس از ورود هر حیوان برای تکرار بعدی ماز با الکل ضد عفونی می شد. تمامی آزمایش در ساعت ۰۰:۰۹ تا ۱۰:۳۰ صبح انجام شد. تعداد ۸ عدد از موش های 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 کورتیکوسترون 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 دمای ۸۰- 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. رأس ساعت ۲ بعد از ظهر سر حیوان جدا شده و خون حیوان در یک لوله آزمایش حاوی ماده EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) (Merck آلمان) به عنوان ماده ضد انعقاد و ضد تخریب کورتیکوسترون جمع آوری می شد. خون به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و پلاسما جدا شد. میزان غلظت کورتیکوسترون پلاسما هر حیوان با استفاده از کیت کورتیکوسترون (Bendermed استرالیا) برحسب نانوگرم

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 زمانی ۱۰ 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 ($n = 8$) در روزهای ۱، ۷، ۹، ۱۲، ۱۴، ۱۸ و ۲۱ انجام می شد. در گروه استرس ($n = 8$) 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 مجدداً در روزهای ۷، ۹، ۱۲، ۱۴، ۱۸ و ۲۱ آزمون وون فری تکرار می شد [۱۲].

داده ها با استفاده از آزمون های آماری (unpaired student's t-test، two way ANOVA و repeated measurement ANOVA) و با استفاده از نرم افزار آماری 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 $\pm$ انحراف معیار بیان شده اند. اختلاف معنی دار بین گروه ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

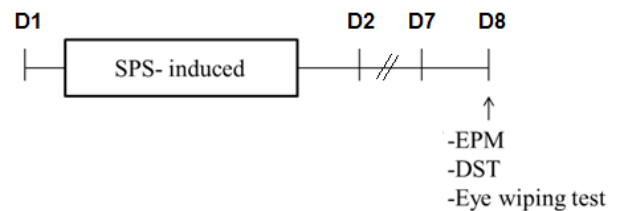
اثر استرس ناشی از SPS بر رفتار شبه اضطرابی در آزمون ماز بعلاوه مرتفع

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

A - Control



B - Stress



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

در هر میلی لیتر با روش رادیوایمونواسی سنجیده شد [۵]. پروتکل روش کار آزمایش های مربوط به اندازه گیری 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 موش های گروه کنترل و گروه استرس میزان درد چشم به روش آزمون مالش چشم مورد مطالعه قرار گرفت ($n = 8$). 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 ۱۰ دقیقه 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 فیلامان های نایلونی وون فری (Stoelting, Wood Dale, IL) کشور آمریکا) با وزن مشخص (۰/۰۸ تا ۶۰ گرم) استفاده شد. این فیلامان ها وقتی به ناحیه ویسکر در صورت حیوان وارد شود، خم شده و نیروی مشخصی

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

معیار	گروه (n = ۸)	میانگین $\pm$ انحراف معیار	معنی داری
تعداد ورود به بازوی بسته	کنترل	$9/5 \pm 0/5$	۰/۰۰۷***
	استرس	$37/4 \pm 5/6$	
تعداد ورود به بازوی باز	کنترل	$5/5 \pm 0/2$	۰/۰۱۷*
	استرس	$4/6 \pm 0/2$	
زمان ماندن در بازوی بسته (ثانیه)	کنترل	$183 \pm 9/6$	۰/۴۳۳
	استرس	$195 \pm 11/7$	
زمان ماندن در بازوی باز (ثانیه)	کنترل	$50/9 \pm 5/7$	۰/۰۱۵*
	استرس	$30/6 \pm 4/4$	
مسافت طی شده در بازوی بسته (سانتی متر)	کنترل	2188 ± 113	۰/۱۵
	استرس	2431 ± 114	
مسافت طی شده در بازوی باز (سانتی متر)	کنترل	$454/5 \pm 68$	۰/۸۸۱
	استرس	432 ± 127	

داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار می باشند. علامت (*) اختلاف معنی دار بین گروه استرس با گروه کنترل را نشان می دهد.
 $(n = 8)$ ، $p < 0/05$ ، $p < 0/01$ (***)

کنترل کاهش معنی داری نشان داد ($p < 0/05$). حیوانات گروه استرس در مقایسه با گروه کنترل از نظر مسافت طی شده در ماز تفاوتی با یکدیگر نشان ندادند (جدول ۱).
 $[F_{(1,34)} = 23/2, p < 0/01]$ و تزریق دگزامتازون $[F_{(1,34)} = 91/8, p < 0/001]$ معنی دار بود.

نتایج نشان داد که استرس ناشی از تزریق سالین در گروه کنترل + سالین، خود می تواند سبب افزایش معنی دار غلظت کورتیکوسترون در مقایسه با گروه کنترل گردد ($p < 0/05$). 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 معنی داری

کنترل کاهش معنی داری نشان داد ($p < 0/05$). حیوانات گروه استرس در مقایسه با گروه کنترل از نظر مسافت طی شده در ماز تفاوتی با یکدیگر نشان ندادند (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 $[p < 0/01, p = 4/9]$

جدول ۲- اثر استرس SPS بر غلظت خونی کورتیکوسترون در موش های صحرایی

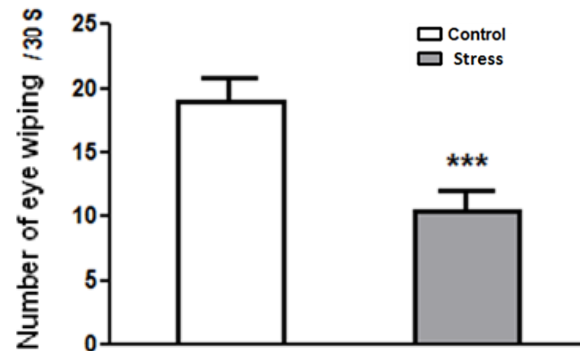
گروه ها	تعداد موش (n)	میانگین $\pm$ انحراف معیار غلظت کورتیکوسترون (ng/ml)
A- کنترل	۶	$148/2 \pm 7$
B- کنترل + سالین	۸	$231/5 \pm 4/9^*$
C- استرس + سالین	۷	$202/1 \pm 6$
D- کنترل + دگزامتازون	۶	$180/2 \pm 5/9^{***}$
E- استرس + دگزامتازون	۸	$134/8 \pm 8/9^{***}$

داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار می باشند. گروه B در مقابل گروه A ($p < 0/05$)، گروه D در مقابل گروه B. ($p < 0/001$) و گروه E در مقابل گروه D ($p < 0/001$).

هیچ تفاوت معنی داری میان روز های مختلف آزمون مشاهده نشد. همان طور که در نمودار 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 معنی دار نشان می دهد ($p < 0.001$).

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که موش های 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 ۱۴ و ۲۸ روزه SPS، میزان ورود به بازوی باز ماز بعلاوه و زمان ماندن در آن بازو کاهش می یابد [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 موش های صحرایی را در مقایسه با گروه کنترل افزایش می دهد. 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 می یابد [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 می دهد [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 تأیید و القای PTSD با این مدل



نمودار ۱- اثر استرس ناشی از SPS بر تعداد دفعات مالش چشم در دو گروه کنترل و گروه استرس. علامت (*) اختلاف معنی دار بین گروه استرس با گروه کنترل را نشان می دهد. داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار می باشند ($p < 0.001$ و $n = 8$).

نشان نداد ($p = 0.08$). همچنین تزریق دگزامتازون در گروه کنترل + دگزامتازون منجر به کاهش معنی دار غلظت کورتیکوسترون در مقایسه با گروه کنترل + سالین گردید ($p < 0.001$). 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 ($p < 0.001$) بود (جدول ۲).

اثر استرس ناشی از SPS در آزمون مالش چشم

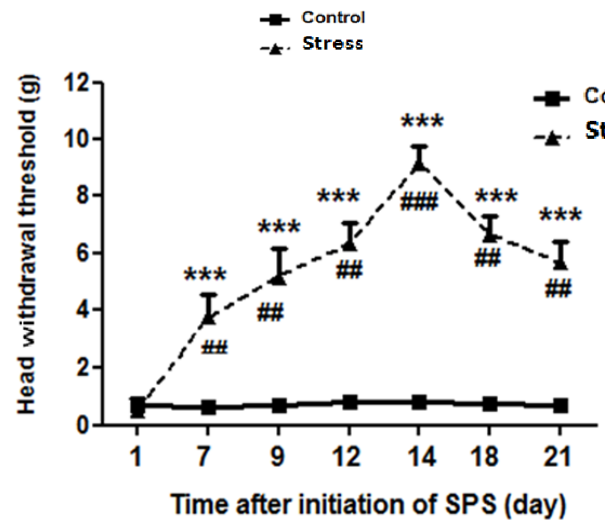
در آزمون مالش چشم تعداد دفعات مالش چشم گروه استرس ($1/7 \pm 10/2$)، در مقایسه با گروه کنترل ($1/7 \pm 19$) به طور معنی داری ($p < 0.001$) کاهش یافت (نمودار ۱).

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 [$p < 0.001$ ، $F(4, 55/4) = 5/044$] و تداخل بین زمان $\times$ گروه [$p < 0.001$ ، $F(4, 4/617) = 4/621$] قرار می گیرد. 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 ($p < 0.05$). در گروه کنترل، آستانه ی پایین عقب کشیدن سر حفظ شده و

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 (فیلامان های وون فری) در صورت شده و افزایش آستانه پاسخ گویی به میزان حفظ شده ای 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 نمی شود. هم راستا با مطالعه حاضر، مشخص شده که در موش های 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 آن ها اعمال می شود، آستانه پاسخ گویی نسبت به منوفیلامان های وون فری 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 پاسخ گویی به اعمال محرک مکانیکی وون فری در اندام عقبی موش ها مشاهده می شود [۱۲]. در آلودینیا، التهاب TMJ تحریک پذیری گانگلیون تری ژمینال Aß (TRG) (که ناحیه جلدی صورت را بوسیله مکانیسم های پاراکراین عصب دهی می کند) تعدیل می کند [۲۰]. ورودی های فیبر C در شاخ پشتی نخاع به طور مداوم تحریک می شوند. این فعالیت مداوم و قوی در گیرنده ها منجر به رهائش کانابینوئید های درونی از نورون های هدف پس سیناپسی در شاخ پشتی نخاع شده و این کانابینوئید های درونی، نورون های مهاری مجاور را مهار کرده و اجازه می دهد که ورودی های آستانه پایین مدارهای درد را



نمودار ۲- اثر استرس ناشی از SPS بر آستانه عقب کشیدن سر در گروه های 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 $\pm$ انحراف معیار می باشد ($p < 0.001$) (***) ($p < 0.05$) (**) و ($p < 0.01$) (###) و ($n = 8$).

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 می شود [۱۱]. بیشتر فیبر های حسی قرنیه (حدود ۷۰٪)، از نوع گیرنده های C- پلی مودال هستند که به طور یکسانی به محرک مکانیکی آسیب رسان، گرما، محرک های شیمیایی اگزوزن 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 می دهند [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 می شود [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

به مطالعات بیشتر در این زمینه دارد.

سپاسگزاری

این مطالعه بخشی از پایان نامه مرجان نیک بخت زاده می باشد 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 اجرا گردیده است. لذا بدین وسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدر دانی خود را از مساعدت های مسئولین محترم مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان اعلام می دارند.

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 psychobiology. 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

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 fraud'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 احتمالاً 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 بی درد [۱۷]، آستانه پاسخ دهی به منوفیلان های وون فری افزایش می یابد.

نتیجه گیری

در مطالعه حاضر استرس ناشی از SPS، سبب افزایش رفتار اضطرابی و کاهش سطح کورتیکوسترون می شود. در شرایط استرس، ادراک درد حاد و آلودینیا ناحیه صورت کاهش می یابد و این یافته ممکن است به دلیل درگیر شدن سیستم های اپیوئیدی در پدیده کاهش درد در شرایط استرس باشد که نیاز

- 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, Alleve 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

- 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.

Research paper

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

Marjan Nikbakht-Zadeh¹, Vahid Sheibani^{1,2*}, Gholamreza Sepehri^{1,2}, Masoud Nazeri², Khadije Esmail Pour², Mohammad Reza Afarinesh²

1. Department of physiology, Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

2. Neuroscience Research Center, Institute of Neuropharmacology, 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 corticosterone 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 corticosterone 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, Corticosterone, 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