



Comparison between the effects of gonadal hormones on nociceptive behavior of male rats in two neuropathic pain models

Farinaz Nasirinezhad^{1*}, Ehsan Ramezani nik², Mahsa Sadeghi², Seyed Mohammad Fereshtenezhad²

1. Dept. physiology, medical school, Iran university of medical sciences, Tehran, Iran

2. Physiological Research Center, Iran University of medical sciences, Tehran, Iran

Received: 21 Oct 2008

Revised: 2 Mar 2009

Accepted: 5 Mar 2009

Abstract

Introduction: Sex differences have been repeatedly observed in chronic pain, therefore it is likely that the gonadal hormones are involved in nociception. On the other hand, different experimental models have been created to investigate the responsible mechanisms of chronic pain. This study examines the effects of gonadal hormones on nociceptive responses of rats in the CCI (chronic constriction injury) and SNI (spread nerve injury) models.

Methods: Male rats underwent gonadectomy or sham surgery 2 weeks before nerve injury. A plantar analgesic meter was used to measure gonadectomy-induced changes in paw withdrawal latency (PWL) values, and von Frey monofilaments and Randal selitto test were used to assess changes in the paw withdrawal threshold (PWT) in response to mechanical stimuli. Animals were subjected to the behavioral tests before induction of nerve injury. Behavioral tests were also performed 1 week after nerve injury and were then repeated once a week for 3 weeks. t-Test and Mann-Whitney were used for statistical analysis.

Results: The data revealed that PWL and PWT values were the same in these two nerve injury models and PWL was significantly lower in gonadectomized rats compared to sham group. There were no gonadectomy-related differences in the development of mechanical allodynia. Also it seems that mechanical hyperalgesia is more affected by sexual hormones in SNI model during the first week after nerve injury.

Conclusion: These findings demonstrate that CCI and SNI models induce similar nociceptive behaviors in rats and mechanical and thermal nociceptive responses are differentially affected by gonadal hormones in male rats.

Keywords: CCI; SNI; gonadectomy; male rat.

* Corresponding author e- mail: fnasiri@iums.ac.ir
Available online @: www.phypha.ir/ppj

مقایسه اثر گنادکتومی بر پاسخ‌های رفتاری موش‌های صحرایی نر در دو مدل درد نوروپاتیک

فریناز نصیری‌نژاد^{۱*}، احسان رمضانیان نیک^۲، مهسا صادقی^۲، سید محمد فرشته‌نژاد^۲

۱. مرکز تحقیقات فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران

۲. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران

دریافت: ۲۹ مهر ۱۳۸۷ بازبینی: ۱۱ اسفند ۱۳۸۷ پذیرش: ۱۴ اسفند ۱۳۸۷

چکیده

مقدمه: به دلیل وجود تفاوت‌های جنسیتی در میزان درک درد این احتمال وجود دارد که هورمون‌های جنسی مسئول ایجاد این تفاوت باشند. جهت بررسی مکانیسم‌های مسئول ایجاد درد مزمن مدل‌های حیوانی متعددی پیشنهاد شده اند. در این تحقیق سعی بر این بوده است که اثرات هورمون‌های جنسی بر پاسخ‌های رفتاری حس درد در موش‌هایی که تحت عمل آسیب عصبی CCI و SNI قرار گرفته‌اند بررسی گردد.

روش‌ها: جهت این امر موش‌های صحرایی نر دو هفته قبل از انجام آسیب عصبی تحت عمل گنادکتومی و یا عمل sham واقع شدند. جهت بررسی اثر گنادکتومی بر میزان درد حرارتی از plantar test استفاده شده و زمان تاخیر در پاسخ (PWL) حیوانات مورد سنجش قرار گرفت. همچنین آستانه حس مکانیکی (PWT) حیوانات توسط رشته‌های von frey و تست randal selitto مورد سنجش قرار گرفت. تمامی حیوانات قبل از انجام عمل آسیب عصبی و سپس از هفته اول پس از آسیب عصبی تا سه هفته هر هفته یک بار مورد سنجش رفتاری قرار گرفتند. تمامی داده‌ها با استفاده از تست‌های t-test و Mann-Whitney تجزیه آماری شد.

یافته‌ها: نتایج آزمایشات نشان داد که PWT و PWL در دو مدل استفاده شده جهت ایجاد آسیب عصبی نسبتاً مشابه بود. در حیواناتی که تحت عمل گنادکتومی قرار گرفته بودند PWL نسبت به حیوانات گروه sham به طور معنی‌داری کمتر بود ولی انجام عمل گنادکتومی تغییر معنی‌داری در حس آلودینیای مکانیکی ایجاد نکرد. بعلاوه به نظر می‌رسد در هفته اول بعد از آسیب عصبی حس هیپرالجزیای مکانیکی در مدل SNI، بیشتر از مدل CCI تحت تاثیر هورمون‌های جنسی قرار می‌گیرد.

نتیجه‌گیری: این نتایج بیانگر این امر است که رفتار درد در دو مدل CCI و SNI مشابه بوده و در موش‌های صحرایی نر حس مکانیکی و حرارتی به طور متفاوتی تحت تاثیر هورمون‌های جنسی قرار دارند.

واژه‌های کلیدی: SNI, CCI, گنادکتومی، موش صحرایی نر.

مقدمه

عصبی و در غیاب آسیب پیش‌رونده‌ی بافتی ایجاد می‌شود [۳]. این درد که حاصل قطع و یا تحت فشار قرار گرفتن عصب است، یکی از دردهای کلینیکی شایع می‌باشد و اغلب به ضد دردهای رایج از قبیل داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی و اپیوئیدها پاسخ نمی‌دهد [۲۵، ۱۲، ۲، ۱]. از علائم مشخص درد نوروپاتیک احساس درد نسبت به محرک‌های غیردردناک مانند لمس ملایم

درد نوروپاتیک، دردی است که به دنبال نارسایی سیستم

fnasiri@iums.ac.ir
www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:
وبگاه مجله:

مدل‌های حیوانی مختلف به طور متفاوتی به درمان‌های معرفی شده پاسخ می‌دهند و حتی به نظر می‌رسد در یک مدل حیوانی در مراحل مختلف مکانیسم‌های متفاوتی می‌توانند دخالت داشته باشند. در این رابطه Gaumond و همکارانش نشان دادند که در تست فرمالین هورمون‌های جنسی ماده بطور موثرتری میزان درد در فاز میانی تست فرمالین را کنترل می‌کنند و در این بین نقش کنترلی ۱۷ بتا استرادیول نسبت به مشتقات دیگر بیشتر می‌باشد. این در حالی است که هورمون‌های جنسی مردانه، عمدتاً تستوسترون، بیشتر در کاهش درد در فاز I و II تست فرمالین موثر می‌باشد و اثری بر فاز میانی ندارند [۱۱]. این نتایج بر خلاف نتایج آزمایشات Ceccarelli و همکارانش است و نشان داد که انجام عمل گنادکتومی در حیوانات نر اثری بر نتایج حاصل از تست فرمالین برای اولین بار نخواهد داشت و در این حیوانات نتایج تست فرمالین مشابه حیوانات سالم می‌باشد [۸] که این امر نشان دهنده اثرات متفاوت هورمون‌های جنسی در مراحل مختلف درد و تناقضات موجود در آزمایشات مختلف است.

یکی از معروف‌ترین و پر استفاده‌ترین مدل‌های معرفی شده جهت بررسی مکانیسم‌های درد نوروپاتیکی مدل CCI (chronic constriction injury) است که توسط Bennett و Xie در سال ۱۹۸۸ معرفی شد [۴]. در این مدل که با ایجاد ۴ گره شل بر عصب سیاتیک ایجاد می‌شود علائمی چون درد خودبخودی، آلودینیا و هیپر آجزیای مکانیکی و حرارتی مشاهده می‌شود. که در عرض ۲ هفته به حداکثر خود رسیده و پس از تقریباً ۴۵ روز از بین می‌رود. بر اساس آزمایشات Nagano و همکارانش در این مدل ۷ روز پس از ایجاد آسیب مقدار GDNF در گانگلیون ریشه پشتی (DRG) در مقاطع L4 و L5 بطور چشم‌گیری کاهش می‌یابد و با تزریق داخل نخاعی این ماده می‌توان باعث کاهش درد ایجاد شده در این مدل شد. در حالی که چنین کاهشی در مدل‌های درد دیگر با یک هفته تاخیر ایجاد می‌شود [۲۰]. این امر تاکید کننده وجود مکانیسم‌های مختلف در ایجاد درد در مدل‌های حیوانی متفاوت است.

در مدل دیگری که توسط Woolf و Decosterd در سال ۲۰۰۰ ارائه شده و به SNI (spared nerve injury) معروف است [۱۰]. رشته‌های Tibial و common peroneal در

و هوای سرد است. این حالت به آلودینیا معروف است. همچنین در بسیاری از موارد تشدید پاسخ به محرک‌های دردزا یا هیپر آجزیا نیز وجود دارد که همراه با تغییرات نوروپلاستیک در سطح نخاع می‌باشد [۲۴].

امروزه تفاوت‌های جنسی در ادراک درد به‌خوبی به اثبات رسیده است. آستانه درد به‌طور تجربی در زنان پایین‌تر بوده [۲۱] و در بسیاری از شرایط دردهای مزمن در زنان بیشتر می‌باشد [۲۲]. تحقیقات گذشته نشان داده‌اند که هورمون‌های بیضه در جنس مرد تحت تاثیر سیستم اپیوئیدی می‌باشد، این در حالی است که خود سیستم اپیوئیدی نیز تحت تاثیر هورمون‌های جنسی قرار می‌گیرد. علاوه بر سیستم اپیوئیدی، سیستم اندوکراین نیز بر روی حساسیت و پاسخ به درد تاثیر می‌گذارد که آن نیز به‌طور مشخص تحت تاثیر هورمون‌های جنسی همچون تستوسترون قرار دارد [۷]. این امر نشان دهنده نقش هورمون‌های جنسی در بروز درد و پاسخ‌های رفتاری مربوط به آن می‌باشد.

در رابطه با دخالت هورمون‌های جنسی در بروز رفتارهای درد نتایج آزمایشات Lin و همکارانش نشان دهنده افزایش رفتار اتوتومی بعد از خروج بیضه‌ها در حیوانات مبتلا به درد نوروپاتیکی بوده که استفاده از تستوسترون خارجی باعث بهبود آن شده است [۱۶]. در این مطالعه برای ایجاد درد نوروپاتیکی از روش قطع عصب سیاتیک استفاده شده است.

بر اساس نتایج آزمایشات Tall و همکارانش در موش‌های نری که گنادهای سالم داشتند زمان تاخیر در پاسخ در تست plantar کمتر از حیوانات سالم ماده می‌باشد. در صورتی که حیوانات نر یا ماده تحت عمل گنادکتومی قرار گیرند تغییری در شروع علائم درد ایجاد نمی‌شود ولی کاهش علائم درد در حیوانات گنادکتومی شده سه هفته دیرتر از حیوانات سالم به وقوع می‌پیوندد که نشان دهنده نقش هورمون‌های جنسی در کاهش علائم درد نوروپاتیکی و فرآیندهای ایجاد کننده درد است [۲۳].

در رابطه با بررسی مکانیسم‌های ایجاد درد نوروپاتیکی و دنبال آن درمان آن تحقیقات زیادی انجام شده است و جهت این امر مدل‌های حیوانی متعددی معرفی شده‌اند. با مطالعه بر روی این مدل‌های حیوانی مشخص شده که مکانیسم‌های متعددی در ایجاد و پایداری این نوع درد دخیل می‌باشد و

علاوه بر عمل آسیب عصبی SNI، تحت عمل گنادکتومی دو بیضه نیز قرار می‌گرفتند.

پیش از انجام گنادکتومی و ایجاد مدل درد، جهت بی‌هوش کردن حیوانات از تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین ۲٪ به نسبت ۸ به ۱ استفاده شد. سپس عمل گنادکتومی و یا Sham به طریقی که بدان اشاره خواهد شد، انجام می‌گرفت. دو هفته پس از این عمل، مجدداً حیوان با روش مشابهی بی‌هوش شده و عمل آسیب عصبی انجام می‌شد. در این مطالعه جهت ایجاد درد نوروپاتی از دو مدل CCI و SNI استفاده گردید.

جهت بررسی نقش هورمون‌های جنسی نر در روند ایجاد و پیشرفت هایپرآلجزی ناشی آسیب عصب محیطی و ایجاد درد نوروپاتی، گنادکتومی (برداشتن بیضه‌ها) در موش‌های صحرایی صورت گرفت. به این ترتیب که پس از بی‌هوش نمودن حیوانات مطابق روش ذکر شده و قرار دادن حیوان بر تخته تشریح و تراشیدن موهای کیسه بیضه، پوست ناحیه اسکروتوم برش داده می‌شد. سپس بیضه‌ها نمایان شده و از انتهای طناب اسپرمی با نخ بخیه به عنوان لیگاتور، بسته و قطع می‌شدند. سپس محل عمل جراحی تمیز شده و پوست بخیه زده می‌شد.

لازم به ذکر است که در گروه‌های A و B که گروه‌های Sham بودند، مراحل فوق به همان ترتیب انجام می‌گرفت؛ با این تفاوت که پس از ایجاد برش در کیسه بیضه و نمایان شدن بیضه‌ها، بدون برداشتن آنها، اسکروتوم بخیه زده می‌شد.

جهت ایجاد آسیب عصبی دو هفته پس از انجام عمل گنادکتومی و یا Sham، موش‌های صحرایی مجدداً با روش گفته شده بی‌هوش می‌شدند. پس از حصول اطمینان از بی‌هوشی کامل، برشی کوچک در راستای خط فرضی که زانوی پای چپ را به خار استخوان ایلیاک متصل می‌کند، ایجاد شد. پس از بریدن و کنار زدن عضله biceps femoris و مشاهده عصب سیاتیک، به وسیله پنس مخصوص اتصالات همبندی عصب از سایر بافت‌های مجاور جدا گردید. جهت ایجاد درد، از مدل CCI ارائه شده توسط Bennett و Xie [۴] و مدل SNI ارائه شده توسط Decosterd و Woolf استفاده گردید [۱۰].

عصب سیاتیک قطع شده و شاخه sural آن دست نخورده باقی می‌ماند. در این مدل نیز علائم آلودینیا و هایپرآلجریا مشاهده می‌شود ولی زمان شروع و خاتمه آن نسبت به مدل CCI متفاوت می‌باشد. در مدل SNI آلودینیا مکانیکی سریعتر از هایپرآلجریا ظاهر می‌شود. Bourgiun و همکارانش نشان دادند که در مدل SNI نقش رشته‌های عصبی مختلف در بروز علائم یکسان نمی‌باشد و آسیب به عصب tibial به تنهایی باعث شدت هایپرآلجریای مکانیکی می‌شود [۵].

با توجه به نقش هورمون‌های جنسی در کاهش میزان درد و بروز علائم و پاسخ‌های فارماکولوژیکی متفاوت که بدلیل تفاوت در مکانیسم‌های مختلف در ایجاد درد در مدل‌های حیوانی ارائه شده می‌باشد هدف مطالعه حاضر مقایسه نقش هورمون‌های جنسی نر در پاسخ‌های رفتاری درد در دو مدل معرفی شده درد نوروپاتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع مداخله‌ای تجربی بوده و بر روی ۴۰ سر رت نر بالغ نژاد Sprague Dawely در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام گرفت. حیوانات در قفس‌های گروهی (۴ سر در هر قفس) در شرایط مناسب از نظر درجه حرارت ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) و دوره نوردهی ۱۲ ساعته نگهداری می‌شدند و دسترسی کافی به آب و غذا داشتند. این ۴۰ موش صحرایی به‌طور تصادفی در ۴ گروه ۱۰ تایی به صورت زیر تقسیم و مورد بررسی قرار گرفتند:

گروه A یا Sham+CCI: شامل حیواناتی بود که تحت عمل آسیب عصبی CCI قرار گرفتند و همچنین برش بر روی اسکروتوم بدون برداشتن بیضه‌ها (Sham) در این گروه انجام شد.

گروه B یا Sham+SNI: شامل حیواناتی بود که تحت عمل آسیب عصبی SNI قرار گرفتند و همچنین برش بر روی اسکروتوم بدون برداشتن بیضه‌ها (Sham) در این گروه انجام شد.

گروه C یا CCI+ گنادکتومی: شامل حیواناتی بود که علاوه بر عمل آسیب عصبی CCI، تحت عمل گنادکتومی دو بیضه نیز قرار می‌گرفتند.

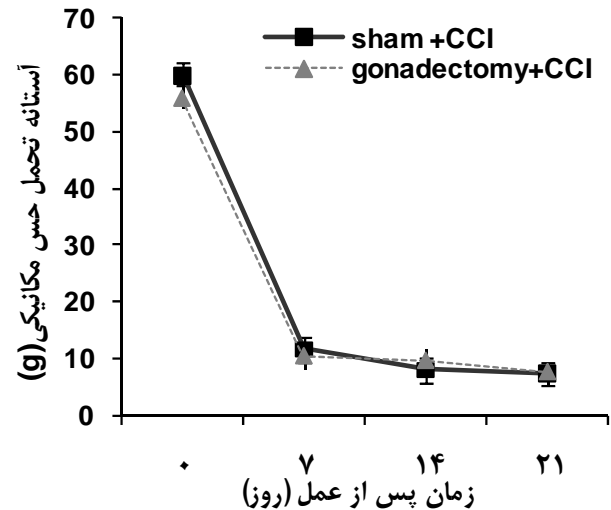
و گروه D یا SNI+ گنادکتومی: شامل حیواناتی بود که

جهت اندازه‌گیری هیپرالجزیای مکانیکی از دستگاه analgesy-meter (شرکت ugo Basile، ایتالیا) استفاده شد. برای انجام این تست حیوان در حالتی که شکمش از سطح زمین بالاتر باشد و احساس ناراحتی نکند گرفته شده کف پای آن بر روی محل مخصوص دستگاه قرار داده می‌شد با فشردن پدال با کمک اهرم، فشاری افزایشنده به پای حیوان وارد می‌شد و به محض عقب کشیدن پا و یا بیخ زدن حیوان اعمال نیرو متوقف شده و عدد نشان داده شده بر روی خط‌کش دستگاه ثبت می‌شد این تست برای پای چپ ۲ بار با فواصل حداقل ۲ دقیقه انجام می‌شد و از نتایج بدست آمده میانگین گرفته شد.

جهت انجام هیپرالجزیای حرارتی از دستگاه Plantar test (شرکت ugo Basile، ایتالیا) استفاده شد به این ترتیب که حیوان در محفظه مخصوص دستگاه قرار داده شده و پس از ۱۰ دقیقه سازگاری با محیط، اشعه به کف پای حیوان تابانده می‌شد و همزمان کروномتر دستگاه شروع به کار می‌کرد. به محض حرکت دادن و یا بلند کردن پا کروномتر متوقف شده و عدد آن ثبت می‌شد. این عمل برای پای آسیب دیده ۳ بار به فواصل حداقل ۲ دقیقه انجام گردید و میانگین اعداد بدست آمده ثبت گردید.

جهت سنجش آلودینیای مکانیکی از تارهای شماره ۴/۶۵، ۴/۷۴، ۴/۹۳، ۵/۰۷، ۵/۱۸، ۵/۴۶ و ۵/۸۸ ست von Frey استفاده گردید. به منظور انجام این تست حیوانات در قفس‌های مخصوص قرار گرفتند و توسط تارهای ذکر شده به کف پای حیوان فشار وارد شد. هر تار ۵ بار با فواصل حداقل ۵ ثانیه تست شد و در صورتی که حیوان به ۳ مورد از ۵ مورد تست شده با کشیدن پا و یا جویدن آن پاسخ داد آن فشار به عنوان آستانه ثبت گردید.

در نهایت کلیه اطلاعات توسط نرم افزار آماری SPSS v.13 تحت آنالیز آماری قرار گرفت. بدین منظور در آنالیز توصیفی از شاخص مرکزی میانگین و شاخص پراکندگی انحراف از معیار یا SD (Standard deviation) و در آنالیز تحلیلی از آزمون‌های آماری Paired t-test، Independent t-test و Mann-Whitney u-test استفاده شد. در تمامی آزمون‌ها، سطح معنی‌داری برابر ۹۵٪ در نظر گرفته شده و P-value کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردید.

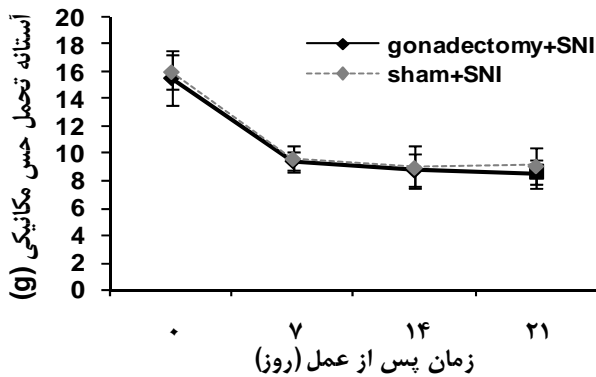


شکل ۱- آستانه تحمل حس مکانیکی با استفاده از تست von Frey در موش‌های صحرایی CCI شده که تحت عمل گنادکتومی و sham قرار گرفته‌اند. اختلاف آماری معنی‌داری در هیچیک از روزهای آزمایش بین دو گروه مشاهده نشد.

جهت ایجاد CCI با استفاده از نخ بخیه کرومیک ۴/۰، در محل قبل از سه شاخه شدن عصب سیاتیک، چهار گره شل با فواصل یک میلیمتری به دور آن ایجاد گردید؛ به گونه‌ای که جریان خون عصب، قطع نگردد. نحوه شلی گره‌ها با استفاده از حرکت دادن نخ‌های گره زده شده بر روی عصب تخمین زده شد و جهت اطمینان از برقراری جریان خون، از میکروسکوپ لوپ استفاده گردید. سپس به ترتیب با استفاده از نخ سیلک، عضله و پوست جداگانه بخیه زده شدند. در صورتی که حیوانات علائم مربوط به مدل CCI مانند جمع شدگی انگشتان پا و عدم برقراری وزن بدن بر روی پای آسیب دیده را نشان نمی‌دادند، از مطالعه کنار گذاشته می‌شدند.

جهت ایجاد SNI پس از مشخص شدن محل سه شاخه شدن عصب سیاتیک، بر روی دو شاخه تیبیال و پرونتال عصب توسط نخ کرومیک ۴/۰ گره محکمی زده می‌شد. لازم به ذکر است که شاخه سوم یعنی عصب سورال دست نخورده باقی می‌ماند. سپس دیستال به گره‌های زده شده، این دو شاخه از عصب قطع گردید. پس از ایجاد آسیب عصبی، مشابه روش قبلی، عضله و پوست جداگانه بخیه زده شدند. در صورتی که حیوانات علائم مربوط به آسیب عصبی مانند آنچه قبلاً ذکر گردید را نشان نمی‌دادند از مطالعه کنار گذاشته می‌شدند.

جهت سنجش آستانه درد، حیوانات مورد نظر یکبار قبل از انجام عمل آسیب عصبی (روز صفر) و سپس در هفته‌های اول، دوم و سوم پس از آسیب عصبی مورد آزمایش قرار گرفتند.

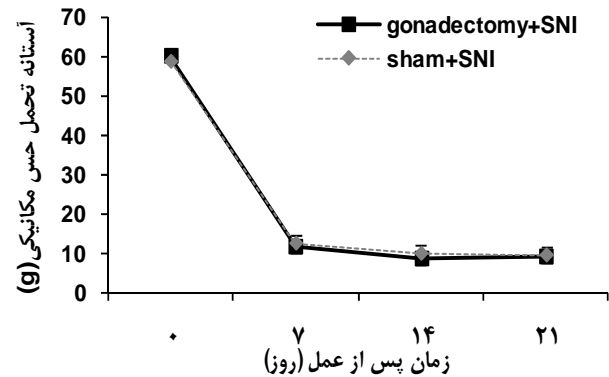


شکل ۴- آستانه تحمل حس مکانیکی با استفاده از تست Randal Solitto در موش‌های صحرایی SNI شده که تحت عمل گنادکتومی و sham واقع شده‌اند. اختلاف آماری معنی‌داری بین دو گروه در هیچ یک از روزهای آزمایش مشاهده نشد.

($P < 0.001$) پس از عمل آسیب عصبی در مقایسه با قبل از این عمل کاهش داشته است. شکل ۱ آستانه تحمل آلودینیای مکانیکی را که با استفاده از تست von Frey سنجیده شده است، در دو گروه A (Sham+CCI) و C (CCI+ گنادکتومی) با یکدیگر مقایسه می‌کند. همان‌طور که مشاهده می‌شود علی‌رغم کاهش قابل توجه آستانه تحمل در هر دو گروه پس از انجام عمل آسیب عصبی، تفاوت آماری معنی‌داری در آستانه حس مکانیکی در روزهای هفتم [gr] $10/13$ ($SD=2/17$) در مقابل [gr] $11/62$ ($SD=2/87$)، ($P > 0.05$)، چهاردهم [gr] $9/38$ ($SD=2/67$) در مقابل [gr] $11/07$ ($SD=1/07$)، ($P > 0.05$) و بیست و یکم [gr] $7/75$ ($SD=1/49$)، ($P > 0.05$) پس از عمل بین دو گروه A و C در مقایسه با یکدیگر وجود ندارد.

شکل ۲ آستانه تحمل آلودینیای مکانیکی را که توسط آزمون von Frey سنجیده شده است، در دو گروه B (Sham+SNI) و D (SNI+ گنادکتومی) با یکدیگر مقایسه می‌کند. همان‌طور که مشاهده می‌شود در این دو گروه نیز علی‌رغم کاهش قابل توجه آستانه تحمل پس از انجام عمل آسیب عصبی در هر دو گروه، تفاوت آماری معنی‌داری در آستانه حس مکانیکی در روزهای هفتم [gr] $12/00$ ($SD=3/29$) در مقابل [gr] $11/63$ ($SD=2/87$)، ($P > 0.05$)، چهاردهم [gr] $9/38$ ($SD=2/67$) در مقابل [gr] $11/50$ ($SD=1/41$)، ($P > 0.05$) و بیست و یکم [gr] $9/62$ ($SD=2/39$) در مقابل [gr] $11/03$ ($SD=1/03$)، ($P > 0.05$) پس از عمل به ترتیب بین دو گروه B و D در مقایسه با یکدیگر وجود ندارد.

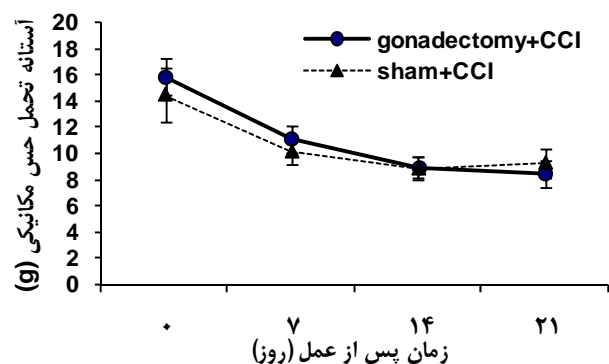
نتایج آنالیز آماری همچنین نشان می‌دهد که در تمامی چهار



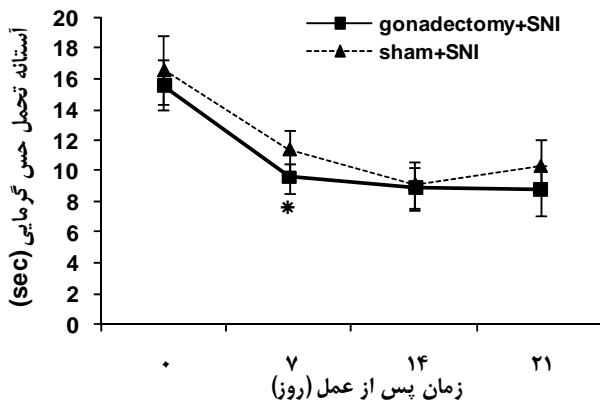
شکل ۲- آستانه تحمل حس مکانیکی با استفاده از تست von Frey در موش‌های صحرایی SNI که تحت عمل گنادکتومی و sham واقع شده‌اند. اختلاف آماری معنی‌دار در هیچ یک از روزهای آزمایش بین دو گروه مشاهده نشد.

یافته‌ها

همان‌گونه که پیشتر توضیح داده شد، دو هفته پس از انجام عمل گنادکتومی و یا Sham، آسیب عصبی به یکی از دو روش SNI و CCI در موش‌های صحرایی ایجاد شده و روند پیدایش هایپرآلجزی متعاقب آسیب عصب سیاتیک در دو مدل درد CCI و SNI در فواصل زمانی پیش از ایجاد آسیب عصبی، روزهای هفتم، چهاردهم و بیست و یکم پس از عمل در موش‌های صحرایی نر سالم و گنادکتومی شده مورد بررسی قرار می‌گرفت. نتایج آنالیز تحلیلی با آزمون آماری Paired t-test نشان می‌دهد که در تمامی چهار گروه مورد مطالعه، آستانه حس مکانیکی - سنجیده شده با تست von Frey - به‌طور معنی‌داری در روزهای هفتم ($P < 0.001$)، چهاردهم ($P < 0.001$) و بیست و یکم



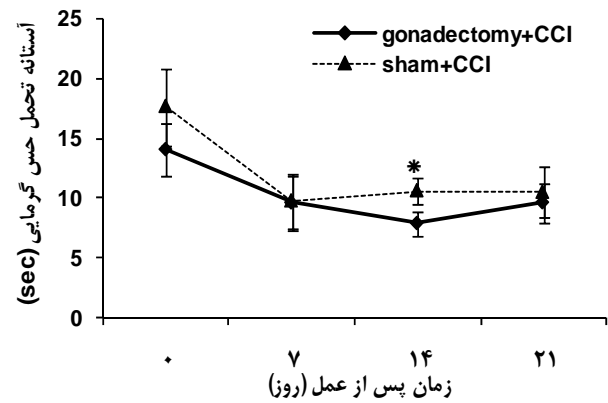
شکل ۳- آستانه تحمل حس مکانیکی با استفاده از تست Randal Solitto در موش‌های صحرایی CCI شده که تحت عمل گنادکتومی و sham واقع شده‌اند. اختلاف آماری معنی‌داری بین دو گروه در هیچ یک از روزهای آزمایش مشاهده نشد.



شکل ۶- آستانه تحمل حس گرمایی با استفاده از تست Radiant heat در موش‌های سحرایی SNI شده که تحت عمل گنادکتومی و sham قرار گرفته‌اند. اختلاف آماری معنی‌دار بین دو گروه در روز هفتم پس از عمل آسیب عصبی مشاهده شد ($P < 0.05$).

داشته است. شکل ۵ آستانه تحمل حس حرارتی را که توسط آزمون Plantar سنجیده شده است، در دو گروه A (Sham+CCI) و C (CCI + گنادکتومی) با یکدیگر مقایسه می‌کند. همان‌طور که مشاهده می‌شود آستانه تحمل حس حرارتی در روز چهاردهم پس از عمل [gr (SD=1/0.2) 7/87] در مقابل [gr (SD=1/6.0) 9/96, $P = 0.008$] در گروه C (گنادکتومی شده) به طور معنی‌داری از گروه A پایین‌تر است. در حالی که در روزهای هفتم [gr (SD=2/22) 9/59] در مقابل [gr (SD=2/42) 9/72, $P > 0.05$] و بیست و یکم پس از عمل [gr (SD=1/69) 9/60] در مقابل [gr (SD=2/0.7) 10/14, $P > 0.05$] این اختلاف بین دو گروه C و A از نظر آماری معنی‌دار نیست.

شکل ۶ آستانه تحمل حس حرارتی را در دو گروه B (Sham +SNI) و D (SNI + گنادکتومی) با یکدیگر مقایسه می‌کند. همان‌طور که مشاهده می‌شود در این دو گروه هم کاهش قابل توجهی در آستانه تحمل محرک حرارتی پس از انجام عمل آسیب عصبی در هر دو گروه نسبت به شرایط قبل از عمل مشاهده می‌شود، ولی تفاوت آماری معنی‌دار در آستانه آلودینیای حس حرارت، تنها در روز هفتم پس از عمل دیده شد. بدین صورت که آستانه حس حرارت در گروه D (گنادکتومی شده) به‌طور معنی‌داری از گروه B در این روز کمتر بود [gr (SD=0/95) 9/57] در مقابل [gr (SD=1/91) 11/76, $P = 0.015$]. در حالی که اختلاف آماری معنی‌داری در آستانه حس حرارت در روزهای چهاردهم [gr (SD=1/42) 8/92] در مقابل [gr (SD=2/0.3) 9/16, $P > 0.05$] و بیست و یکم [gr (SD=1/88) 8/77] در مقابل [gr (SD=2/30) 9/30]

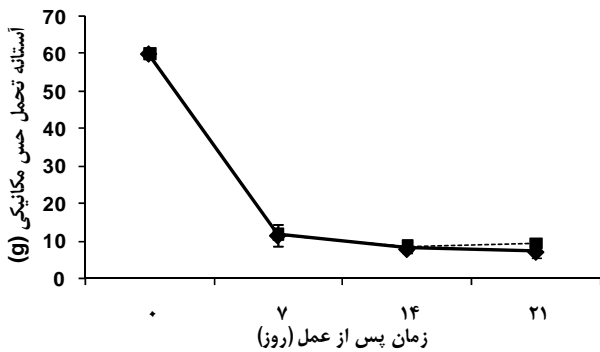


شکل ۵- آستانه تحمل حس گرمایی با استفاده از تست Radiant heat در موش‌های سحرایی CCI شده که تحت عمل گنادکتومی و sham قرار گرفته‌اند. اختلاف آماری معنی‌دار بین دو گروه در روز چهاردهم پس از عمل آسیب عصبی مشاهده شد ($P < 0.05$).

گروه مورد مطالعه، آستانه حس مکانیکی به‌طور معنی‌داری در روزهای هفتم ($P = 0.001$)، چهاردهم ($P < 0.001$) و بیست و یکم ($P < 0.001$) پس از عمل آسیب عصبی در مقایسه با قبل از این عمل کاهش داشته است. شکل ۳ آستانه تحمل حس مکانیکی را در دو گروه A (Sham+CCI) و C (CCI + گنادکتومی) با یکدیگر مقایسه می‌کند. همان‌طور که مشاهده می‌شود در هیچ یک از روزهای آزمایش تفاوت معنی‌داری بین این دو گروه وجود ندارد.

شکل ۴ آستانه تحمل حس مکانیکی را در دو گروه B (Sham+SNI) و D (SNI+گنادکتومی) با یکدیگر مقایسه می‌کند. همان‌طور که مشاهده می‌شود در این دو گروه هم کاهش قابل توجهی در آستانه تحمل حس مکانیکی پس از انجام عمل آسیب عصبی در هر دو گروه نسبت به شرایط قبل از عمل مشاهده می‌شود، ولی تفاوت آماری معنی‌داری در آستانه حس مکانیکی در روزهای هفتم [gr (SD=1/0.6) 9/59] در مقابل [gr (SD=0/62) 9/47, $P > 0.05$]، چهاردهم [gr (SD=1/57) 9/12] در مقابل [gr (SD=1/21) 8/78, $P > 0.05$] و بیست و یکم [gr (SD=1/0.2) 9/09] در مقابل [gr (SD=1/53) 8/53, $P > 0.05$] پس از عمل بین دو گروه B و D در مقایسه با یکدیگر وجود ندارد.

نتایج مربوط به تست مربوط به هیپرالجزیای حرارتی نیز نشان می‌دهد که در تمامی چهار گروه مورد مطالعه، آستانه تحمل محرک حرارتی به‌طور معنی‌داری در روزهای هفتم ($P = 0.005$)، چهاردهم ($P = 0.001$) و بیست و یکم ($P = 0.001$) پس از عمل آسیب عصبی در مقایسه با قبل از این عمل کاهش



شکل ۹- آستانه تحمل حس مکانیکی (تست von frey) درموش‌های صحرایی SNI و CCI که تحت عمل گنادکتومی واقع شده‌اند. تفاوت معنی‌داری بین این دو گروه در هیچ یک از روزهای آزمایش وجود ندارد.

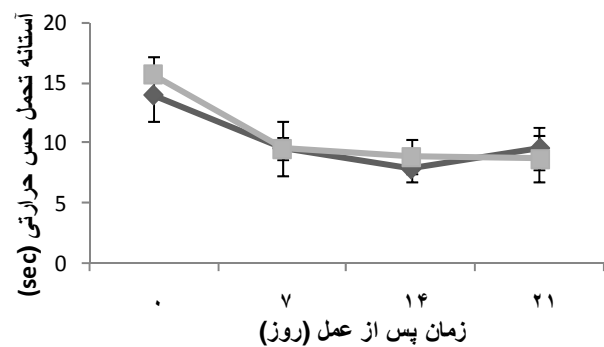
بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مدل‌های آسیب عصبی CCI و SNI منجر به کاهش آستانه درد در موش‌های صحرایی می‌گردد و آلودینیا و هیپر آجزیای ایجاد شده به دنبال آسیب عصبی در این مدل تا آخرین روز آزمایش یعنی روز بیست و یکم پس از عمل نیز باقی می‌ماند.

همچنین مطالعه حاضر نشان می‌دهد که آستانه تحمل نسبت به محرک حرارتی در موش‌های گنادکتومی شده پایین‌تر است. به عبارت دیگر موش‌های گنادکتومی شده که دارای سطوح پایین‌تری از هورمون جنسی تستوسترون می‌باشند، پاسخ شدیدتری به هیپرآجزیای حرارتی از خود بروز می‌دهند.

در مطالعه مشابهی که بر روی موش‌های سوری انجام گرفت، برداشتن بیضه‌ها در موش‌های سوری نر باعث به وجود آمدن حساسیت بیشتر نسبت به محرک ایجاد درد حاد گردید همچنین موش‌هایی که عصب سیاتیک آن‌ها تحت فشار و متعاقباً تحت عمل گنادکتومی قرار گرفته بودند، در زمان کوتاهی به آزمون پس کشیدن دم (tail flick) پاسخ دادند [۱۳].

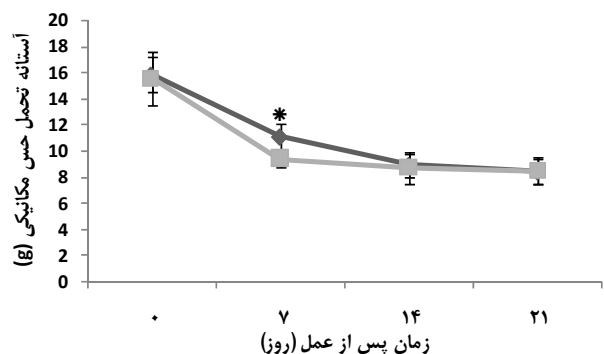
در مطالعه‌ای که توسط Tall و همکارانش در سال ۲۰۰۱ انجام شد [۲۳]، پژوهشگران اعلام داشتند که علایم رفتاری موش‌های صحرایی با جنسیت و وضعیت هورمونی آن‌ها رابطه مشخصی ندارد. در این مطالعه مشابه پژوهش حاضر از مدل CCI جهت ایجاد آسیب عصبی استفاده شده و همچنین از تست von Frey به منظور سنجش آستانه تحمل آلودینیای مکانیکی



شکل ۷- آستانه تحمل حس حرارتی در موش‌های صحرایی SNI و CCI که تحت عمل گنادکتومی واقع شده‌اند. تفاوت معنی‌داری بین این دو گروه در هیچ یک از روزهای آزمایش وجود ندارد.

با $P > 0.05$ ، $10/41$ پس از عمل بین دو گروه B و D در مقایسه با یکدیگر دیده نشد.

شکل‌های ۷، ۸ و ۹ مقایسه بین آستانه تحمل حس مکانیکی و حرارتی در دو گروه CCI و SNI که تحت عمل گنادکتومی واقع شده بودند را نشان می‌دهد. همانگونه که مشخص می‌باشد تفاوت آماری معنی‌داری بین دو گروه C (گنادکتومی و CCI) و D (گنادکتومی و SNI) در رابطه با تست von frey وجود ندارد. و در تمام روزهای آزمایش بین این دو گروه تفاوت آماری معنی‌داری دیده نمی‌شود. این در حالی است که نتایج آزمون‌های آماری اختلاف معنی‌داری را در روز هفتم پس از عمل در آستانه حس مکانیکی سنحیده شده با تست Randall sellitto نشان می‌دهد و در آستانه حس حرارتی بین دو گروه ذکر شده از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.



شکل ۸- آستانه تحمل حس مکانیکی (تست Randal Sellitto) در موش‌های صحرایی SNI و CCI که تحت عمل گنادکتومی واقع شده‌اند. تفاوت معنی‌داری بین این دو گروه در روز هفتم پس از عمل آسیب عصبی مشاهده شد ($P < 0.05$).

استفاده شد؛ که مانند مطالعه حاضر اختلاف آماری معنی‌داری در پاسخ موش‌های صحرایی گنادکتومی شده و دارای گناد در مدل آسیب عصب محیطی نسبت به تست von Frey دیده نشد. Hall و همکارانش نیز در سال ۲۰۰۵ در مطالعه مشابه دیگری که بر روی موش‌های سوری و با مدل CCI انجام گرفت نشان دادند که ارتباط قابل توجهی بین پاسخ به درد و هورمون‌های جنسی در آلودینیای مکانیکی وجود ندارد [۱۴]. در این رابطه نتایج آزمایشات میرزایی و همکارانش بر روی دو مدل CCI و SNI نیز نشان داده است که در موش‌های نر مال تفاوت آماری معنی‌داری تا روز ۱۴ بعد از جراحی در آلودینیای مکانیکی تست شده با استفاده از رشته‌های von frey دیده نمی‌شود [۱۸]. بر اساس نتایج تحقیق حاضر اثر گنادکتومی در این دو مدل در تست von frey نیز یکسان بوده و در موش‌های صحرایی نر هورمون‌های مترشحه از گندهای جنسی اثر مشابهی در آلودینیای مکانیکی در این دو مدل درد ایجاد می‌نمایند و از این نظر تفاوت معنی‌داری بین دو مدل درد مزمن استفاده شده وجود ندارد

از سوی دیگر همانند مطالعه حاضر، در پژوهش Tall و همکارانش [۲۳] نیز در حس حرارتی اختلاف آماری معنی‌داری در پاسخ‌های رفتاری موش‌های صحرایی نر گنادکتومی شده و دارای گناد دیده شد. بدین صورت که موش‌های صحرایی فاقد گناد، علی‌رغم گذشت ۳۵ روز از مطالعه کماکان پاسخ شدیدتری به محرک حرارتی نشان می‌دادند. این محققین اعلام داشتند که انجام عمل گنادکتومی باعث طولانی شدن زمان درد خواهد شد. در مطالعه حاضر نیز موش‌های صحرایی نر گنادکتومی شده در روز چهاردهم پس از مدل CCI و روز هفتم پس از مدل SNI کاهش معنی‌داری را در آستانه تحمل حس حرارتی بروز دادند. این امر نشان می‌دهد که اثر گنادکتومی بر هیپرالجزیای حرارتی در مدل SNI زودتر حاصل می‌شود.

عقیم‌سازی در موش‌های صحرایی نر باعث کاهش معنی‌داری در آستانه درد حاد می‌شود [۱۵، ۱۷] که با تجویز تستوسترون به سطح اولیه خود برمی‌گردد [۱۵]. این نتایج بیان کننده این نکته است که تستوسترون می‌تواند از طریق مهارکردن اجزای فرآیند التهابی در کاهش درد عصبی نقش داشته باشد [۱۹]. مطالعات قبلی نشان می‌دهد که هورمون تستوسترون روند پاسخ ایمنی را در مدل‌های تجربی واکنش‌های

التهابی معکوس می‌نماید [۶].

البته نتایج مطالعات مختلف نشان می‌دهد که مکانیسم‌های متفاوتی در اثربخشی هورمون‌های جنسی بر آستانه تحریک‌پذیری محرک‌های درزا نقش دارند [۹، ۲۳]. به نظر می‌رسد که اثر هورمون‌های جنسی بر آستانه حس درد در مدل‌های درد حاد مشخص‌تر از مدل‌های حیوانی مربوط به درد مزمن می‌باشد. بعلاوه اثر متفاوت آن بر کاهش آلودینیای هیپرالجزیای مکانیکی و حرارتی می‌تواند تاکید کننده این مطلب باشد که انتقال حس‌های مختلف درد که توسط محرک‌های مختلف ایجاد می‌شود از طریق مسیرهای مجزا انجام می‌شود و این مسیرها در مدل‌های حیوانی به طور متفاوت تحت تاثیر عوامل هورمونی قرار می‌گیرد به همین دلیل اثر گنادکتومی بر هیپرالجزیای حرارتی مشخص‌تر از هیپرالجزیای مکانیکی می‌باشد. این احتمال وجود دارد که هورمون‌های استروئیدی با اثر بر تعداد و فعالیت رسپتورهای موثر در تسکین درد در سیستم عصبی باعث تغییر در آستانه حس درد گردند. همچنان که نشان داده شده است که برداشتن بیضه‌ها در موش‌های صحرایی نر تعداد گیرنده‌های اوبیوئیدی در مغز را کاهش می‌دهد و از این طریق سبب تشدید پاسخ به محرک‌های درزا و نوروپاتی‌ها می‌شود [۴].

مسئله دیگری که از نتایج حاصل از تحقیق حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد این است که آستانه حس درد در دو مدل ایجاد درد مزمن استفاده شده در این تحقیق (مدل CCI و SNI) به یک میزان تغییر می‌کند و در واقع تفاوتی بین این دو مدل در میزان درد ایجاد شده وجود ندارد. البته به نظر می‌رسد که آستانه حس مکانیکی در موش‌های گنادکتومی شده که تحت عمل SNI واقع شده بودند نسبت به حیواناتی که تحت عمل CCI واقع شده اند در هفته اول بیشتر کاهش می‌یابد. بنابراین به نظر می‌رسد که حس مکانیکی در مدل SNI بیشتر از مدل CCI تحت تاثیر هورمون‌های استروئیدی مترشحه از بیضه‌ها قرار دارد. بر اساس گزارش میرزایی و همکارانش تفاوت معنی‌داری بین این دو مدل از ابتدای آزمایش تا آخرین روز آزمایش در تست مورد سنجش جهت هیپرالجزیای حرارتی وجود دارد [۱۸]. موش‌های مورد آزمایش در تحقیق میرزایی موش‌هایی سالمی بودند که تحت عمل آسیب عصبی واقع شده بودند. در مطالعه حاضر در موش‌های گنادکتومی چنین تفاوت آماری معنی‌داری

استروئیدی گنادها در جنس نر بوده و تاثیر هورمون‌های بیضه بر حس مکانیکی و حرارتی نیز متفاوت می‌باشد. این نتایج می‌تواند بیانگر نقش احتمالی ضد دردی تستوسترون بر سیستم عصبی باشد. به هر حال روشن شدن نقش هورمون‌های جنسی و به‌ویژه مکانیسم اثرات آن‌ها در این زمینه هنوز نیازمند بررسی و مطالعه بیشتر است. از این رو، مطالعات بیشتر در زمینه بررسی تاثیر هورمون‌های جنسی بر ادراک درد و نیز پژوهش‌های تجربی در مدل‌های حیوانی به منظور استفاده از هورمون‌های جنسی و به ویژه تستوسترون جهت کاهش درد و افزایش آستانه‌ی تحمل محرک در دزها پیشنهاد می‌شود.

مشاهده نشده‌است و تقریباً در هیچ یک از روزهای آزمایش تفاوت آماری معنی‌داری در هیپرالجزیای حرارتی بین موش‌های گنادکتومی شده که تحت عمل CCI و SNI قرار گرفته بودند وجود نداشت. که نشان دهنده اثر یکسان هورمون‌های بیضه در هیپرالجزیای حرارتی در این دو مدل می‌باشد. نهایتاً یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که آستانه تحمل محرک حرارتی در موش‌های نر گنادکتومی شده به‌طور قابل توجهی پایین‌تر است. به عبارتی سطوح پایین‌تر هورمون جنسی تستوسترون منجر به تشدید پاسخ به محرک‌های دردزا و به‌ویژه حس حرارتی می‌شود. بعلاوه به نظر میرسد که مکانیسم ایجاد درد در مدل CCI بیشتر تحت تاثیر هورمون‌های

References

- [1] Arner S, Meyerson BA, Lack of analgesic effect of opioids on neuropathic and idiopathic forms of pain. *Pain* 33 (1988) 11-23
- [2] Barrett AC, Smith ES, Picker MJ, Capsaicin-induced hyperalgesia and mu-opioid-induced antihyperalgesia in male and female Fischer 344 rats. *J Pharmacol Exp Ther* 307 (2003) 237-245
- [3] Bennett GJ, Neuropathic pain. In: Wall PD, Melzack PD, Melzack R, editors. *Textbook of Pain*. 3rd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1994, p.201
- [4] Bennett GJ, Xie YK, A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorder of pain sensation like those seen in men. *Pain* 33 (1988) 87-107
- [5] Bourguin AF, Suveges M, Pertin M, Gilliard N, Sardy S, Davison AC, Spahn DR, Decosterd I, Assessment and analysis of mechanical allodynia-like behavior induced by spared nerve injury (SNI) in the mouse. *Pain* 122(1-2) (2006) 14-18
- [6] Boyer J, Morgan M, Craft R, Microinjection of morphine into rostral ventromedial medulla produces greater antinociception in male compared to female rats. *Brain Res* 796 (1998) 315-318
- [7] Candido J, Lutfy K, Billings B, Effect of adrenal and sex hormones on opioid analgesia and opioid receptor regulation. *Pharmacol Biochem Behav* 42 (1992) 685-692
- [8] Ceccarelli I, Scaramuzzino A, Massafra C, Aloisi AM, The behavioral and neuronal effects induced by repetitive nociceptive stimulation are affected by gonadal hormones in male rats. *Pain* 104 (2003) 35-47
- [9] Cook C, Barrett A, Roach E, Bowman J, Picker M, Sex-related differences in the antinociceptive effects of opioids: importance of rat genotype, nociceptive stimulus intensity, and efficacy at the mu opioid receptor. *Psychopharmacology* 150 (2000) 430-442
- [10] Decosterd I, Woolf CJ, Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain* 87 (2000) 149-158
- [11] Gaumond I, Spooner MF, Marchand S, Sex differences in opioid-mediated pain inhibitory mechanisms during the interphase in the formalin test. *Neuroscience* 146 (2007) 366-374
- [12] Guindon J, Walczak JS, Beaulieu P, Recent advances in the pharmacological management of pain. *Drugs* 15 (2007) 2121-33
- [13] Haghparast A, Ekhlaspour L, Navadeh KS, Ganjooei N, Role of gonadectomy in development of hyperalgesia induced by partial sciatic nerve ligation in male mice. *Tayeb Shargh* 8 (2007) 37-45.
- [14] Hall ED, Gibson TR, Pavel KM, Lack of a gender difference in post-traumatic neurodegeneration in the mouse controlled cortical impact injury model. *J Neurotrauma* 22 (2005) 669-679.
- [15] Korszun A, Young EA, Englebert NC, Brucksch CB, Greden JF, Crofford LA, Follicular phase hypothalamic-pituitary-gonadal axis function in women with fibromyalgia and chronic fatigue syndrome. *J Rheumatol* 27 (2000) 1526-1530.
- [16] Lin SM, Tsao CM, Tsai SK, Mok MS, Influence of testosterone on autotomy in castrated male rats. *Life Sci* 70 (2002) 2335-2340.
- [17] Marcus DA, I Nterrelationship of neurochemicals, estrogen, and recurring headache. *Pain* 62 (1995) 129-139.
- [18] Mirzaei V, Manaheji H, Keramati K, Maghsodi N, Zaringhalam J, Comparison of pain behavior responses in two peripheral neuropathic models (SNI, CCI) in rat. *Physiol Pharmacol* 11(2008) 276-281.
- [19] Mogil JS, Interactions between sex and genotype in the mediation and modulation of nociception in rodents. In: Fillingim RB editor. *Sex, Gender and Pain*. IASP Press, 2000, p. 25-40.
- [20] Nagano M, Sakai A, Takahashi N, Umino M, Yoshioka K, Suzuki H, Decreased expression of glial cell line-derived neurotrophic factor signaling in rat models of neuropathic pain. *Br J Pharmacol* 140 (2003) 1252-1260.
- [21] Riley JL, Robinson ME, Wise EA, Myers CD, Fillingim RB, Sex differences in the perception of noxious experimental stimuli: a meta-analysis. *Pain* 74 (1998) 181-187
- [22] Stavropoulos F, Hastie BA, Chronic facial pain in the female patient: treatment updates. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 19 (2007) 245-258.
- [23] Tall JM, Stuesse SL, Cruce WL, Crisp T, Gender and the behavioral manifestations of neuropathic pain. *Pharmacol Biochem Behav.* 68 (2001) 99-104.

[24] Woolf CJ, Mannion RJ, Neuropathic pain: etiology, symptoms, mechanisms, and management. *Lancet* 353 (1999) -1959-1964.

[25] Xiea W, Stronga JA, Meija JTA, Zhangb JM, Yua L, Neuropathic pain: Early spontaneous afferent activity is the trigger. *Pain* 116 (2005) 243–256.