

# بررسی تأثیر جنس و نژاد در تأثیر محرومیت غذایی بر رفتار درد در آزمون فرمالین در موش صحرایی

بقیه اله صالحی<sup>۱</sup>، حسن اژدری زرمهری<sup>۲</sup>، محمد صوفی آبادی<sup>۳</sup>، الهه ارمی<sup>۴</sup>، نعمت اله غیبی<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی پرستاری دانشکده پرستاری دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران  
<sup>۲</sup> استادیار فیزیولوژی مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران  
<sup>۳</sup> استادیار فیزیولوژی گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران  
<sup>۴</sup> مربی دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران  
<sup>۵</sup> دانشیار بیوفیزیک مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

نشانی نویسنده مسؤول: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، گروه فیزیولوژی، دکتر حسن اژدری زرمهری  
E-mail: hasan.azhdari@gmail.com

وصول: ۹۱/۸/۱، اصلاح: ۹۱/۱۰/۱۵، پذیرش: ۹۱/۱۲/۱۸

## چکیده

**زمینه و هدف:** به خوبی شناخته شده است که تفاوت‌های جنسی و نژادی در حساسیت به درد، درک درد، پاسخ به داروهای ضد درد و در شیوع دردهای مزمن دارای نقش می‌باشند. در این تحقیق تفاوت‌های جنسی و نژادی در تأثیر محرومیت غذایی بر رفتارهای دردی ناشی از آزمون فرمالین در موش صحرایی مطالعه شد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه تجربی در دانشگاه علوم پزشکی قزوین بر روی ۵۶ موش صحرایی در ۸ گروه با محدوده وزنی ۲۲۰ تا ۳۰۰ گرم انجام شد. گروه ۱ و ۲: اثر تزریق فرمالین بر رفتارهای دردی در موش‌های نر و ماده نژاد اسپراگ. گروه ۳ و ۴: اثر تزریق فرمالین بر رفتارهای دردی در موش‌های نر و ماده نژاد اسپراگ. گروه ۵ و ۶: اثرات محرومیت غذایی در رفتارهای دردی تحریک شده به وسیله آزمون فرمالین در موش‌های نر و ماده نژاد اسپراگ. گروه ۷ و ۸: اثرات محرومیت غذایی بر رفتارهای دردی برانگیخته شده توسط آزمون فرمالین در موش‌های نر و ماده نژاد اسپراگ. آب و غذا در دسترس موش‌ها بود و در محرومیت غذایی، ۴۸ ساعت قبل از انجام آزمون فرمالین حیوانات از غذا محروم می‌شدند. برای انجام آزمون فرمالین ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲٪ به کف پای راست موش‌های آزمایشگاهی تزریق گردید و رفتارهای دردی تا ۹۰ دقیقه ثبت شد.

**یافته‌ها:** تفاوت‌های معنی داری بین موش‌های صحرایی نر و ماده گروه کنترل در نژاد اسپراگ در مرحله‌ی فاز ۲B مشاهده شد. اگرچه مرحله اینترفاز در موش‌های نر نژاد اسپراگ طولانی تر از ماده‌ها بوده اما مرحله‌ی ۲B ماده‌های اسپراگ طولانی تر از نرها بوده و مرحله‌ی آخر فاز ۲ تاخیر دارد. تفاوت‌های معنی داری بین موش‌های صحرایی نر و ماده نژاد اسپراگ در آزمون فرمالین وجود نداشت. محرومیت غذایی ۴۸ ساعته در موش‌های صحرایی نر و ماده نژاد اسپراگ سبب پردردی و یا افزایش رفتارهای دردی به دنبال آزمون فرمالین در فاز ۱، اینترفاز و فاز ۲ شد. در حالیکه محرومیت غذایی ۴۸ ساعته سبب تفاوت‌های معنی داری در رفتارهای دردی برانگیخته شده با آزمون فرمالین تنها در فاز 2B برای نرها و فاز اینترفاز و فاز 2B برای ماده‌های نژاد اسپراگ شد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه وجود اختلاف وابسته به جنس و نژاد در موش‌های صحرایی نژاد اسپراگ نسبت به ویستار در توسعه و ماندگاری رفتارهای دردی به دنبال تزریق فرمالین در کف پای حیوان را نشان می‌دهد و همچنین این اختلاف به دنبال محرومیت غذایی دیده شد.

**واژه‌های کلیدی:** موش صحرایی نژاد ویستار، موش صحرایی نژاد اسپراگ، محرومیت غذایی، رفتارهای درد.

## مقدمه

سیستم درد یک سری پاسخ مناسب به محرک‌های دردی بیرونی و درونی فراهم می‌کند که نقش محافظتی در مواجه شدن موجود زنده با صدمات دارد و سبب پیشگیری ارگانیزم از صدمات می‌شود. تجربیات درد در اشخاص مختلف بسیار متفاوت بوده و ممکن است به علت تفاوت‌های ژنتیکی باشد که در چگونگی دریافت و انتقال درد و تعدیل درد توسط سیستم عصبی تأثیر می‌گذارد (۱). مطالعه روی درد و نقش مراکز عصبی گوناگون در انتقال، پردازش و تعدیل درد از دیرباز مورد نگرش پژوهشگران بوده است (۲-۴). تحقیقات پایه ای و بالینی ثابت کرده است که آستانه درد به طور معمول در ماده‌ها در مقایسه با نرها کمتر است (۵). موش‌های ماده پاسخ‌های دردی بیشتری نسبت به نرها در ایتترفاز آزمون فرمالین نشان می‌دهند. محرومیت از غذا باعث افزایش پاسخ رفتارهای ضددردی در جوندگان می‌گردد (۶)، اما اثرات درد ناشی از گرسنگی حاد در موش‌های ماده جوان از نرها بیشتر است. این تفاوت در بیان اثرات رفتارهای درد می‌تواند ناشی از مسیرهای تعدیل‌کننده درد وابسته به واگ و تنظیمات غده فوق کلیوی باشد که در نرها به شدت فعال شده، در حالی که در ماده‌ها با فعالیت کمتری همراه است (۷).

این حقیقت که نژادهای مختلف جوندگان برای بررسی تفاوت‌های حساسیت به درد و درمان استفاده شده‌اند گاهاً نتایج ضد و نقیضی به همراه داشته است. خصوصاً زمانی که این مشاهدات برای شواهد کلینیکی به کار گرفته شوند. دانستن این که چطور محرومیت غذایی بر رفتارهای دردی موثر است می‌تواند پایه‌گذار نقش محرومیت غذایی در ایجاد، ادامه و تشدید اختلالات وضعیت غذایی باشد. اگرچه تفاوت‌های جنسی بر محرومیت غذایی در رفتارهای دردی آزمون فرمالین در موش‌ها مشخص شده‌اند اما مطالعاتی که تفاوت‌های نژادی را نشان بدهند انجام نشده‌اند. هدف از این مطالعه

بررسی نقش نژاد و جنسیت در رفتارهای دردی بدنبال محرومیت غذایی در موش‌های صحرایی نر و ماده نژاد اسپراگ و ویستار می‌باشد. موش‌های صحرایی نر و ماده نژاد اسپراگ و ویستار به طور وسیعی برای سنجش درد در آزمون فرمالین و بویژه اثر حالات غذایی بر درد مورد استفاده قرار می‌گیرند و در برخی شرایط نتایج متناقض گزارش شده است این فرضیه به نظر می‌رسد که تأثیر نژاد و جنسیت را در آزمون فرمالین با محرومیت غذایی نشان بدهد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در دانشگاه علوم پزشکی بر روی ۵۶ موش صحرایی (موسسه رازی، هر گروه ۷ تا ۸ سر) در ۸ گروه با محدوده وزنی ۲۲۰ تا ۳۰۰ گرم انجام شد. گروه ۱ و ۲: اثر تزریق فرمالین بر رفتارهای دردی در موش‌های نر و ماده نژاد اسپراگ. گروه ۳ و ۴: اثر تزریق فرمالین بر رفتارهای دردی در موش‌های نر و ماده نژاد ویستار. گروه ۵ و ۶: اثرات محرومیت غذایی در رفتارهای دردی تحریک شده به وسیله آزمون فرمالین در موش‌های نر و ماده نژاد اسپراگ. گروه ۷ و ۸: اثرات محرومیت غذایی بر رفتارهای دردی برانگیخته شده توسط آزمون فرمالین در موش‌های نر و ماده نژاد ویستار. در این پژوهش از مطالعه اولیه رفتاری با مدل درد التهابی بوسيله فرمالین استفاده شد. دمای اتاق ۲۲ درجه سانتیگراد بود. حیوانات هر گروه در شرایط مراقبتی یکسانی با گردش زمانی ۱۲ ساعت تاریکی/روشنایی در سراسر مطالعه نگهداشته شدند. تمام آزمایشات بوسیله کمیته اخلاقی دانشکده علوم پزشکی قزوین تأیید شد. آزمایش‌ها بر اساس راهنمای اخلاقی موسسه بین‌المللی مطالعه درد انجام شدند. همه تلاشمان در این راستا بود که سطح درد و استرس و نیز تعداد موش‌های مورد استفاده را کاهش دهیم.

روش ایجاد محرومیت غذایی: قبل از شروع آزمایش،

حیوانات آزمایشگاهی به آب و غذا دسترسی کامل دارند و در مدل ایجاد محرومیت غذا، حیوانات به مدت ۴۸ ساعت قبل از آزمون فرمالین از غذا به طور کامل محروم می شوند.

**آزمون فرمالین:** آزمون فرمالین به طور وسیعی به عنوان مدل درد حاد و تونیک استفاده می شود و در برخی اوقات به عنوان مدلی برای دردهای مزمن یا التهابی و پردردی مورد استفاده قرار می گیرد (۸,۹). درزا بودن محرک، پاسخ های رفتاری غیر ارادی حیوان، حساس بودن درد ناشی از آن به داروهای ضد دردی از مزایای آزمون فرمالین است. علاوه بر این تحریک درد بجای موقتی بودن مداوم بوده و شبیه برخی دردهای کلینیکی است؛ حیوان استرس کمی در حین تزریق یا مشاهده رفتار دارد، همچنین در آزمون فرمالین از محرک دردی شیمیایی استفاده می شود که دارای دو فاز جداگانه بوده که انواع مختلف تعدیل درد را نشان می دهند (۱۰,۱۱). در آزمون فرمالین به منظور مشاهده و بررسی رفتار های حیوان، از یک محفظه شفاف با کف مسطح، به ابعاد  $30 \times 30 \times 30$  و از جنس پلکسی گلاس استفاده شد. برای مشاهده پنجه پای حیوان، در زیر این محفظه شفاف آئینه ای تعبیه شده است. در این تست، ۵۰ میکرولیتر محلول فرمالین ۲ درصد به زیر پوست پنجه پای حیوان توسط یک سر سوزن نمره ۳۰ تزریق شد.

به دنبال تزریق فرمالین، حیوان مجموعه ای از رفتارهای القاء شده با فرمالین و رفتارهای خودبخودی را نشان داد که نمره ۰ تا ۳ داده شد (۸,۹). نمره صفر: پای حیوان به طور طبیعی روی زمین بود، نمره ۱: پای حیوان مختصری روی زمین بود، نمره ۲: پای حیوان از زمین جدا بود و نمره ۳: گاز گرفتن و یا لیس زدن پای حیوان. تزریق فرمالین سبب رفتارهای درد شد که در بازه زمانی ۹۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین ثبت شدند. این رفتارها از دو مرحله تشکیل شده بودند که توسط اینترفاز از یکدیگر جدا می شدند. مرحله اول از دقیقه صفر تا ۷ بود. پس از

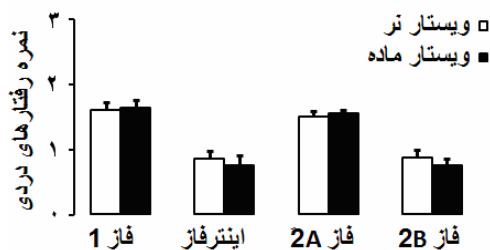
مرحله اول رفتارهای درد طی مرحله اینترفاز از دقیقه ۸ تا ۱۴ کاهش پیدا می کنند. سپس مرحله دوم شروع می شود که از دقیقه ۱۵ تا ۹۰ رتبه بندی شد. این مرحله به دو قسمت تقسیم شد: ۲A که از دقیقه ۱۵ تا ۶۰ و ۲B که از دقیقه ۶۱ تا ۹۰ بود (۱۲-۱۴). به دنبال تزریق فرمالین در هر ۱۵ ثانیه نمره ۰ تا ۳ داده شد و میانگین برای مرحله حاد (۷ دقیقه اول)، مرحله اینترفاز (۷ دقیقه دوم) و مرحله مزمن (۷۵ دقیقه پایانی) محاسبه شد. برای تحلیل آماری داده ها از نرم افزار SPSS16 استفاده شد داده ها بین دو گروه به کمک آزمون آماری T-test و برای چند گروه با آزمون آماری one-way ANOVA و سپس از آزمون های Tukey استفاده گردید. برای مقایسه تغییرات در میانگین نمرات در زمان های مختلف از روش Repeated ANOVA measure استفاده شد.  $P < 0.05$  به عنوان معیار معنی دار بودن اختلاف میانگین ها در نظر گرفته شد.

## یافته ها

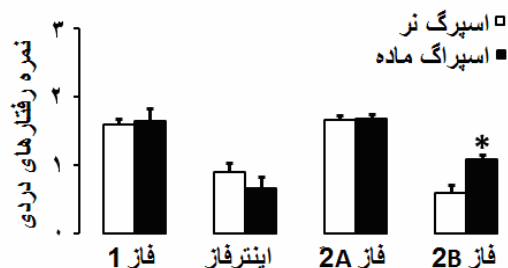
تزریق فرمالین به کف پای راست موجب پاسخ های دردی در دو مرحله گردید که بیش از ۱ ساعت قابل مشاهده بود (۲, ۱۳, ۱۵). مرحله اول و دوم با یک مرحله اینترفاز جدا می شود که رفتارهای دردی به صورت تضعیف شده وجود دارد. تفاوت های معنی داری بین موش های صحرائی نر و ماده گروه کنترل در نژاد اسپراگ در فاز اینترفاز و فاز ۲ مشاهده شد. در حالیکه در مرحله ۱ این تغییرات محسوس وجود نداشت. اگرچه مرحله اینترفاز در نژاد موش های نر اسپراگ طولانی تر از ماده ها بوده اما مرحله ۲B ماده های اسپراگ طولانی تر از نرها بوده و مرحله ای آخر فاز ۲ تاخیر دارد (شکل ۱).

تفاوت های معناداری بین موش های صحرائی نر و ماده نژاد ویستار گروه کنترل در طول فاز ۱، اینترفاز و فاز ۲ وجود نداشت (شکل ۲).

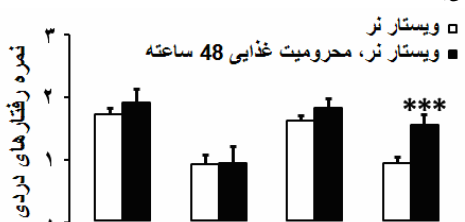
رفتارهای دردی تحریک شده به وسیله آزمون فرمالین در موش های صحرائی نر و ماده تحت محرومیت



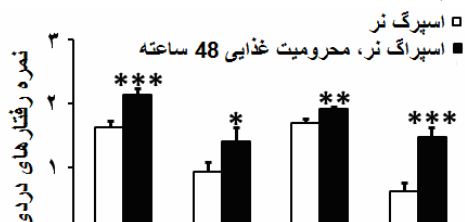
شکل ۲: اثرات تزریق فرمالین (۲ درصد و ۵۰ میکرولیتر) به کف پای راست موش‌های صحرایی نر و ماده‌ای نژاد ویستار در طول دوره مشاهده رفتارهای دردی در ۹۰ دقیقه (میانگین ۸-۶ رت در هر گروه). ستونها نشانگر مقیاس‌های درد در هر مرحله: فاز ۱ (دقیقه ۷-۱) - اینترفاز - اینترفاز دقیقه ۱۴-۸، فاز ۲A (دقیقه ۶۰-۱۵) و فاز ۲B (دقیقه ۹۰-۶۱) می‌باشد.



شکل ۳: اثرات تزریق فرمالین (۲٪ و ۵۰ میکرولیتر) به کف پای راست موش‌های صحرایی نر و ماده‌ای نژاد اسپرگ در طول دوره مشاهده رفتارهای دردی در ۹۰ دقیقه (میانگین ۸-۶ رت در هر گروه). ستونها نشانگر مقیاس‌های درد در هر مرحله: فاز ۱ (دقیقه ۷-۱) - اینترفاز - اینترفاز دقیقه ۱۴-۸، فاز ۲A (دقیقه ۶۰-۱۵) و فاز ۲B (دقیقه ۹۰-۶۱) می‌باشد (\* $p < 0.05$ ).



شکل ۴: اثرات تزریق فرمالین به کف پای راست موش‌های صحرایی نر و ماده نژاد ویستار به دنبال ۴۸ ساعت محرومیت غذایی. ستونها نشانگر مقیاس‌های درد در هر مرحله: فاز ۱ (دقیقه ۷-۱) - اینترفاز - اینترفاز دقیقه ۱۴-۸، فاز ۲A (دقیقه ۶۰-۱۵) و فاز ۲B (دقیقه ۹۰-۶۱) می‌باشد (\* $p < 0.05$ ) و (\*\*\*) $p < 0.001$ .



شکل ۵: اثرات تزریق فرمالین به کف پای راست موش‌های صحرایی نر و ماده نژاد اسپرگ به دنبال ۴۸ ساعت محرومیت غذایی. ستونها نشانگر مقیاس‌های درد در هر مرحله: فاز ۱ (دقیقه ۷-۱) - اینترفاز - اینترفاز دقیقه ۱۴-۸، فاز ۲A (دقیقه ۶۰-۱۵) و فاز ۲B (دقیقه ۹۰-۶۱) می‌باشد (\* $p < 0.05$ )، (\*\*\*) $p < 0.001$  و (\*\*) $p < 0.01$ .

با گروه کنترل که محرومیت غذایی نداشتند (۷ موش) در مرحله اینترفاز ( $P < 0.01$ )، فاز ۲B ( $P < 0.01$ ) تفاوت‌های معناداری در رفتارهای دردی آزمون فرمالین مشاهده شد (شکل ۳).

اثرات محرومیت غذایی در موش‌های نر و ماده با گروه کنترل مقایسه گردید. همانطوریکه در شکل ۴ ملاحظه می‌شود به دنبال ۴۸ ساعت محرومیت غذایی موش‌های ماده تفاوت‌های معنی‌داری در رفتارهای دردی برانگیخته شده با آزمون فرمالین بین گروه محرومیت غذایی داده شده با گروه محرومیت داده نشده تنها در فاز

غذایی با گروه بدون محرومیت غذایی مقایسه شدند. همانطور که در شکل ۳ دیده می‌شود موش‌های صحرایی گروه بدون محرومیت غذایی به دنبال تزریق فرمالین ۲ درصد به کف پای راست رفتارهای دردی را نشان دادند که این پاسخها در دو مرحله ثبت شد. ۴۸ ساعت محرومیت غذایی در موش‌های صحرایی نر سبب پردردی و یا افزایش رفتارهای دردی به دنبال آزمون در فاز ۱ ( $P < 0.01$ ) فاز اینترفاز ( $P < 0.05$ ) فاز ۲A ( $P < 0.01$ ) و فاز ۲B ( $P < 0.01$ ) شد (شکل ۳A). در موش‌های صحرایی ماده گروه تحت محرومیت غذایی (۸ سر موش)

flick، صفحه‌ای داغ و یا آزمون فرمالین) و مدت زمان و شدت محرومیت غذایی یا محدودیت غذایی (چند ساعت و یا چند روزه)، محرومیت متناوب غذایی (برای مثال در استرس حاد در مقابل استرس مزمن) مه به نظر میرسد و نوع مواد غذایی یا مایعات در دسترس موش‌ها هم در نتیجه آزمون تأثیرگذار است.

بیشتر مطالعات انجام شده در محدودیت غذایی و محرومیت غذایی با موش‌های نر انجام شده است. فقط یک مطالعه موش‌های نر و ماده را با یکدیگر بوسیله آزمون فرمالین مقایسه کرده که نتایج آزمون فرمالین آنها متفاوت بوده است (۷، ۱۹). مطالعات در نژادهای استفاده شده هم متفاوت است (مثل ویستار یا اسپراگ) که نتایج را پیچیده کرده‌اند. در این که تفاوت نتایج مطالعات بصورت پراکنده در نتیجه ی تنوع روشهای است و یا ژنوتیپ حیوان و یا جنس و یا چند عامل مورد سوال است. مطالعه‌ای که بطور مستقیم به بررسیهای تفاوت نژادی و جنس در رفتارهای درد ناشی از محرومیت غذایی و آستانه درد انجام شده باشد، وجود ندارد و همچنین نتایج تحقیقات بر روی جنس ماده کمتر است. مطالعات انجام شده درباره ی تأثیر محرومیت غذایی بر رفتارهای درد آزمون فرمالین بعنوان یک درد التهابی از نظر تفاوت نژادی در موش‌های صحرایی نر و ماده هنوز بطور کامل مطالعه نشده است.

در موش‌های ماده نژاد اسپراگ اثرات درزا گزارش شده در حالی که در نرها این وضعیت گزارش نشده است (۷، ۱۹). همچنین در سال ۲۰۰۷ گاموند نشان داد که موش‌های ماده در مقایسه با موش‌های نر رفتارهای ضد دردی کمتری در طول اینترفاز دارند. و اینکه حضور مکانیسم مهارتی درد در اینترفاز آزمون فرمالین با سیستم اوپیوئیدی بخصوص در ماده‌ها درگیر است (۲۰). نتایج ما نشان می‌دهد که افزایش درد در ماده‌ها در فاز ۲ بیشتر از نرها است. ثابت شده است در نرها برای بیان پاسخ‌های ضد دردی بیشتر گیرنده‌های مو و

2B برای نرها و فاز اینترفاز و فاز 2B برای ماده‌های نژاد ویستار وجود داشت و در مقابل، محرومیت غذایی تأثیری بر برانگیخته شدن رفتارهای ناشی از درد در موش‌های نر در اینترفاز نداشت (شکل ۴).

## بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که تفاوت‌های معنی داری بین موش‌های صحرایی نر و ماده گروه کنترل در نژاد اسپراگ در مرحله‌ی فاز 2B مشاهده شد. اگرچه مرحله اینترفاز در موش‌های نر نژاد اسپراگ طولانی‌تر از ماده‌ها بوده اما مرحله‌ی 2B ماده‌های اسپراگ طولانی‌تر از نرها بوده و مرحله‌ی آخر فاز ۲ تاخیر دارد. تفاوت‌های معنی‌داری بین موش‌های صحرایی نر و ماده نژاد ویستار در آزمون فرمالین وجود نداشت. محرومیت غذایی ۴۸ ساعته در موش‌های صحرایی نر و ماده نژاد اسپراگ سبب پردردی و یا افزایش رفتارهای درد به دنبال آزمون فرمالین در فاز ۱، اینترفاز و فاز ۲ شد، در حالیکه محرومیت غذایی ۴۸ ساعته سبب تفاوت‌های معنی‌داری در رفتارهای درد برانگیخته شده با آزمون فرمالین تنها در فاز 2B برای نرها و فاز اینترفاز و فاز 2B برای ماده‌های نژاد ویستار شد.

نه تنها تفاوت‌های جنسی در پاسخ به درد دیده می‌شود، بلکه به اثر داروهای ضد دردی و یا اثرات پرونوسپتو به خوبی در مدل‌های حیوانی تأکید شده است. در جواندگان به خوبی دیده شده که ماده‌ها رفتاری درد بیشتری نسبت به مردان در مدل‌های درد دارند (۱۶). آستانه درد در پاسخ به درد در زنان نسبت به مردان پایین‌تر است (۵) و زنان نسبت به مردان به تجربه‌های مختلف از جمله درد مزمن و تکرار درد و ناتوانی مرتبط با درد را بتر نشان می‌دهند (۱۷، ۱۸).

مطالعات قبلی روی اثر محرومیت غذایی بر پاسخ به درد متفاوت است از جمله اینکه اثر محرومیت غذایی روی پاسخ به درد با چه آزمونی بررسی شده است ( tail

رفتارهای دردی می‌گردند. در مطابقت با این مطالعه، ژانگ و همکارانش در ۲۰۰۳ نشان دادند که ممکن است سیستم های اپیوئیدی درون‌زاد در موش‌های فیشر ۳۴۴ حساسیت بیشتری نسبت به ورودی های محیطی نسبت به موش‌های صحرایی اسپراگ - داوولی و موش لوئیس داشته باشد همچنان که بیان mRNA پروپریدینورفین در موش فیشر ۳۴۴ بیشتر بوده است (۲۵). علاوه بر این، مطالعات قبلی نشان داده اند افزایش اسطاله‌ها پایین‌رو از هسته لوکوس سرلئوس که مسئول مهار نزولی آدرنژیک به طناب نخاعی می‌باشد (۲۶). در موش‌های صحرایی مختلف متفاوت است (۲۷,۲۸) که می‌تواند قسمتی از تفاوت‌های نژادی و یا جنسی را توجیه کند. اختلاف وابسته به نژاد در پاسخ به مورفین و تحمل ناشی از مورفین نیز با گونه های دیگر از موش و موش صحرایی گزارش شده است (۲۹,۳۰) و آیدا و همکارانش نشان داده است که تفاوت قابل توجهی در آستانه درد حرارتی و در پاسخ به اثر ضد دردی مورفین در موش صحرایی متفاوت است. علاوه بر این، آنها نشان دادند که تفاوت های در اثر تقویت‌کننده دکسترومتورفان روی مورفین به سبب القاء بی‌دردی وجود دارد و میزان اثر تقویت‌کنندگی به نظر می‌رسد با میزان اثر مورفین در نژادهای مختلف موش صحرایی مرتبط است (۳۱). خلاصه این که نتایج وجود اختلاف وابسته به جنس و نژاد در موش‌های صحرایی نژاد اسپراگ نسبت به ویستار در توسعه و ماندگاری رفتارهای دردی به دنبال تزریق فرمالین در کف پای حیوان را نشان می‌دهد و همچنین این اختلاف به دنبال محرومیت غذایی دیده شد.

### تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی بخش تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین بود که کمال امتنان و تشکر را داریم.

کاپای اپیوئیدی و در ماده ها گیرنده های دلتا و کاپا درگیر هستند (۲۱,۲۲). در طول اینترفاز آزمون فرمالین مکانیسم اپیوئیدی شامل رسپتور های دلتا و کاپا در ماده ها و سیستم غیر اپیوئیدی در نرها غالب است (۲۰).

با توجه به اینکه هم موش‌های نژاد اسپراگ و هم موش‌های نژاد ویستار در آزمایشگاه‌ها برای بررسی و مطالعه درد بکار می‌روند. این مطالعه برای بررسی تفاوت‌های وابسته به جنس و نژاد در تأثیر محرومیت غذایی بر رفتارهای دردی آزمون فرمالین در موش‌های نژاد اسپراگ و ویستار نر و ماده طراحی شده است. موش‌های صحرایی نژاد اسپراگ و ویستار در گروه بدون محرومیت غذایی با هم تفاوت معنی داری در نشان دادن رفتارهای دردی به دنبال آزمون فرمالین نشان ندادند. این حالات نشان می‌دهد که فاکتورهای ژنتیکی تأثیر مهمی در این رفتارها ندارد. هم راستا با آزمایشات قبلی نتایج نشان داد که ماده‌های اسپراگ در مقایسه با نرهای اسپراگ در آزمون فرمالین بسیار حساس تر بودند اما این تفاوت جنسی در نژاد ویستار وجود نداشت (۷). ۴۸ ساعت محرومیت غذایی رفتارهای دردی را در موش‌های نر و ماده نژاد اسپراگ افزایش داد. نتایج نشان داد که موش‌های اسپراگ حساسیت بیشتری نسبت به رفتارهای دردی آزمون فرمالین بعد از ۴۸ ساعت محرومیت غذایی داشتند و در مقابل محرومیت غذایی تأثیری در برانگیخته شدن رفتارهای دردی در موش‌های نر و ماده نژاد ویستار نداشت.

این مطالعه نتایج مطالعات قبل را تایید می‌کند که تفاوت‌های وابسته به نژاد را پیشنهاد کرده بودند (۲۳,۲۴) که هنوز مکانیسم آن به روشنی مشخص نشده است. از آنجاییکه در محرومیت غذایی رفتارهای دردی را در فاز اول آزمون فرمالین تغییری نمی‌دهد. ممکن است این تفاوت‌ها وابسته به سیستم مهار کننده مغزی در ساقه‌ی مغز یا در ساختارهای مغزی باشد که موجب تشدید

## References

1. Xu XJ, Plesan A, Yu W, Hao JX, Wiesenfeld-Hallin Z. Possible impact of genetic differences on the development of neuropathic pain-like behaviors after unilateral sciatic nerve ischemic injury in rats. *Pain*. 2001;89(2-3):135-45.
2. Sofi-Abadi M, Heidari-Oranjaghi N, Ghasemi E, Esmaeili MH, Haghdoost-Yazdi H, Erami E, et al. Assessment of orexin receptor 1 in stress attenuated nociceptive behaviours in formalin test. *Physiology and Pharmacology* [Article in Persian]. 2011;12(3):188-93.
3. Ghasemi E, Salehi B, Nakhost H, Sofiabdi M, Erami E, zhdari Zarmehri H. Effect of Orexin receptor-1 antagonist in acute food deprivation on formalin test. *The Journal of Qazvin University of Medical Sciences*. 2013;17(1):26-34.
4. Tracey I, Mantyh PW. The cerebral signature for pain perception and its modulation. *Neuron*. 2007;55(3):377-91.
5. Riley JL, III, Robinson ME, Wise EA, Myers CD, Fillingim RB. Sex differences in the perception of noxious experimental stimuli: a meta-analysis. *Pain*. 1998;74(2-3):181-7.
6. Hargraves WA, Hentall ID. Analgesic effects of dietary caloric restriction in adult mice. *Pain*. 2005;114(3):455-61.
7. Khasar SG, Reichling DB, Green PG, Isenberg WM, Levine JD. Fasting is a physiological stimulus of vagus-mediated enhancement of nociception in the female rat. *Neuroscience*. 2003;119(1):215-21.
8. Abbott FV, Franklin KB, Westbrook RF. The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. *Pain*. 1995;60(1):91-102.
9. Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*. 1977;4(2):161-74.
10. Hunskaar S, Berge OG, Hole K. Dissociation between antinociceptive and anti-inflammatory effects of acetylsalicylic acid and indomethacin in the formalin test. *Pain*. 1986;25(1):125-32.
11. Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*. 1987;30(1):103-14.
12. Azhdari-Zarmehri H, Semnanian S, Fathollahi Y. Comparing the analgesic effects of periaqueductal gray matter injection of orexin A and morphine on formalin-induced nociceptive behaviors. *Physiology and Pharmacology* [Article in Persian]. 2008;12(3):188-93.
13. Azhdari-Zarmehri H, Semnanian S, Fathollahi Y, Erami E, Khakpay R, Azizi H, Rohampour K. Intra-periaqueductal gray matter microinjection of orexin-A decreases formalin-induced nociceptive behaviors in adult male rats. *J Pain*. 2011;12(2):280-7.
14. Erami E, Azhdari-Zarmehri H, Ghasemi-Dashkhasan E, Esmaeili MH, Semnanian S. Intra-paragigantocellularis lateralis injection of orexin-A has an antinociceptive effect on hot plate and formalin tests in rat. *Brain Res*. 2012;1478:16-23. doi: 10.1016/j.brainres.2012.08.013. Epub; 2012 Aug 14.:16-23.
15. Azhdari-Zarmehri H, Semnanian S, Fathollahi Y. Comparing the analgesic effects of periaqueductal gray matter injection of orexin A and morphine on formalin-induced nociceptive behaviors. *Physiology and Pharmacology* [Article in Persian]. 2008;12(3):93-188.
16. Mogil JS, Chesler EJ, Wilson SG, Juraska JM, Sternberg WF. Sex differences in thermal nociception and morphine antinociception in rodents depend on genotype. *Neurosci Biobehav Rev*. 2000;24(3):375-89.
17. Berkley KJ. Sex differences in pain. *Behav Brain Sci*. 1997;20(3):371-80.
18. Unruh AM. Gender variations in clinical pain experience. *Pain*. 1996;65(2-3):123-67.
19. Khasar SG, Isenberg WM, Miao FJ, Gear RW, Green PG, Levine JD. Gender and gonadal hormone effects on vagal modulation of tonic nociception. *J Pain*. 2001;2(2):91-100.
20. Gaumond I, Spooner MF, Marchand S. Sex differences in opioid-mediated pain inhibitory mechanisms during the interphase in the formalin test. *Neuroscience*. 2007;146(1):366-74.

21. wson-Basoa M, Gintzler AR. Involvement of spinal cord delta opiate receptors in the antinociception of gestation and its hormonal simulation. *Brain Res.* 1997;757(1):37-42.
22. wson-Basoa ME, Gintzler AR. Estrogen and progesterone activate spinal kappa-opiate receptor analgesic mechanisms. *Pain.* 1996;64(1):169-77.
23. Shir Y, Zeltser R, Vatine JJ, Carmi G, Belfer I, Zangen A, Overstreet D, Raber P, Seltzer Z.. Correlation of intact sensibility and neuropathic pain-related behaviors in eight inbred and outbred rat strains and selection lines. *Pain.* 2001;90(2-1)75-82.
24. Sudakov SK, Borisova EV, Lyupina YV. Influence of inheritance and fostering on sensitivity to effects of morphine on nociception and locomotor activity in two inbred rat strains. *Neuropharmacology.* 1996;35(8):1131-4.
25. Zhang RX ,Lao L, Qiao JT, Ruda MA. Strain differences in pain sensitivity and expression of preprodynorphin mRNA in rats following peripheral inflammation. *Neurosci Lett.* 2003;353(3):213-6.
26. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol.* 2002;66(6):355-477.
27. Clark FM, Proudfit HK. Anatomical evidence for genetic differences in the innervation of the rat spinal cord by noradrenergic locus coeruleus neurons. *Brain Res.* 1992;591(1):44-53.
28. Sluka KA, Westlund KN. Spinal projections of the locus coeruleus and the nucleus subcoeruleus in the Harlan and the Sasco Sprague-Dawley rat. *Brain Res.* 1992;579(1):67-73.
29. Lutfy K, Sadowski B, Kwon IS, Weber E. Morphine analgesia and tolerance in mice selectively bred for divergent swim stress-induced analgesia. *Eur J Pharmacol.* 1994;265(3):171-4.
30. Vaccarino AL, Couret LC, Jr. Relationship between hypothalamic-pituitary-adrenal activity and blockade of tolerance to morphine analgesia by pain: a strain comparison. *Pain.* 1995;63(3):385-9.
31. Plesan A, Hoffmann O, Xu XJ, Wiesenfeld-Hallin Z. Genetic differences in the antinociceptive effect of morphine and its potentiation by dextromethorphan in rats. *Neurosci Lett.* 1999;263(1):53-6.

Archive of SID



# Assessment of Gender and race effect on food deprivation on nociceptive behaviors in formalin test in rat

**Baghiatallah Salehi**

B.Sc student, School of Nursing and Midwifery, Qazvin Medical Science University, Qazvin, Iran

**Hassan Azhdari-Zarmehri**

Assistant professor of physiology, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin Medical Science University, Qazvin, Iran

**Mohammad Sofiabadi**

Assistant professor of physiology, Department of Physiology, Qazvin Medical Science University, Qazvin, Iran

**Elaheh Erami**

Academic member of School of Nursing and Midwifery, Torbatehedyariyeh University of Medical Sciences, Torbatehedyariyeh, Iran

**Nematollah Ghaibi**

Associate professor of Biophysic, Department of Physiology, Qazvin Medical Science University, Qazvin, Iran

Received:23/10/2011, Revised:05/01/2012, Accepted:09/03/2012

## Correspondence Author:

Hassan Azhdari Zarmehri, Ph.D.  
Cellular and Molecular Research  
Center, Department of Physiology  
Qazvin University of Medical  
Sciences  
Email: hasan.azhdari@gmail.com

## Abstract

**Introduction:** It is well recognized that gender and race differences play a role in pain sensitivity, pain perception, response to analgesic drug and prevalence of certain chronic pain disorders. In this study investigated gender and strain-related differences in the effect of food deprivation on formalin induced nociceptive behaviors in rats.

**Methods:** This study was done in Qazvin University of Medical Sciences 8 groups of rats (220-300gr). Groups 1 and 2: Effect formalin-induced nociceptive behaviours in male and female Sprague-Dawley rats. Groups 3 and 4: Effect formalin-induced nociceptive behaviours in male and female Wistar rats. Groups 5 and 6: Effect of food deprivation on formalin-induced nociceptive behaviours in male and female Sprague-Dawley rats. Groups 7 and 8: Effect of food deprivation on formalin-induced nociceptive behaviours in male and female Wistar rats. Food was withdrawn 48 h (short-term food deprivation) prior to performing the formalin test, but water continued to be available ad libitum. The formalin (50  $\mu$ L, 2%) was injected into hind plantar paw. Immediately after the formalin injection, pain behaviors recorded for 90 minutes.

**Results:** There is significant difference between male and female control Sprague-Dawley rats during phase 2B. Although interphase in male rats is more than female ones, but the phase 2B in female rats is more than male ones and phase 2 finished with delay in Sprague-Dawley race. There are no significant differences between male and female control Wistar rats during formalin test. Following 48-h food deprivation, male and female rats exhibited enhanced nociceptive behaviors in response to formalin injection during phase 1, the interphase, phase 2. In contrast, 48 h food deprivation had significant effect on formalin-evoked nociceptive behaviors in phase 2B for male Wistar and in interphase and phase 2B for female rats.

**Conclusion:** The present study demonstrates the existence of gender and strain-related differences in rats in the development and maintenance of inflammatory hyperalgesia. Also, these differences observed following food deprivation.

**Keywords:** Sprague-Dawley Rat, Wistar Rat, Food Deprivation, Nociceptive Behaviors