

## اثر مواجهه با استرس مزمن ناهمگن ترتیبی در مادران باردار بر رفتار درد ناشی از آزمون فرمالین در فرزندان بالغ موش صحرایی

دکتر فرزاد رجایی<sup>۱</sup>، الهه ارمی<sup>۲</sup>، دکتر حسن اژدری زرمهری<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

#### چکیده

**مقدمه:** استرس‌های گوناگون موجود در طبیعت بر مادر باردار موجب تأثیراتی بر فرزند وی خواهد شد. استرس‌های ناهمگن ممکن است به طور بهتری اثرات استرس مزمن را بر رفتار دردی در فرزندان نشان دهد. در این تحقیق، اثر استرس ناهمگن مزمن در دوره بارداری بر رفتارهای دردی فرزندان در موش صحرایی با استفاده از آزمون فرمالین مطالعه شد.

**روش‌ها:** در این پژوهش، حیوانات در دو گروه با و بدون استرس ناهمگن مزمن تقسیم بندی شدند و فرزندان آنها در هر گروه، به دو گروه نر و ماده تقسیم گردیدند. استرس ناهمگن مزمن شامل محرومیت غذایی، محرومیت از آب، استرس بی‌حرکتی، بی‌حرکتی در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، شنای اجباری و استرس اجتماعی برای گروه‌های استرسی از روز ۹ تا ۱۹ بارداری اعمال شد و از آزمون فرمالین روی فرزندان، به عنوان مدل درد التهابی استفاده شد.

**یافته‌ها:** استرس ناهمگن مزمن، در موش‌های صحرایی نر باعث افزایش رفتارهای دردی در بخش ابتدایی و در موش‌های صحرایی ماده، باعث افزایش رفتارهای دردی در بخش انتهایی فاز ۲ آزمون فرمالین شد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که قرار گرفتن در معرض استرس ناهمگن مزمن در موش نر و ماده سبب افزایش وابسته به جنس رفتارهای دردی آزمون فرمالین می‌شود. پیشنهاد می‌گردد که مدل استرس ناهمگن ترتیبی می‌تواند در شبیه‌سازی و ارزیابی مکانیسم‌های پایه‌ی استرس در دوران بارداری بر رفتارهای درد فرزندان مفید باشد.

**واژگان کلیدی:** استرس مزمن چندگانه، دوران بارداری، درد، آزمون فرمالین

**ارجاع:** رجایی فرزاد، ارمی الهه، اژدری زرمهری حسن. اثر مواجهه با استرس مزمن ناهمگن ترتیبی در مادران باردار بر رفتار درد ناشی

از آزمون فرمالین در فرزندان بالغ موش صحرایی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۵۶): ۱۶۴۸-۱۶۴۰

فرزندان در جامعه، ضرورت مطالعه برای شناسایی  
زوایای مختلف و امکان رفع این مشکلات آشکار  
است. نتایج به دست آمده از مطالعات انسانی نشان  
می‌دهد که استرس مادر در دوران بارداری، عواقب  
نامطلوب سیستم عصبی در کودک در مراحل بعدی

#### مقدمه

مدارک زیادی وجود دارد که وضعیت‌های عاطفی در  
دوران بارداری، روی رفتار فرزند تأثیر دارد. با توجه  
به اهمیت این موارد در ایجاد مشکلات جسمانی و  
تحمیل هزینه‌های زیاد برای رفع مشکلات بعدی

۱- استاد، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۲- مربی، دانشکده‌ی پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

کودک و همچنین اثر آن بر بلوغ و در کل، اختلالات عصبی هنوز به طور دقیق مشخص نگردیده است و توسعه‌ی مدل‌های حیوانی مناسب به منظور روشن نمودن این رابطه و همچنین برای ارزیابی مداخلات درمانی، تا حد زیادی مورد نیاز است.

اثر طولانی مدت استرس ناهمگن چندگانه در دوران بارداری بر روی درد فرزندان، ممکن است برای فهم علت شناسی اختلالات دردی وابسته به استرس، نقش اساسی داشته باشد. برای شبیه سازی این آزمایش، به شرایط استرس‌زای زندگی و همچنین استفاده از نتایج در زندگی انسان، استرس ناهمگن چندگانه ممکن است نسبت به شرایط استرس مزمن ارزیابی بهتری را بر رفتارهای دردی داشته باشد. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثر مواجهه با استرس مزمن ناهمگن ترتیبی در مادران باردار روی آزمون فرمالین در فرزندان بالغ انجام شد.

### روش‌ها

در این پژوهش، حیوانات در گروه‌های هشت‌تایی در قفس‌های بزرگ به اندازه‌ی ۲۰ × ۶۰ × ۴۰ سانتی‌متر و با دسترسی کامل به آب و غذا گروه‌بندی شدند. به منظور جلوگیری از استرس‌های ناخواسته، دمای محل نگهداری حیوانات در حد مناسبی حفظ شد و از تغییرات شدید آن جلوگیری به عمل آمد. همچنین حیوانات در معرض روشنایی ۱۲ ساعته برای تطابق با شرایط طبیعی قرار گرفتند.

استرس ناهمگن مزمن (Chronic heterogeneous sequential stress) از مدل‌های مختلف انواع استرس با کمی تغییرات

زندگی (از جمله اختلال بیش‌فعالی (ADHD) یا Attention deficit hyperactivity disorder)، اوتیسم، اسکیزوفرنی همراه و اختلالات اضطراب) را به همراه دارد.

استرس مزمن در شرایطی که حیوان باردار نتواند فرار کند، باعث تغییر در رفتار بچه‌ها می‌شود؛ به طوری که نشان داده شده است، زمان واکنش به صدای آزار دهنده در موش‌هایی که در دوره‌ی پره ناتال تحت استرس قرار گرفته‌اند، در مقایسه با موش‌های بدون استرس کمتر بوده است و زمان تأخیر برای رسیدن به حداکثر پاسخ پس از تزریق سیستمیک آگونیست سروتونین بیشتر بوده است. از آن جا که استرس حاد، می‌تواند باعث سرکوب رفتارهای دردی در آزمون فرمالین شود (۱-۲)، پدیده‌ای تحت عنوان «بی‌دردی القا شده توسط استرس» مطرح می‌شود. تکرار قرارگیری در معرض یک نوع شرایط استرسی برای مدت زمان کوتاه و یا طولانی، می‌تواند سبب افزایش رفتارهای دردی به جای کاهش در این رفتارها شود (۳).

در مطالعه‌ی استرس ناهمگن مزمن، افزایش در زمان تأخیر در آزمون صفحه‌ی داغ را نشان داد. استرس ناهمگن مزمن، باعث افزایش رفتارهای دردی در هر دو بخش ابتدایی و انتهایی مرحله‌ی ۲ آزمون فرمالین در موش‌های نر شد (۴).

استرس، قادر به ایجاد تغییر در شبکه‌ی عصبی دخیل در پردازش درد در مغز، از طریق دگرگون کردن فعالیت هر کدام از سیستم‌های تنظیمی (که در هوموستاز دخیلند) می‌باشد و به دنبال آن، تغییرات رفتاری به وجود می‌آید (۵). با این حال، بسیاری از واقعیت‌ها در مورد تأثیر استرس دوران بارداری بر

جدول ۱. برنامه‌ی استرس ناهمگن مزمن

روز استرس	استرس شنا	مدت زمان
۱	استرس رسترنر	۱۰ دقیقه
۲	محرومیت از آب	۳ ساعت
۳	استرس رسترنر در ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد	۲۴ ساعت
۴	استرس اجتماعی	۱/۵ ساعت
۵	محرومیت از غذا	۲۴ ساعت
۶	محرومیت از آب	۲۴ ساعت
۷	استرس رسترنر در ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد	۲۴ ساعت
۸	محرومیت از غذا	۲ ساعت
۹	استرس شنا	۲۴ ساعت
۱۰	استرس شنا	۱۰ دقیقه

آزمون فرمالین، یک روش ارزشمند و مدل مناسب برای سنجش و ارزیابی درد مداوم و پایدار ناشی از یک محرک شیمیایی می‌باشد و از سوی دیگر، می‌توان اثرات درد حاد را نیز در مرحله‌ی اول این آزمون بررسی کرد. در این آزمون، به منظور مشاهده و بررسی رفتارهای حیوان، از یک محفظه‌ی شفاف با کف مسطح، به ابعاد ۳۰ سانتی‌متر مکعب و از جنس پلاستیکی گلاس استفاده شد. برای مشاهده‌ی پنجه‌ی پای حیوان، آینه‌ای در زیر این محفظه‌ی شفاف تعبیه شده است. در این آزمون، ۵۰ میکرولیتر محلول فرمالین ۲ درصد به زیر پوست پنجه‌ی پای حیوان توسط یک سر سوزن نمره‌ی ۳۰ تزریق شد. به دنبال تزریق فرمالین، حیوان مجموعه‌ای از رفتارهای القا شده با فرمالین و رفتارهای خودبه‌خودی را نشان می‌دهد که به آن‌ها رتبه‌ی ۳-۰ داده می‌شود. در رتبه‌ی صفر، پای حیوان به طور طبیعی روی زمین قرار می‌گیرد، در رتبه‌ی ۱ پای حیوان مختصری روی زمین قرار می‌گیرد، در رتبه‌ی ۲ پای حیوان از زمین کنده می‌شود و در رتبه‌ی ۳ حیوان پایش را گاز می‌گیرد و یا لیس می‌زند (۹-۷). برای تجزیه و تحلیل

اقتباس شده است (۶، ۴). مادران باردار در دو گروه با استرس و بدون استرس تقسیم‌بندی شدند. گروه‌های بدون استرس بدون دریافت هیچ استرسی در قفس‌های خود در طول ۱۰ روز، فقط آب و غذا دریافت کردند و موش‌های تحت استرس در طی ۱۰ روز، انواع مختلف شرایط استرس‌زا را دریافت نمودند. آزمون فرمالین بر روی فرزندان نر و ماده‌ی آن‌ها در چهار گروه انجام شد. عوامل استرس‌زای مورد استفاده و مدت زمان اعمال هر یک، در جدول ۱ ذکر شده است. استرس‌های مورد استفاده به شرح زیر بودند:

۲۴ ساعت محرومیت غذایی، ۲۴ ساعت محرومیت آب، ۳ ساعت بی‌حرکتی که در زیر شرح داده شده است، ۲-۱/۵ ساعت بی‌حرکتی در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، شنای اجباری به مدت ۱۰ دقیقه که در زیر شرح داده شده است، ۲۴ ساعت استرس جداسازی اجتماعی. به منظور به حداقل رساندن قابلیت پیش‌بینی شدن استرس، القای آن در زمان‌های مختلفی از روز شروع می‌شد.

بی‌حرکتی با قرارگیری در محفظه‌ی پلاستیکی لوله‌ای شکلی به طول ۲۱ و قطر ۶ سانتی‌متر که طول آن برای موش‌های مختلف قابل تنظیم بود، به انجام می‌رسید. به صورتی که حیوانات قادر به حرکت نبودند. در ضمن، به منظور تنفس حیوان، یک حفره‌ی ۶ سانتی‌متری در انتهای این محفظه (Strainer) ایجاد شده بود.

شنای اجباری نیز با قرار دادن حیوان در مخزن پلاستیکی با اندازه‌های ۴۴ × ۳۳ × ۳۰ سانتی‌متر و با عمق ۳۰ سانتی‌متر آب در دمای  $1 \pm 20$  درجه‌ی سانتی‌گراد صورت می‌گرفت.

است. بعد از فاز اول رفتارهای دردنی طی مرحله‌ی ایترفاز که دقایق ۱۴-۸ می‌باشد، کاهش می‌یابد که در قسمت B نمودار ۲ به صورت ستونی نشان داده شده است. سپس فاز دوم شروع می‌شود که در این مرحله، در دقایق ۹۰-۱۵، رفتارهای دردنی رتبه‌بندی شد و جهت مشخص شدن اثر استرس روی قسمت نخست یا انتهایی فاز دوم، این مرحله به دو قسمت تقسیم شد: ۲A شامل رفتارهای دردنی در دقایق ۶۰-۱۵ و ۲B شامل رفتارهای دردنی در دقایق ۹۰-۶۱.

بر اساس نمودار ۲ رفتارهای دردنی در گروه در فرزندان نر موش‌های صحرایی از مادران تحت استرس ناهمگن چندگانه در فاز ۲A دارای افزایش می‌باشد؛ که این افزایش در فاز ۱ بی‌معنا بوده است. اما در قسمت اول مرحله‌ی ۲ معنی‌دار می‌باشد: مرحله‌ی ۱  $t(18,1) = 0/847, P = 0/408$ ، ایترفاز ۲A  $t(18,1) = 1/133, P = 0/272$ ، مرحله‌ی ۲B  $t(18,1) = 2/716, P = 0/014$  و  $t(18,1) = 1/110, P = 0/281$ ، همچنین در مرحله‌ی ایترفاز نیز یک کاهش در رفتارهای دردنی در گروه مورد نسبت به گروه شاهد مشاهده شد که این تفاوت معنی‌دار نبود (نمودار ۲).

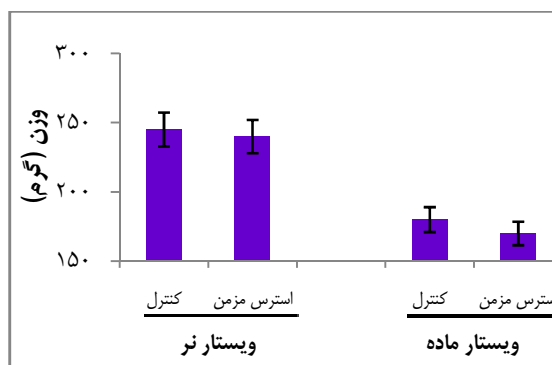
بر اساس جدول ۱ در موش‌های صحرایی نر (A) و نمودار ستونی میانگین نمره‌ی آزمون فرمالین در فاز ۱، ایترفاز و فاز ۲A و ۲B آزمون فرمالین (B). تعداد موش‌های سفید آزمایشگاهی ۸ عدد در هر گروه می‌باشد.

بر اساس نمودار ۳، رفتارهای دردنی در فرزندان ماده موش‌های صحرایی از مادران تحت استرس ناهمگن چندگانه، در فاز ۲B دارای افزایش می‌باشد که این افزایش، در فاز یک معنی‌دار نبوده است؛ اما

داده‌ها از آزمون آماری t و ANOVA (Analysis of variance) یک طرفه استفاده شد.  $P < 0/050$  به عنوان سطح معنی‌داری تلقی شد (۷-۹).

### یافته‌ها

وزن بدن موش به عنوان یک ایندکس برای بررسی استرس مزمن اندازه‌گیری شد. تغییر وزن بدن، اثر معمول استرس می‌باشد و اغلب در روش‌هایی که برای بررسی مدل‌های استرسی تعریف می‌شود، مورد استفاده قرار می‌گیرد. وزن فرزندان مادران در معرض استرس ناهمگن چندگانه (گروه مورد)، با گروه فرزندان شاهد تفاوتی نداشت (برای نرها  $P = 0/762$ ،  $t(18,1) = 0/309$  و برای ماده‌ها  $P = 0/111$ ،  $t(18,1) = 1/731$  (نمودار ۱).



نمودار ۱. نمودار وزن فرزندان نر و ماده‌ی بالغ موش‌ها در دو گروه مورد و شاهد

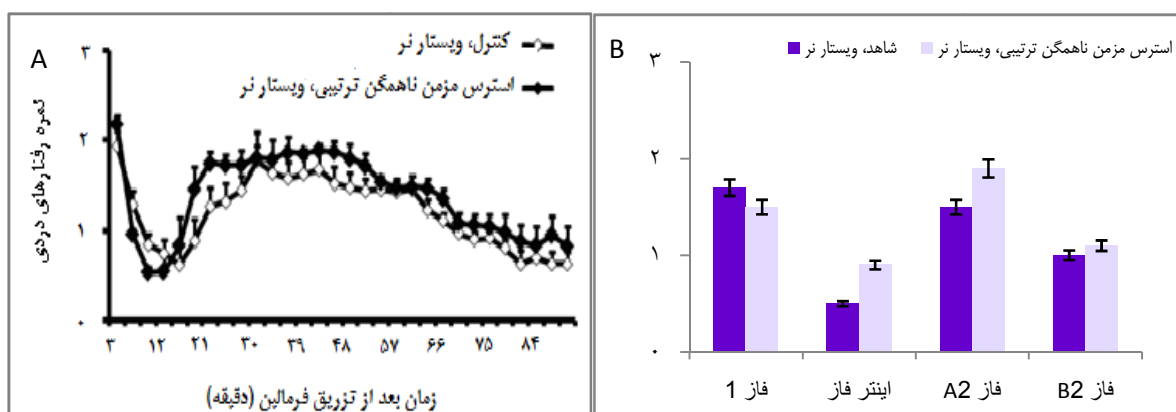
تزریق فرمالین سبب رفتارهای دردنی شد که در بازه‌ی زمانی ۹۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین مشاهده شدند. این رفتارها از دو فاز تشکیل شده است که توسط ایترفاز از یکدیگر جدا می‌شوند. فاز اول دقایق ۷-۰ می‌باشد که در قسمت B نمودار ۲ برای گروه شاهد و مورد به صورت ستونی نشان داده شده

ناهمگن مزمن در مادران موش‌های صحرایی، باعث افزایش معنی‌دار رفتارهای دردی در بخش ابتدایی فاز ۲ در جنس نر و همچنین بخش انتهایی فاز ۲ در جنس ماده در آزمون فرمالین گردید. همچنین در این گروه، یک افزایش در فاز یک و کاهش در مرحله‌ی اینترفاز مشاهده شد که این تغییرات معنی‌دار نمی‌باشد. در واقع، بر اساس تفاوت مکانیسم درد در دو مرحله‌ی آزمون فرمالین، می‌توان بیان کرد که این نوع استرس سبب افزایش درد مزمن در فرزندان نر و ماده‌ی گروه مورد نسبت به گروه شاهد می‌شود.

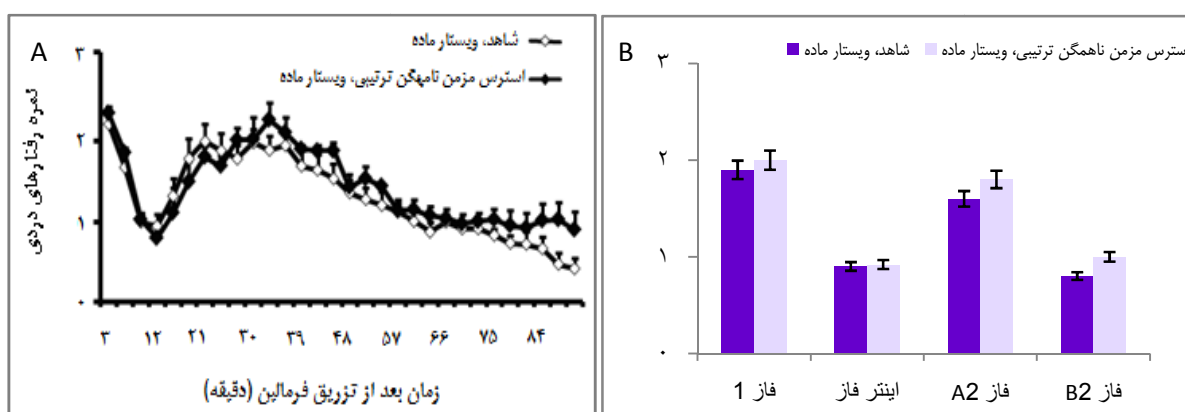
در قسمت دوم مرحله‌ی ۲ معنی‌دار می‌باشد: مرحله‌ی ۱ ( $t(18,1) = 1/604, P = 0/126$ )، اینترفاز ———— مرحله‌ی ۲A ( $t(18,1) = 0/258, P = 0/799$ ) و مرحله‌ی ۲B ( $t(18,1) = 1/747, P = 0/098$ ) همچنین در قسمت اول مرحله‌ی ۲ نیز یک افزایش در رفتارهای دردی در گروه مورد نسبت به گروه شاهد مشاهده شد که این تفاوت، معنی‌دار نبود (تمودار ۳).

### بحث

نتیجه‌ی نهایی پژوهش حاضر، این بود که استرس



نمودار ۲. مقایسه نمره‌ی آزمون فرمالین در دو گروه شاهد و مورد



نمودار ۳. مقایسه‌ی نمره‌ی آزمون فرمالین در گروه شاهد و گروه مورد بر اساس جدول ۱ در موش‌های صحرایی ماده (A) و نمودار ستونی میانگین نمره‌ی آزمون فرمالین در فاز ۱، اینترفاز و فازهای ۲A و ۲B آزمون فرمالین (B). تعداد موش‌های سفید آزمایشگاهی ۸ عدد در هر گروه می‌باشد.

فاز نخست آزمون فرمالین به عنوان مرحله‌ی حاد درد در نظر گرفته می‌شود. در واقع، پاسخ فرمالین دو فازی است، در فاز اول (بلافاصله بعد از تزریق فرمالین) درد شدیدی شروع می‌شود که به علت فعال شدن فیبرهای C نسبت به تحریکات محیطی است. در فاز دوم یا فاز تأخیری، که حدود ۲۰ دقیقه بعد شروع می‌شود، درد ملایم است که به وسیله‌ی تغییرات عملکردی و بافتی در شاخ خلفی نخاع ایجاد می‌شود (۱۱-۱۰). البته بین فاز ۱ و ۲، مرحله‌ی اینترفاز وجود دارد که برخی آن را به عنوان یک مرحله‌ی مهارتی غیر فعال می‌شناختند و شاید به این دلیل، مورد توجه زیاد قرار نگرفته بود. در حالی که چندین مطالعه گزارش کرده‌اند که مرحله‌ی اینترفاز به صورت فعال ایجاد می‌شود و به طور درون‌زاد، نتیجه‌ی مکانیسم‌های متوقف کننده‌ی درد می‌باشد (۱۲).

پیشنهاد شده است که تکرار متغیر استرس دوران بارداری در جوندگان، ممکن است یک مدل آسیب عصبی مناسب برای بیماری اسکیزوفرنی باشد. کورتیکوسترون، نقش مهمی در رفتارهای مرتبط با اضطراب دارد و همچنین به عنوان عاملی در فرایندهای شناختی از جمله ترس شرطی شده و یادگیری انقراض شناخته شده است. اگر چه استرس حاد، سبب بی‌دردی در آزمون فرمالین می‌شود (۲)، اما بعضی از مطالعات گزارش کرده‌اند که هر دو شرایط استرسی حاد و مزمن می‌توانند باعث ایجاد پردردی به جای بی‌دردی شوند. به طور مثال، قرارگیری کوتاه مدت در معرض استرس روانی غیر مضر، مثل نگهداشتن موش در دست، می‌تواند باعث پردردی کوتاه مدتی شود که به وسیله‌ی یک دوره‌ی طولانی‌تر بی‌دردی ادامه پیدا می‌کند (۱۳). به طور

مشابه، استرس طولانی مدت با تکرار قرارگیری در محیط سرد، باعث القای پردردی به مدت ۳ روز می‌شود (۱۴). اثرات مختلف استرس حاد و مزمن در پاسخ به درد در حیوان آزمایشگاهی نشان داده شده است و مواجهه‌ی حاد با انواع عوامل استرس‌زا، سبب بی‌دردی در آزمون‌های مختلف شده است. اگر چه برخی مطالعات گزارش کرده‌اند که برخی شرایط استرس حاد و مزمن می‌تواند پردردی به جای بی‌دردی ایجاد کنند (۱۵).

در پژوهشی دیگر، استرس ناهمگن مزمن در گروه موش‌های صحرایی، باعث افزایش معنی‌دار رفتارهای درد در هر دو بخش ابتدایی و انتهایی فاز ۲ آزمون فرمالین گردید. همچنین در این گروه، یک افزایش در فاز یک و کاهش در مرحله‌ی اینترفاز مشاهده شد که این تغییرات معنی‌دار نبود. همچنین افزایش در زمان تأخیر در آزمون صفحه‌ی داغ در گروه تحت استرس در مقایسه با گروه بدون استرس مشاهده شده است (۴). در واقع، بر اساس تفاوت نوع درد در دو مرحله‌ی آزمون فرمالین، می‌توان بیان کرد که این نوع استرس سبب افزایش درد مزمن در گروه تحت استرس به صورت معنی‌دار و نیز افزایش بدون معنی درد حاد در گروه تحت درمان موش‌های صحرایی نر می‌شود (۴).

در مطالعه‌ی حاضر، اثرات پرونوسیتو ایجاد شده توسط استرس ناهمگن چندگانه‌ی ترکیبی روی فرزندان در آزمون فرمالین، همسو با مطالعه‌ی قبلی و همچنین استرس مزمن بی‌حرکتی می‌باشد که باعث ایجاد پردردی طولانی مدت بعد از توقف درمان می‌شود. پاسخ بی‌دردی ایجاد شده در برابر استرس شنای اجباری حاد در هر دو گروه شاهد و مورد

نتیجه‌ی فعالیت مکانیسم‌های مهار کننده‌ی درون‌زاد می‌باشد (۱۸-۱۷، ۱۲). افزایش رفتارهای دردنی ثبت شده در طول بخش اول فاز ۲، ممکن است نشان دهنده‌ی کوتاه شدن دوره‌ی اینترفاز در پاسخ به استرس ناهمگن مزمن و یا اثرات جبرانی بر مکانیسم‌های دردنی در فاز ۲ باشد. رفتارهای دردنی القا شده توسط فرمالین، می‌تواند توسط دستکاری جسم خاکستری دور قناتی تغییر کند (۱۹، ۷). بنابراین مواجهه با استرس مزمن ناهمگن ترتیبی در مادران باردار، باعث افزایش درد توسط افزایش فعالیت ساختار لیمبیک (مثل هیپوکمپ و هیپوتالاموس) در فرزندان بالغ شود و عوامل سروتونینرژیک، ممکن است در این مناطق برای مهار سیستم لیمبیک عامل پردردنی توسط استرس گردند. مدل مواجهه با استرس مزمن ناهمگن ترتیبی در مادران باردار، روی رفتارهای درد القا شده توسط فرمالین در فرزندان بالغ، ممکن است در ارزیابی مکانیسم پایه که استرس را با درد ارتباط می‌دهد، مفید باشد و همچنین وسیله‌ای برای بررسی داروها برای بیماری‌های دردناک با منشأ استرسی قوی را فراهم کند.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات آقای نیما حیدری و خانم المیرا قاسمی دانشجوی هوشبری تشکر و قدردانی می‌شود.

مشاهده شد؛ اما این پاسخ، به صورت معنی‌داری ۱۵ دقیقه بعد از استرس در گروه مورد نسبت به گروه شاهد بیشتر بود. نتایج پیشنهاد می‌کنند که در مدل درد التهای (آزمون فرمالین) پاسخ دردنی بر طبق دوره‌ی زمانی و ارزیابی پاسخ دارای الگوی متفاوتی است (۱۶).

نتایج، تأیید کننده‌ی یافته‌های قبلی و بیانگر آن است که مواجهه با استرس مزمن ناهمگن ترتیبی در مادران باردار، موجب ایجاد تغییر حساسیت دردنی در پاسخ به تحریک و افزایش درد القا شده در فرزندان بالغ توسط آزمون فرمالین می‌شود که می‌تواند به افزایش پایایی تغییرات در سیستم عصبی دخیل در تعدیل رفتارهای دردنی، منجر شود. آنالیز مرحله‌ی اینترفاز که دقایق ۱۴-۸ را شامل می‌شود، کاهش معنی‌داری را در رفتارهای دردنی در موش‌های نر نشان داد. اگر چه این رفتار معنی‌دار نبود، اما می‌تواند یک افزایش معنی‌دار در مرز بین شروع فاز ۲ و اینترفاز در دقایق ۲۱-۱۸ مشاهده کرد که دلالت بر کوتاه شدن اینترفاز و یا شروع سریع رفتارهای دردنی در فاز ۲ دارد. این مسأله، نشان می‌دهد که استرس مزمن ممکن است نقش مهمی در تعدیل مرحله‌ی اینترفاز و همچنین پردازش عصبی که در طول فاز انتهایی آزمون فرمالین انجام می‌شود، داشته باشد.

شواهدی وجود دارد که بیان می‌کند مرحله‌ی اینترفاز آزمون فرمالین، یک مرحله‌ی فعال و در

### References

1. Heidari-Oranjaghi N, Azhdari-Zarmehri H, Erami E, Haghparast A. Antagonism of orexin-1 receptors attenuates swim- and restraint stress-induced antinociceptive behaviors in formalin test. *Pharmacol Biochem Behav* 2012; 103(2): 299-307.
2. Sofiabadi M, Heidari-Oranjaghi N, Ghasemi E, Esmaeili MH, Haghdoost-Yazdi H, Erami E, et al. Assesment of orexin receptor 1 in stress attenuated nociceptive behaviours in formalin test. *Physiol Pharmacol* 2011; 15(3): 395-402. [In Persian].

3. Vidal C, Jacob J. Hyperalgesia induced by emotional stress in the rat: an experimental animal model of human anxiogenic hyperalgesia. *Ann N Y Acad Sci* 1986; 467: 73-81.
4. Ghasemi E, Erami E, Elahdadi Salmani M, Azhdari Zarmehri H. Chronic heterogeneous sequential stress increases formalin-induced nociceptive. *Physiol Pharmacol* 2013; 16(4): 371-9. [In Persian].
5. Melzack R. From the gate to the neuromatrix. *Pain* 1999; (Suppl 6): S121-S126.
6. Espinosa-Oliva AM, de Pablos RM, Villaran RF, Arguelles S, Venero JL, Machado A, et al. Stress is critical for LPS-induced activation of microglia and damage in the rat hippocampus. *Neurobiol Aging* 2011; 32(1): 85-102.
7. Azhdari ZH, Semnanian S, Fathollahi Y, Erami E, Khakpay R, Azizi H, et al. Intra-periaqueductal gray matter microinjection of orexin-A decreases formalin-induced nociceptive behaviors in adult male rats. *J Pain* 2011; 12(2): 280-7.
8. 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.
9. 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. *Physiol Pharmacol* 2008; 12(3): 188-93. [In Persian].
- 10.Coderre TJ, Vaccarino AL, Melzack R. Central nervous system plasticity in the tonic pain response to subcutaneous formalin injection. *Brain Res* 1990; 535(1): 155-8.
11. Dickenson AH, Sullivan AF. Evidence for a role of the NMDA receptor in the frequency dependent potentiation of deep rat dorsal horn nociceptive neurones following C fibre stimulation. *Neuropharmacology* 1987; 26(8): 1235-8.
12. Franklin KB, Abbott FV. Pentobarbital, diazepam, and ethanol abolish the interphase diminution of pain in the formalin test: evidence for pain modulation by GABAA receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 1993; 46(3): 661-6.
13. Vidal C, Jacob JJ. Stress hyperalgesia in rats: an experimental animal model of anxiogenic hyperalgesia in human. *Life Sci* 1982; 31(12-13): 1241-4.
14. Satoh M, Kuraishi Y, Kawamura M. Effects of intrathecal antibodies to substance P, calcitonin gene-related peptide and galanin on repeated cold stress-induced hyperalgesia: comparison with carrageenan-induced hyperalgesia. *Pain* 1992; 49(2): 273-8.
15. Butler RK, Finn DP. Stress-induced analgesia. *Prog Neurobiol* 2009; 88(3): 184-202.
16. da Silva Torres IL, Cucco SN, Bassani M, Duarte MS, Silveira PP, Vasconcellos AP, et al. Long-lasting delayed hyperalgesia after chronic restraint stress in rats-effect of morphine administration. *Neurosci Res* 2003; 45(3): 277-83.
17. Gaumond I, Arsenault P, Marchand S. The role of sex hormones on formalin-induced nociceptive responses. *Brain Res* 2002; 958(1): 139-45.
18. Henry JL, Yashpal K, Pitcher GM, Coderre TJ. Physiological evidence that the 'interphase' in the formalin test is due to active inhibition. *Pain* 1999; 82(1): 57-63.
19. Vaccarino AL, Chorney DA. Descending modulation of central neural plasticity in the formalin pain test. *Brain Res* 1994; 666(1): 104-8.



## Effect of Exposure to Chronic Heterogeneous Sequential Stress during Prenatal on Formalin-Induced Nociceptive Behaviour in Adult Offspring in Rats

Farzad Rajaei PhD<sup>1</sup>, Elaheh Erami MSc<sup>2</sup>, Hassan Azhdari-Zarmehri PhD<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** There are different kinds of stress on mothers during prenatal period. The present study investigated the effects of exposure to chronic heterogeneous sequential stress during prenatal period on formalin-induced nociceptive behavior in adult offspring.

**Methods:** In the present study, animals were divided in stressed and non-stressed groups and their offspring divided in male and female groups. Heterogeneous sequential stress including food deprivation, water deprivation, restraint, restraint at room temperature, restraint at 4°C, forced swimming and social isolation were applied during days 9 to 19 of gestation. Formalin test as chemical model and hot-plate as thermal pain model were used in rats.

**Findings:** Chronic heterogeneous sequential stress increased the nociceptive behaviors in male rats in first part and in female rats in second part of phase 2 of formalin test compared with controls.

**Conclusion:** The result of this study showed that chronic heterogeneous sequential stress in rats increased the nociceptive behaviours in second phase of formalin test in a gender-dependent order; which suggested chronic heterogeneous sequential stress may be useful in evaluating the basic mechanism of exposure to chronic heterogeneous sequential stress during prenatal period on in adult offspring.

**Keywords:** Chronic heterogeneous stress, Prenatal, Pain, Formalin test

**Citation:** Rajaei F, Erami E, Azhdari-Zarmehri H. **Effect of Exposure to Chronic Heterogeneous Sequential Stress during Prenatal on Formalin-Induced Nociceptive Behaviour in Adult Offspring in Rats.** J Isfahan Med Sch 2013; 31(256): 1640-8

1- Professor, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

2- Instructor, Department of Nursing and Midwifery, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

3- Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

**Corresponding Author:** Hassan Azhdari-Zarmehri PhD, Email: hasan.azhdari@gmail.com