مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، شهریور ۱۳۹۸، دوره ۷۷، شماره ٦، صفحه‌های ۳۳۷ تا ۳٤٤ مقاله اصیل

اثر تغییر در ریتم روشنایی/تاریکی بر حس درد حرارتی و شیمیایی در موش صحرایی نر

فاطمه مروی سماورچی، مسعود فریدونی*، علی مقیمی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

دریافت: ۱۳۹۸/۰۱/۱۸ ویرایش: ۱۳۹۸/۰۱/۲۵ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۲۳ آنلاین: ۱۳۹۸/۰۶/۳۱

چکیده

زمینه و هدف: جانوران یک ساعت بیولوژیک درونی با واسطه هورمون ملاتونین دارند که به آن‌ها در سازگاری با چرخه‌های روشنایی/تاریکی کمک می‌کند. از آن‌جا که ملاتونین با تغییر در تولید گیرنده‌های اپیوییدی در ارتباط است، از این‌رو این مطالعه به ارزیابی اثر تغییر در دوره‌های روشنایی/تاریکی بر حس درد در موش صحرایی پرداخته است.

روش بررسی: این مطالعه تجربی از فروردین تا شهریور سال ۱۳۹٤ در گروه زیست‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد انجام گرفت. به‌منظور بررسی درد حرارتی و شیمیایی در آزمون Tail flick (Sparco, Tehran, Iran) و فرمالین، تعداد ۳۵ موش صحرایی در پنج گروه هفت‌تایی شامل گروه تحت ۲٤ ساعت روشنایی، ١٦ ساعت روشنایی/۸ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی/۱۲ساعت تاریکی (کنترل)، ۸ ساعت روشنایی/١٦ ساعت تاریکی و ۲٤ ساعت تاریکی مورد آزمایش قرار گرفتند. افزون‌براین Rotarod test برای بررسی تعادل حرکتی انجام شد.

یافته‌ها: در آزمون Tail flick، افزایش زمان تاریکی سبب افزایش آستانه درد حرارتی و به‌دنبال آن بروز بی‌دردی در گروه آزمایشی ۲٤ ساعت تاریکی گردید (P=۰/۰۳)، در حالی‌که کاهش زمان تاریکی در گروه ١٦ ساعت روشنایی/۸ ساعت تاریکی سبب کاهش آستانه درد حرارتی و بروز پردردی شد (P=۰/۰۰۲). در آزمون فرمالین، شدت درد شیمیایی در انتهای مرحله درد مزمن فقط در گروه آزمایشی ١٦ ساعت روشنایی/۸ ساعت تاریکی در مقایسه با کنترل افزایش یافت که نشان‌دهنده بروز پردردی بود (P=۰/۰۳).

نتیجه‌گیری: به‌احتمال تغییر در دوره‌های روشنایی منجر به تغییر در تولید ملاتونین و اپیوییدها و گیرنده‌های آن‌ها می‌شود. بنابراین انتظار می‌رود که با کاهش طول دوره تاریکی چرخه‌ی نوری و در نتیجه کوتاه‌تر شدن دوره افزایش تولید ملاتونین و در پی آن بیان کمتر گیرنده‌های اپیوییدی، در این گروه‌ها آستانه درد حرارتی کاهش یافته و در نتیجه نوعی پاسخ پردردی ایجاد شود.

کلمات کلیدی: ریتم‌های بیولوژیک، ملاتونین، درد، دوره نوری، گیرنده‌های اپیوییدی، رت.

*نویسنده مسئول: مشهد، میدان آزادی، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی.
تلفن: ۳۸۸۰٤۰۳۷ -۰۵۱
E-mail: fereidoni@um.ac.ir

مقدمه

عملکردهای بیولوژیکی، تغییراتی دوره‌ای یا ریتمیک را در انسان، سایر جانوران، گیاهان و حتی موجودات تک‌سلولی نشان می‌دهند که به آن‌ها ریتم‌های بیولوژیک گفته می‌شود.[1] ریتم‌های بیولوژیک و سازماندهی زمانی آن‌ها پدیده‌های سازشی نسبت به تغییرات دوره‌ای در عوامل محیطی وابسته به گردش زمین حول محور خودش و به دور خورشید می‌باشند.[2] الگوهای خواب و بیداری، دمای بدن، سطوح سرمی هورمون‌هایی مانند پرولاکتین، هورمون محرک تیرویید، کورتیزول و عملکردهای نخاعی از جمله فرآیندهای رفتاری و

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-05-13]

فیزیولوژیکی متعددی هستند که در انسان دارای نوسان‌های ریتمیک می‌باشند.[۳و۴] یکی از اصلی‌ترین مراکز عصبی مرتبط با تنظیم این ریتم‌ها در پستانداران، هسته سوپرا کیاسماتیک (Suprachiasmatic nucleus, SCN) هیپوتالاموس می‌باشد.[۵] البته در سایر بخش‌های مغز و بافت‌های محیطی نیز تنظیم‌کننده‌های دیگری شناسایی شده‌اند که سیستم‌های ساعتی وابسته به فعالیت SCN (مانند ساعت‌های محیطی مستقر در کلیه و قلب) و یا مستقل از SCN (مانند ساعت نوسان‌ساز غذایی FEO) دارند.[۳و۶و۷]

هسته سوپراکیاسماتیک به‌وسیله اعصاب سمپاتیک و با واسطه هورمون ملاتونین ترشح شده از غده پینه‌آل سبب همزمانی ریتم‌های درونی با دوره‌های روشنایی/تاریکی محیط می‌شود.[۸] بنابراین ملاتونین به‌عنوان بیومارکر ریتمیسیته مطرح می‌شود که افزون‌براین نقش، اثرات فیزیولوژی دیگری مانند تعدیل سیستم قلبی-عروقی، عملکرد آنتی‌اکسیدانتی، تعدیل درد و بی‌حسی نیز دارد.[۹]

دوره‌های روشنایی/تاریکی یکی از مهمترین تغییرات ریتمیک محیطی است که ریتم‌های بیولوژیک را تحت تأثیر خود قرار می‌دهد.[۱۰] اثر دوره‌های روشنایی/تاریکی بر رفتارهایی مانند حافظه، تولیدمثل، خواب و بیداری و متابولیسم در پژوهش‌های زیادی مورد بررسی قرار گرفته است.[۱۱-۱۴]

از طرفی تغییر عادات زندگی و بر هم خوردن ریتم‌های نوری در زندگی مدرن انسان امروزی و به‌ویژه مشاغل ویژه (مانند کارهای شیفتی و سفرهای هوایی) سبب بروز اثرات رفتاری مانند تغییرعملکرد شناختی، مشکلات باروری در زنان و مردان، چاقی و دیابت نوع دو شده است.[۹و۱۵و۱۶]

مطالعات نشان می‌دهند که تغییرات روزانه‌ای در درک درد نیز وجود دارد و حساسیت به درد در مراحل مختلف دوره‌های روشنایی/تاریکی متفاوت است به‌طوری‌که، در حین تاریکی ضمن افزایش ملاتونین پلاسما، جانوران حساسیت کمتری به درد نشان می‌دهند.[۹]

در انسان نیز تفاوت‌هایی در میزان درد در طول دوره ۲۴ ساعته روشنایی/تاریکی مشاهده شده است که در مورد بیماری‌های مختلف، متفاوت است.[۱۵و۱۷] از این‌رو هدف از این مطالعه ارزیابی اثر تغییر در دوره‌های روشنایی/تایکی بر احساس درد شیمیایی و حرارتی می‌باشد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی از ۳۵ موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ g استفاده شد. موش‌ها در حیوان‌خانه گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد، تحت چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲±۲۲ $^{\circ}C$ در قفس‌های Plexy glass با دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. تمامی تحقیقات و عملیات آزمایشگاهی روی جانوران با رعایت مقررات بین‌المللی اخلاق علمی حمایت از حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت.[۱۸]

به‌منظور ایجاد شرایط نوری مختلف و کنترل طول مراحل روشنایی و تاریکی دوره‌های نوری، اتاقکی با ابعاد ۶۰×۸۰×۶۰ cm (به‌طوری که یک باکس نگهداری داخل آن قرار بگیرد) طراحی شد. در سقف این اتاقک یک لامپ LED (۲۰ وات) جای‌گذاری گردید که روشن و خاموش شدن آن به وسیله تایمر و تنظیمات مربوطه کنترل شد.

قسمت کف این اتاقک با پارچه مشکی از محیط حیوانخانه جدا شد. به این ترتیب ضمن برقراری شرایط دمایی یکسان با حیوان‌خانه، از ورود نور به اتاقک جلوگیری شد. حیوانات در پنج گروه هفت‌تایی به‌ترتیب شامل گروه ۲۴ ساعت روشنایی (۲۴ نور)، گروه ۱۶ ساعت روشنایی/ ۸ ساعت تاریکی (۱۶ نور/ ۸ تاریکی)، گروه کنترل (۱۲ نور/ ۱۲ تاریکی)، گروه ۸ ساعت روشنایی/ ۱۶ ساعت تاریکی (۸ نور/ ۱۶ تاریکی) و گروه ۲۴ ساعت تاریکی (۲۴ تاریکی) تقسیم‌بندی شدند.

در این پژوهش دوره‌های روشنایی/تاریکی یاد شده برای هر گروه آزمایشی به مدت پنج روز پیاپی تکرار شد و در روز ششم آزمون‌های سنجش درد حرارتی و شیمیایی بین ساعت هشت صبح تا ۱۲ ظهر انجام گردید.

به‌منظور سنجش آستانه تحمل درد حرارتی در موش صحرایی از آزمون Tail flick (Sparco, Tehran, Iran) استفاده شد. در این آزمون، یک محرک گرمایی شدید به دم حیوان اعمال گردید و فاصله زمانی شروع تابش حرارت تا حرکت دادن دم توسط حیوان مورد ارزیابی قرار گرفت.[۱۹] زمان قطع تحریک توسط دستگاه روی ۱۰ ثانیه تنظیم شد تا از هرگونه آسیب بافتی جلوگیری شود. به‌منظور بالا بردن دقت

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-05-13]

آزمایش و جلوگیری از بروز خطا، سه آزمون جداگانه به فاصله زمانی یک دقیقه در ۱/۳ میانی دم انجام گردید. سپس میانگین این سه آزمون به‌عنوان میانگین آستانه حرارتی اولیه برای هر حیوان در نظر گرفته شد. در مرحله بعد و پس از قرار دادن حیوان تحت دوره‌های نوری یاد شده، آزمون Tail flick تکرار گردید. میزان تغییر در آستانه درد حرارتی از محاسبه تفاوت میانگین زمان تأخیر پیش و پس از تیمار محاسبه شد.

برای بررسی اثر تغییرات دوره‌های نوری بر روی درد پایدارتر شیمیایی که در طی آن آسیب بافتی روی می‌دهد، از آزمون فرمالین استفاده گردید. پاسخ به درد در این آزمون شامل دو مرحله است. در مرحله اول، حیوان مدت زمان کوتاهی درد می‌کشد و سپس برای چند دقیقه درد تسکین پیدا می‌کند و در مرحله دوم، حیوان با درد شدید و طولانی‌تری روبه‌رو می‌شود.[۱۹]

به‌منظور انجام این آزمون، مقدار ml ۰/۰۵ فرمالین ٪۲/۵ به‌صورت زیرجلدی به کف پای عقبی حیوان تزریق شد. پس از تزریق فرمالین رفتار درد حیوان به مدت یک ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌منظور کمی کردن میزان درد و مقایسه داده‌ها، به رفتاری که حیوان در مقابل درد ناشی از فرمالین نشان داد امتیاز تعلق گرفت. امتیازدهی به این صورت انجام گردید که صفر برای زمانی که حیوان دردی نشان نمی‌داد، یک برای وقتی که نوک پا را روی زمین می‌گذاشت، دو برای زمانی که پا را در تمام مدت بالا نگه می‌داشت و سه برای زمانی که پا را تکان می‌داد، گاز می‌گرفت یا لیس می‌زد. رفتار حیوان هر ۱۵ ثانیه ثبت شد و برای مقایسه بین گروه‌ها میانگین امتیازات درد هر پنج دقیقه محاسبه گردید.

به منظور بررسی عوارض احتمالی تغییر در ریتم‌های نوری در رفتار حرکتی و تعادلی، از Rotarod test استفاده شد. Rotarod دستگاهی است که با استفاده از آن مقاومت حرکتی و حفظ تعادل حیوانات سنجیده می‌شود. این دستگاه شامل یک گردونه است که سرعت چرخیدن آن صفر تا ٤٠ rpm می‌باشد. در این مطالعه سرعت چرخیدن دستگاه ٤٠ rpm در نظر گرفته شد. مدت زمانی را که موش قادر بود تعادل خود را حفظ و در مقابل حرکت گردونه مقاومت کند، به‌عنوان زمان پایداری موش ثبت شد و این عمل برای هر موش پنج مرتبه تکرار و میانگین آن محاسبه گردید.[۲۰] در نهایت داده‌ها به‌صورت Mean±SEM ارایه شدند و تجزیه و تحلیل آماری به کمک GraphPad Prism 6 software (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA) انجام و توزیع متعادل داده‌های هر گروه به کمک آزمون آماری Bartlett's test بررسی گردید.

آزمون‌های آماری شامل تجزیه و تحلیل یک طرفه ANOVA برای بررسی اثربخشی تیمار و آزمون Uncorrected Fisher's LSD برای مقایسه میانگین داده‌ها بین گروه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

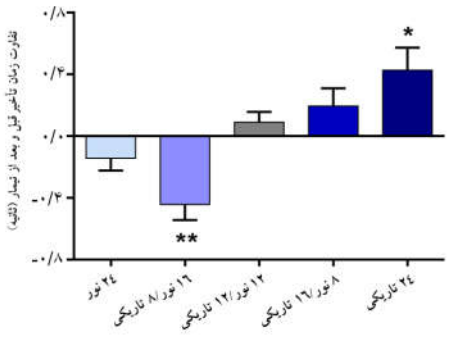
نتایج حاصل از آزمون Tail flick میان گروه کنترل و گروه‌های ٢٤ ساعت روشنایی، ١٦ ساعت روشنایی/٨ ساعت تاریکی، هشت ساعت روشنایی/ ١٦ ساعت تاریکی و ٢٤ ساعت تاریکی نشان داد که کاهش مرحله تاریکی دوره نوری در گروه ١٦ ساعت روشنایی/٨ ساعت تاریکی سبب کاهش معنادار (۰/۱±۰/٤٤-) (P=۰/۰۰۲) آستانه درد حرارتی و در نتیجه بروز پردردی در این گروه شد (P<۰/۰۰۱، ۹/۰۷۷=(۳۰ و ٤) F).

افزون‌براین یافته‌های این بررسی حاکی از آن بود که افزایش مدت زمان تاریکی چرخه روشنایی/تاریکی در گروه ٢٤ ساعت تاریکی منجر به سیر صعودی معنادار آستانه درد حرارتی و بروز حس بی‌دردی گردید (۰/۱٤±۰/٤٢) (P=۰/۰۳). این درحالی‌است که افزایش مدت زمان مرحله روشنایی سبب سیر نزولی آستانه درد در گروه ٢٤ ساعت روشنایی (۰/۰۷±۰/۱٤-) در مقایسه با گروه کنترل (١٢ ساعت روشنایی/ ١٢ ساعت تاریکی) (۰/۰٦±۰/۰۸) شد که از نظر آماری معنادار نبود (شکل ۱).

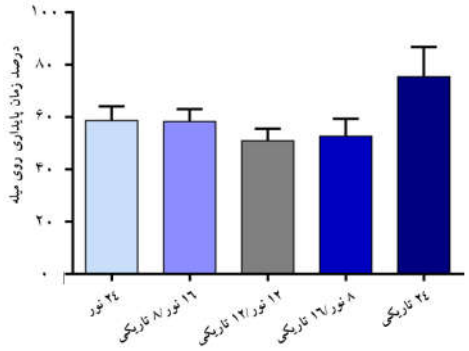
نتایج حاصل از آزمون فرمالین بین گروه کنترل و سایر گروه‌های مورد مطالعه حاکی از آن بود که شدت درد شیمیایی در مرحله میانی آزمون فرمالین در گروه ٢٤ ساعت روشنایی در مقایسه با کنترل افزایش یافت ولی این افزایش معنادار نبود.

همچنین نتایج آزمون فرمالین نشان داد که شدت درد شیمیایی در انتهای مرحله درد مزمن ناشی از تزریق کف پایی فرمالین در گروه ١٦ ساعت روشنایی/٨ ساعت تاریکی در مقایسه با کنترل افزایش معناداری یافت (P=۰/۰۳۷، ۲/۹۱=(۳۰ و ٤) F). از طرفی شدت درد شیمیایی در مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین در گروه‌های ۸ ساعت

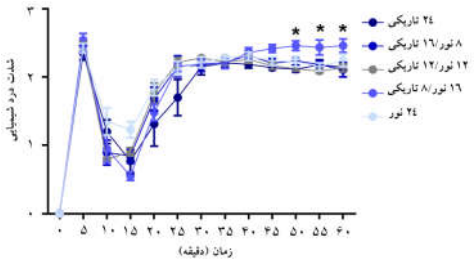
[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-05-13]



نمودار ۱: مقایسه نتایج حاصل از سنجش میزان آستانه درد حرارتی طی آزمون Tail flick بین گروه‌های کنترل (۱۲ ساعت نور/ ۱۲ تاریکی)، ۲٤ ساعت نور، ۱٦ ساعت نور/ ۸ ساعت تاریکی، ۸ ساعت نور/ ۱٦ ساعت تاریکی، ۲٤ ساعت تاریکی



نمودار ۳: مقایسه نتایج حاصل از سنجش زمان پایداری روی میله دوار طی آزمون روتارود بین گروه های کنترل (۱۲ ساعت نور/ ۱۲ تاریکی)، ۲٤ ساعت نور، ۱٦ ساعت نور/ ۸ ساعت تاریکی، ۸ ساعت نور/ ۱٦ ساعت تاریکی، ۲٤ ساعت تاریکی



نمودار ۲: مقایسه نتایج حاصل از سنجش شدت درد شیمیایی طی آزمون فرمالین بین گروه‌های کنترل (۱۲ ساعت نور/ ۱۲ تاریکی)، ۲٤ ساعت نور، ۱٦ ساعت نور/ ۸ ساعت تاریکی، ۸ ساعت نور/ ۱٦ ساعت تاریکی، ۲٤ ساعت تاریکی

روشنایی/ ۱٦ ساعت تاریکی و ۲٤ ساعت روشنایی در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت (شکل ۲). نتایج حاصل از Rotarod test میان گروه‌های کنترل و گروه‌های ۲٤ ساعت روشنایی، ۱٦ ساعت روشنایی/ ۸ ساعت تاریکی، ۸ ساعت روشنایی/ ۱٦ ساعت تاریکی و ۲٤ ساعت تاریکی نشان داد که تغییر سیکل روشنایی/تاریکی تأثیر معناداری بر زمان پایداری روی میله دستگاه Rotarod و تعادل جانور نداشت (F (٤ و ۳۱)=۱/۸٤، P=۰/۱٤٤) (شکل ۳).

بحث

در پژوهش‌های پیشین وجود ریتم سیرکادین برای احساس درد حرارتی به‌همراه تغییر در تولید میانجی‌های درد در طول یک دوره ۲٤ ساعته روشنایی/تاریکی ثابت شده است.[۲۱] اثرات ضد دردی و ضد التهابی ملاتونین و رابطه آن با سیستم اپیوییدی در مطالعات زیادی بررسی شده است. این مطالعات نشان می‌دهند که در موش‌های صحرایی حساسیت به درد حرارتی در مرحله تاریکی دوره نوری و همزمان با دوره افزایش ملاتونین، بیشترین کاهش را دارد.[۱۵و۲۲] از طرفی، اندازه‌گیری غلظت مغزی (مایع مغزی- نخاعی) و پلاسمایی اپیوییدهای درون‌زاد (انکفالین‌ها و اندورفین‌ها) در جوندگان و انسان نشان می‌دهد که سطوح بالا و پایین پپتیدهای درون‌زاد به‌وسیله دوره‌های استراحت و فعالیت تعیین می‌شود به‌طوری که بالاترین سطح این مواد در موش صحرایی در دوره فعالیت (همزمان با مرحله تاریکی دوره روشنایی/ تاریکی) جانور می‌باشد و به‌دنبال آن سطح حساسیت به درد (در آزمون Tail flick) در دوره فعالیت افزایش و احساس درد کاهش می‌یابد. پژوهشگران ارتباط این بی‌دردی را با آزادسازی اپیوییدها به‌وسیله نالوکسان (آنتاگونیست گیرنده‌های اپیوییدی) بررسی و تأیید کرده‌اند.[۲۱] همچنین، وجود رابطه بین زمان تأخیر درد حرارتی و نوسانات بیان mRNA ی گیرنده‌های اپیوییدی

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-05-13]

(μ و δ) در ماده خاکستری اطراف قنات مغزی (که ورودی‌های صعودی درد را از نخاع دریافت می‌کند) و نخاع ثابت شده است. به‌طوری که در ساعات ۲۰ و ۲ دوره روشنایی/ تاریکی طبیعی (۱۲ ساعت روشنایی/ ۱۲ ساعت تاریکی) – زمان افزایش تولید ملاتونین– ، بیان این گیرنده‌ها به‌طور معناداری بیشتر از ساعت ۸ – زمان کاهش میزان ملاتونین– می‌باشد و این بیان افزایش‌یافته mRNAs گیرنده‌های اپیوییدی همزمان با ریتم سیرکادین ۲۴ ساعته تغییرات آستانه درد در پاسخ به محرک‌های دردزای حرارتی می‌شود.[۲۳] بنابراین احتمال آن می‌رود که با کاهش طول مرحله تاریکی دوره روشنایی/ تاریکی در گروه با مرحله روشنایی طولانی‌تر و کوتاه‌تر شدن دوره افزایش تولید ملاتونین، کاهش میزان اپیوییدها و بیان گیرنده‌های اپیوییدی کاهش‌یافته و در نتیجه سطح آستانه درد حرارتی به‌احتمال کاهش‌یافته و نوعی پاسخ پردردی ایجاد شود (شکل ۱).

سؤالی که در اینجا مطرح می‌شود این است که چرا در گروه ۲۴ ساعت روشنایی با توجه به بیشتر شدن زمان دوره روشنایی پاسخ به درد نسبت به گروه ۱۶ ساعت روشنایی کمتر است؟ در پاسخ باید به این نکته اشاره کرد که براساس مطالعات ریتم ملاتونین در شرایط تاریکی و روشنایی ثابت تغییر نمی‌کند و چون دوره زمانی تغییرات آن ۲۵ ساعت است در پایان هر شبانه روز یک ساعت عقب می‌افتد.[۲۱] بنابراین پس از پنج روز قرار گرفتن در چنین شرایطی زمان پیک ملاتونین از حدود ۱۲ نیمه شب به پنج صبح منتقل شده و در نتیجه در زمان انجام آزمایشات که هشت صبح بود غلظت ملاتونین هنوز بالاست و همین امر سبب ایجاد بی‌دردی در گروه ۲۴ ساعت تاریکی شده است. مشابه این شرایط برای گروه ۲۴ ساعت روشنایی رخ داده با این تفاوت که در کل دوره پنج روزه، روشنایی به‌عنوان عامل بازدارنده از تولید ملاتونین حضور داشته است و در نتیجه با کاهش میزان ملاتونین و اثرات ضددردی آن پاسخ به درد افزایش یافته است. ویژگی‌های نوسانی مختلفی که بین درد حرارتی درد شیمیایی (التهابی) وجود دارد، می‌تواند نشان‌دهنده وجود مولکول‌ها و راه‌های متفاوت تنظیم‌کننده برای تنوع ویژگی‌های سیرکادین در میزان متفاوت حساسیت به درد باشد.[۲۴] در مطالعات مختلفی که روی درد شیمیایی انجام شده نتایج مختلف و گاهاً متضادی در رابطه با اثر ملاتونین بر درد شیمیایی به‌دست آمده است. این نتایج باعث مطرح شدن این فرضیه می‌شود که دوزهای مختلف ملاتونین منجر به فعال شدن گیرنده‌های متفاوت (مانند گیرنده‌های هسته‌ای و غشایی) و در نتیجه راه‌های متفاوت می‌شود.[۲۵] به‌طور کلی مطالعات انجام شده دو روند مرکزی و محیطی را در مورد مکانیزم اثرات ضددردی ملاتونین پیشنهاد می‌کنند. اثر مرکزی از فعال شدن گیرنده‌های ملاتونینی در سیستم عصبی مرکزی و تعدیل سایر سیستم‌های گیرنده‌ای شامل سیستم اپیوییدی حاصل می‌شود. عمل ضددردی محیطی نیز به نظر می‌رسد که به اثرات ضد اکسیداتیو/ ضدالتهابی ملاتونین وابسته باشد که باعث کاهش التهاب محل آسیب دیده می‌شود.[۲۶] مطالعات نشان می‌دهد که رابطه‌ای کیفی میان ماده P نخاعی و بروز پاسخ‌های رفتاری درد متغیر در ساعات مختلف چرخه روشنایی/ تاریکی وجود دارد. این تغییرات سیرکادین به‌وسیله ساعت محیطی واقع در Dorsal root ganglion (DRG) و اثر آن بر بیان ژن Tac1 ایجاد می‌شود. این ساعت محیطی به‌صورت خودکار و مستقل از محرک‌های برونزاد فعالیت می‌کند. البته این نکته را نیز باید در نظر داشت که SCN از طریق سیستم عصبی خودکار و سیستم ترشح‌کننده هورمون می‌تواند ریتم‌های تولید شده توسط ساعت‌های محیطی را تنظیم کند و این سیستم‌ها می‌توانند به‌طور غیرمستقیم بر فیبرهای اولیه نوسیسپتیو تأثیر گذارند.[۲۴]

بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که عدم تأثیر تغییر در دوره‌های نوری بر احساس درد شیمیایی که در نمودار ۲ دیده می‌شود به این دلیل احتمالی است که تولید ماده P به‌عنوان یکی از مهمترین عوامل دخیل در این نوع درد به‌وسیله ساعت محیطی اتونومی تنظیم می‌شود که در DRG واقع است و در مقایسه با سایر اعمال ریتمیک که تحت تأثیر ساعت مرکزی SCN می‌باشند و به‌وسیله مسیر رتینوهیپوتالامیک با نشانه‌های نوری محیطی همزمان می‌شوند، به‌نسبت مستقل از علایم نوری محیطی عمل می‌کند و بنابراین، احساس درد شیمیایی کمابیش نمی‌تواند از ریتم‌های نوری محیطی که به‌طور مصنوعی در این پروژه تغییر داده شده بودند تأثیر زیادی بگیرد.

از طرفی افزایش معنادار پاسخ درد شیمیایی در دقایق ۴۵، ۵۰ و ۵۵ مرحله درد مزمن یا التهابی که علت بروز علایم درد در این مرحله بیشتر به آزاد سازی عوامل التهابی توسط بافت آسیب دیده مربوط می‌شود.[۲۷] درگروه ۱۶ ساعت روشنایی/ ۸ ساعت تاریکی که در شکل ۲ دیده می‌شود، شاید به این دلیل است که کاهش طول مرحله تاریکی دوره روشنایی/ تاریکی و به‌دنبال آن کاهش طول دوره بالا

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-05-13]

رفتن میزان ملاتونین، سبب عدم فعال شدن گیرنده‌های هسته‌ای ملاتونین و در نتیجه بیان نیتریک‌اکساید (که یکی از عوامل به راه‌اندازی واکنش‌های التهابی می‌باشد) و در نتیجه افزایش پاسخ درد و التهاب در مرحله التهابی آزمون فرمالین گشته است. بررسی نتایج به‌دست آمده از Rotarod test نیز نشان می‌دهد که تغییر دوره‌های نوری چرخه روشنایی/ تاریکی تأثیر چندانی بر رفتار حرکتی و حفظ تعادل جانور نداشته است (نمودار ۳). بنابراین می‌توان نتیجه گیری کرد که افزایش مرحله تاریکی چرخه روشنایی/ تاریکی توانسته است بدون ایجاد اثرات و عوارض جانبی شامل تغییر در رفتار حرکتی پاسخ به محرک حرارتی دردزا را کاهش دهد. در صورتی که با دید مدیریت احساس درد به نتایج این پژوهش نگاه شود، شاید بتوان پیشنهاد کرد که برای مدیریت درد در موش صحرایی به‌ویژه دردهای سریع همچون درد حرارتی بهتر است محرک‌های دردناک در اوقات تاریکی برای بروز اثر تحریکی و القای درد کمتر در جانور به‌کار گرفته شوند.

به‌طورکلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که کاهش مرحله تاریکی دوره روشنایی/ تاریکی و کوتاه‌تر شدن دوره افزایش تولید ملاتونین، سبب کاهش میزان اپیوییدها و بیان کمتر گیرنده‌های اپیوییدی و در نتیجه پایین آمدن سطح آستانه درد حرارتی و در نتیجه نوعی پاسخ پردردی گشته است. از طرفی عدم تأثیر تغییر در دوره‌های نوری بر احساس درد شیمیایی به این دلیل احتمالی است که تولید ماده P به‌عنوان یکی از مهمترین عوامل دخیل در این نوع درد به وسیله ساعت محیطی اتونومی تنظیم می‌شود که در DRG واقع است و در مقایسه با سایر اعمال ریتمیک که تحت تأثیر ساعت مرکزی SCN می‌باشند، به‌نسبت مستقل از علایم نوری محیطی عمل می‌کند و بنابراین، احساس درد شیمیایی به‌احتمال نمی‌تواند از ریتم‌های نوری محیطی تأثیر زیادی بگیرد. با توجه به نتایج به‌دست آمده از Rotarod test نیز می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افزایش مرحله تاریکی چرخه روشنایی/ تاریکی توانسته است بدون ایجاد اثرات و عوارض جانبی شامل تغییر در رفتار حرکتی پاسخ به محرک حرارتی دردزا را کاهش دهد. در کل یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تغییر در سیکل روشنایی/تاریکی می‌تواند اثراتی بر احساس درد داشته باشد به‌طوری‌که افزایش مدت زمان تاریکی سبب افزایش آستانه درد حرارتی و در نتیجه بروز بی‌دردی و کاهش آن سبب کاهش آستانه درد حرارتی و در نتیجه بروز پردردی گردد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی تأثیر تغییر در ریتم های نوری بر درد حرارتی و شیمیائی در موش صحرایی" در مقطع کارشناسی ارشد و طرح پژوهشی با همین عنوان در سال ۱۳۹۳ با کد ۳/۳۷۰۵۲ در گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد.

References

1. Mailloux A, Benstaali C, Bogdan A, Auzéby A, Touitou Y. Body temperature and locomotor activity as marker rhythms of aging of the circadian system in rodents. *Exp Gerontol* 1999;34(6):733-40.
2. Reinberg A, Ashkenazi I. Concepts in human biological rhythms. *Dialogues Clin Neurosci* 2003;5(4):327-42.
3. Morioka N, Sugimoto T, Tokuhara M, Nakamura Y, Abe H, Hisaoka K, et al. Spinal astrocytes contribute to the circadian oscillation of glutamine synthase, cyclooxygenase-1 and clock genes in the lumbar spinal cord of mice. *Neurochem Int* 2012;60(8):817-26.
4. Srinivasan V, Pandi-Perumal SR, Spence DW, Moscovitch A, Trakht I, Brown GM, et al. Potential use of melatonergic drugs in analgesia: mechanisms of action. *Brain Res Bull* 2010;81(4-5):362-71.
5. Mammen AP, Jagota A. Immunocytochemical evidence for different patterns in daily rhythms of VIP and AVP peptides in the suprachiasmatic nucleus of diurnal Funambulus palmarum. *Brain Res* 2011;1373:39-47.
6. Schulz P, Steimer T. Neurobiology of circadian systems. *CNS Drugs* 2009;23 Suppl 2:3-13.
7. Golombek DA, Bussi IL, Agostino PV. Minutes, days and years: molecular interactions among different scales of biological timing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2014;369(1637):20120465.
8. Dispersyn G, Pain L, Touitou Y. Propofol anesthesia significantly alters plasma blood levels of melatonin in rats. *Anesthesiology* 2010;112(2):333-7.
9. Carocci A, Catalano A, Sinicropi MS. Melatonergic drugs in development. *Clin Pharmacol* 2014;6:127-37.
10. Nisembaum LG, Besseau L, Paulin CH, Charpantier A, Martin P, Magnanou E, et al. In the heat of the night: thermo-TRPV channels in the salmonid pineal photoreceptors and modulation of melatonin secretion. *Endocrinology* 2015;156(12):4629-38.
11. Walton JC, Chen Z, Travers JB, Nelson RJ. Exogenous melatonin reproduces the effects of short day lengths on hippocampal function in male white-footed mice, Peromyscus leucopus. *Neuroscience* 2013;248:403-13.
12. Nakane Y, Yoshimura T. Universality and diversity in the signal transduction pathway that regulates seasonal reproduction in vertebrates. *Front Neurosci* 2014;8:115.
13. Phillips BA, Gelula RL. Sleep-wake cycle: its physiology and impact on health [Internet]. Washington, DC: National Sleep Foundation; 2006 [cited 2011 Jul 5]. Available from: http://www.sleepfoundation.org/sites/default/files/SleepWakeCycle.pdf
14. Zhang Y, Fang B, Emmett MJ, Damle M, Sun Z, Feng D, et al. GENE REGULATION. Discrete functions of nuclear receptor

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-05-13]

Rev-erbα couple metabolism to the clock. *Science* 2015;348(6242):1488-92.
15. Smolensky MH, Portaluppi F, Manfredini R, Hermida RC, Tiseo R, Sackett-Lundeen LL, et al. Diurnal and twenty-four hour patterning of human diseases: acute and chronic common and uncommon medical conditions. *Sleep Med Rev* 2015;21:12-22.
16. Farhud D, Tahavorgar A. Melatonin hormone, metabolism and its clinical effects: a review. *Iran J Endocrin Metab* 2013;15(2):211-23.
17. Aviram J, Shochat T, Pud D. Pain perception in healthy young men is modified by time-of-day and is modality dependent. *Pain Med* 2015;16(6):1137-44.
18. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1983;16(2):109-10.
19. Bannon AW, Malmberg AB. Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. *Curr Protoc Neurosci* 2007;Chapter 8:Unit 8.9.
20. Ghotb Aldin Z, Moazedi AA, Parham Gh A. Comparison the effect of different doses of zinc supplementation on motor activity in young male rats. *Iran J Biol* 2008;21(3):543-8.
21. Labrecque G, Vanier MC. Biological rhythms in pain and in the effects of opioid analgesics. *Pharmacol Ther* 1995;68(1):129-47.
22. Ferguson SA, Maier KL. A review of seasonal/circannual effects of laboratory rodent behavior. *Physiol Behav* 2013;119:130-6.
23. Odo M, Koh K, Takada T, Yamashita A, Narita M, Kuzumaki N, et al. Changes in circadian rhythm for mRNA expression of melatonin 1A and 1B receptors in the hypothalamus under a neuropathic pain-like state. *Synapse* 2014;68(4):153-8.
24. Zhang J, Li H, Teng H, Zhang T, Luo Y, Zhao M, et al. Regulation of peripheral clock to oscillation of substance P contributes to circadian inflammatory pain. *Anesthesiology* 2012;117(1):149-60.
25. Liu Y, He H, Huang F. Melatonin in Pain Modulation: Analgesic or Proalgesic? *Pain Stud Treat* 2014;2:50-5.
26. Andersen LP, Kücükakin B, Werner MU, Rosenberg J, Gögenur I. Absence of analgesic effect of intravenous melatonin administration during daytime after laparoscopic cholecystectomy: a randomized trial. *J Clin Anesth* 2014;26(7):545-50.
27. Julius D, Basbaum AI. Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 2001;413(6852):203-10.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-05-13]

TUMJ Tehran University Medical Journal, September 2019; Vol. 77, No. 6: 337-344 Original Article

The effect of light-dark cycle alteration on thermal and chemical pain in the male rat

Fatemeh Marvi Samavarchi M.Sc.[1]
Masoud Fereidoni Ph.D.*
Ali Moghimi Ph.D.

Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Abstract

Received: 07 Apr. 2019 Revised: 04 Apr. 2019 Accepted: 14 Sep. 2019 Available online: 22 Sep. 2019

Background: Animals have an internal biological clock with melatonin hormone that helps them to adapt to light/dark circles. Since melatonin is associated with an alteration in the expression and production of opioid receptors, this study aimed to evaluate the effect of changes in the light/dark circles on pain sensation in rats.

Methods: This research study in order to investigate the thermal and chemical pain sensation using tail flick and formalin tests, 35 Wistar rats were randomly divided into five groups of seven animals, including 24 hours of light (24L), 16 hours of light / 8 hours of darkness (16L/8D), 12 hours of light / 12 hours of darkness (control), 8 hours of light / 16 hours of darkness (8L/16D) and 24 hours of darkness (24D) were tested. The study was conducted at the Department of Biology of Ferdowsi University of Mashhad, Iran, from April to September 2015. Also besides the Rotarod test was performed to determine the general motor activity of animals.

Results: In the tail flick test, an increase in the time of darkness elevated the threshold of thermal pain and subsequently resulted in analgesic effect in the 24 hours of darkness (24D) group (P=0.03), while reducing the dark period in the group of 16 hours of brightness / 8 hours of darkness caused a reduction in the threshold of thermal pain, resulting in hyperalgesia (P=0.002). In the formalin test, the chemical pain score at the end of the chronic phase was significantly increased in the experimental group of 16 hours of brightness / 8 hours of darkness compared to control, indicating hyperalgesia (P=0.03).

Conclusion: Perhaps, alterations in light duration may change the production of melatonin and opioids and their receptors. Therefore, it is expected that reduction of the duration of darkness and thus shortening the period of increased production of melatonin and the subsequent lower expression of opioid receptors, in this group, resulting in a lower thermal pain threshold and analgesic response.

Keywords: biological rhythms, melatonin, pain, photoperiod, opioid receptors, rats.

*Corresponding author: Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Azadi Sq., Mashhad, Iran.
Tel: +98- 51- 38804037
E-mail: fereidoni@um.ac.ir

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-05-13]