

آستانه حسی درد در موش‌های صحرایی نر متولد شده از مادران طبیعی و مادران مبتلا به آلكالوز متابولیک با روش تست فرمالین

نوشین نریمان، سعید خاتم‌ساز*، اسفندیار شریفی

گروه بیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، کازرون، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۳/۱۲/۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۳/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: آلكالوز متابولیک یکی از اختلالات شایع اسید-باز مایعات بدن است که به دنبال بسیاری از بیماری‌های متابولیکی و غیرمتابولیکی در بدن ایجاد می‌شود و خود این عارضه پس از ایجاد به عنوان یک عامل تأثیرگذار قوی بر عملکرد سایر سیستم‌ها و دستگاه‌های بدن تأثیر می‌گذارد. هدف از این مطالعه بررسی تغییرات احتمالی در آستانه حسی درد در فرزندان متولد شده از مادران مبتلا به آلكالوز متابولیک در مقایسه با فرزندان متولد شده از مادران سالم بود.

روش بررسی: این مطالعه تجربی بر روی ۵۰ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی 180 ± 20 گرم در ۵ گروه ۱۰ تایی انجام شد. گروه کنترل هیچ‌گونه تیمار دارویی دریافت نکردند. گروه شاهد به مدت ۳۰ روز قبل و تا پایان بارداری موش‌ها محلول کربنات کلسیم را دریافت کردند. گروه‌های تجربی به سه گروه آلكالوز با دوزهای حداقل، متوسط و حداکثر تقسیم شدند. برای ایجاد آلكالوز از محلول بیکربنات سدیم به صورت محلول در آب به جای آب آشامیدنی استفاده گردید. و در طول زمان‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز قبل و تا پایان دوره بارداری موش‌ها به ترتیب برای گروه‌های آلكالوز با دوزهای حداقل، متوسط و حداکثر از محلول ۰/۲ مولار مورد نظر استفاده شد. بعد از تولد نوزادان تیمار قطع شد و از آب آشامیدنی شهری استفاده شد. از نوزادان تا زمان بلوغ مراقبت شد و در زمان بلوغ فرزندان نر و ماده را از هم جدا کرد و نرها برای تست فرمالین آماده شدند. نمره درد در دو مرحله حاد و مزمن برای هر گروه ثبت و مقایسه گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری آنوا و توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج مطالعه حاضر بیانگر افزایش معنی‌دار میانگین نمره درد در مراحل حاد (۵-۱۰ دقیقه) و مزمن (۶۰-۱۶۰ دقیقه) آزمون فرمالین در موش‌های صحرایی نر متولد شده از موش‌های صحرایی مبتلا به آلكالوز متابولیک در مقایسه با گروه کنترل و شاهد بود ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: آلكالوز با داشتن چنین اثراتی می‌تواند باعث کاهش آستانه حسی درد در فرزندان متولد شده از مادران مبتلا به آلكالوز متابولیک و افزایش درد در آنها گردد. بنابراین با جلوگیری از بروز آلكالوز متابولیک مادران باردار می‌توان از کاهش آستانه حسی درد در فرزندان آنها جلوگیری به عمل آورد.

واژه‌های کلیدی: آستانه حسی درد، نمره درد، آلكالوز متابولیک، موش صحرایی.

* نویسنده مسئول: سعید خاتم‌ساز، کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، گروه بیولوژی

Email: saeed1617@yahoo.com

مقدمه

در بدن انسان مقدار pH خون سرخرگی حدود ۷/۳۵ و pH خون سیاهرگی حدود ۷/۴۵ بوده که میانگین آن ۷/۴ می‌باشد. pH از ۷/۲ کمتر یا از ۷/۵۵ بیشتر شود عملکرد سلول‌ها مختل می‌شود و از نظر بالینی، با غیر طبیعی شدن pH سرم، منجر به برهم خوردن تعادل اسید - باز می‌گردد (۱). یکی از معمول‌ترین بیماری‌های اسید و باز، آلکالوز متابولیک است. آلکالوز متابولیک در نتیجه دریافت خالص بیکربنات یا از دست رفتن اسید غیر فرار از مایع خارج سلولی ایجاد می‌شود. آلکالوز متابولیک با مواردی هم‌چون؛ افزایش pH شریانی، افزایش بیکربنات سرم، افزایش فشار شریانی دی‌اکسید کربن در اثر هیپوونتیلیسیون جبرانی مشخص می‌شود (۲).

مطالعه‌های انجام شده به وسیله بیندل و همکاران نشان داد که آلکالوز متابولیک القاء شده به وسیله تجویز بیکربنات بیان پروتئین‌های انتقال دهنده یون کلسیم را افزایش داده که این امر باعث باز جذب بیشتر یون کلسیم و دفع بیشتر یون منیزیم می‌گردد (۳).

در حالت آلکالوز متابولیک خاصیت مهارتی یون‌های کلر بر کانال‌های اپیتلیالی سدیمی کم شده و در نتیجه باز جذب سدیم از ادرار افزایش می‌یابد (۴). هم‌چنین مقدار گلوتامات در قشر مخ در موقع آلکالوز متابولیک افزایش می‌یابد (۵). تحقیق‌های انجام شده بیانگر تأثیر آلکالوز متابولیک بر غلظت هورمون‌ها شامل؛ افزایش مختصر غلظت هورمون‌های کورتیزول،

آلدوسترون، پاراتورمون، هورمون ترشح شده از بخش قشری غده آدرنال، و نیز کاهش هورمون‌های رشد، تستوسترون و هم‌چنین نقص تولید مثلی می‌باشد (۶). ارتباط بسیار دقیق و حساسی بین سیستم عصبی و هورمونی وجود دارد. مثلاً ترکیب‌های شیمیایی مختلفی از سیستم عصبی آزاد می‌شود که روی فعالیت غده درون ریز تأثیر می‌گذارد. از طرف دیگر هورمون‌هایی که از غده درون ریز آزاد می‌شوند، می‌توانند فعالیت سیستم عصبی را تحت تأثیر قرار دهند (۷). در مطالعه‌ای که به وسیله فانگ انجام گرفت نشان داده شد که افزایش هورمون ACTH^(۱) باعث بیان پروتئین Fos که در سیستم عصبی مرکزی وجود دارد می‌شود، که در زمان ایجاد درد باعث تغییر در سیستم عصبی مرکزی و درک درد می‌شود (۸).

بر اساس تعریف انجمن بین‌المللی مطالعه و بررسی درد، آستانه حسی درد به کمترین حد دردی که یک فرد قادر به تشخیص آن باشد گفته می‌شود. آنچه که در حقیقت وجه تمایز میان افراد گوناگون است تفاوت درد نیست، بلکه اختلافات در سطح تحمل درد است. سطح تحمل درد به معنی بیشترین میزان دردی که یک فرد آمادگی تحمل آن را دارد و در افراد مختلف متفاوت بوده و به عوامل مختلفی هم‌چون؛ جنس، سن، شرایط زیست محیطی، وضعیت روانشناسی و میزان هورمون‌های جنسی بستگی دارد (۹).

1-AdrenoCorticotropic Hormone

از نقطه نظر علمی و بالینی، انجمن بین المللی مطالعه و بررسی درد که در سال ۱۹۶۶ تأسیس شد درد را به عنوان یک احساس ناخوشایند و یا یک تجربه عاطفی که با آسیب واقعی یا احتمالی بافت‌ها در ارتباط است، معرفی می‌کند (۱۰).

یک نوع از انواع طبقه‌بندی درد به صورت درد فیزیولوژیک یا حاد و درد پاتولوژیک یا مزمن است. درد حاد، سریع و موضعی است و ۰/۱ ثانیه پس از محرک دردناک پدیدار می‌شود و در نتیجه فیبرهای میلیون‌دار A دلتا به وجود می‌آید (۱۱). همه فیبرهای A به تحریک‌های مکانیکی با شدت بالا پاسخ می‌دهند برخی از آنها نیز به محرک‌های حرارتی پاسخ می‌دهند (۱۲).

درد مزمن پایداری طولانی‌تری نسبت به درد حاد دارد و فیبرهای غیر میلینه C را تحریک می‌کند. فعالیت سیگنال‌های درد مزمن در سیستم نورونی برای هفته‌ها، ماه‌ها و حتی سال‌ها باقی می‌ماند. اثرات فیدبکی آن مثل کشیده شدن ماهیچه‌ها، محدود شدن حرکت و کمبود انرژی می‌باشد (۱۳). مطالعه‌هایی که به وسیله نوشین‌فر و همکاران به بررسی اثر دیابت بر روی درد پرداختند، به این نتیجه دست یافتند که دیابت با تغییر مسیرهای محیطی و مرکزی درد و همچنین کنترل درد، درد را افزایش می‌دهد و این تغییرات با ضعیف شدن سیستم‌های ضد دردی گابارژیک همراهی می‌شود (۱۴). همچنین در مطالعه‌ای که به وسیله یان و همکاران انجام گرفت، گزارش داده شد که اسیدوز متابولیک از طریق کانال‌های یونی دریچه‌دار

حساس به پروتون که در اعصاب محیطی و مرکزی وجود دارد، باعث افزایش درک درد می‌شود (۱۵).

آزمون فرمالین نمونه خوبی از رفتار منظم و هماهنگ حیوان در پاسخ به محرک شیمیایی دردناک (فرمالین) می‌باشد. از آنجا که این ماده فرآیندهای التهابی و تشدید درد را به همراه دارد به دنبال مدل معتبری از درد کلینیکی شناخته شده است. این روش بر روی حیوان‌هایی از قبیل؛ موش سفید آزمایشگاهی، موش صحرایی، گربه و میمون انجام شده است. در این روش از تزریق زیر جلدی محلول رقیق شده فرمالین در کف پای جلو یا عقب حیوان استفاده می‌شود، جهت تزریق معمولاً از غلظت‌های ۰/۱ تا ۰/۵ و حجمی حدود ۲۵ تا ۱۰۰ میکرولیتر برای هر موش صحرایی استفاده می‌شود (۱۶).

هورمون‌های مختلفی در جریان آلکالوز متابولیک تغییر می‌کنند که احتمال دارد این هورمون‌ها بر دستگاه عصبی نوزادان متولد شده از مادران مبتلا به آلکالوز متابولیک تأثیر گذاشته و باعث تغییر آستانه حسی درد در آنها شود. هدف این مطالعه بررسی و مقایسه آستانه حسی درد در نوزادان نر متولد شده از مادران طبیعی و مادران مبتلا به آلکالوز متابولیک در موش‌های صحرایی از نژاد ویستار با روش تست فرمالین بود.

روش بررسی

این مطالعه تجربی از شهریور ماه ۱۳۹۲ تا آذرماه ۱۳۹۲ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون

انجام شد. حیوانات مورد استفاده در این پژوهش موش‌های صحرایی ماده بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی 20 ± 180 گرم به تعداد ۵۰ سر بودند. حیوانات از موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی شیراز تهیه و در اتاقی با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، تهویه و رطوبت مناسب نگهداری شدند. حیوانات از غذای فشرده که از شرکت دام و طیور پارس تهیه شده بود استفاده کردند. در تمامی مراحل انجام پژوهش اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی بر اساس قانون مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی از کمیته اخلاق کار پژوهش در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون اخذ و رعایت گردید. موش‌ها به طور تصادفی به پنج گروه مساوی تقسیم شدند که شامل؛ گروه کنترل، روزانه از آب آشامیدنی شهرستان کازرون و غذای استاندارد آزمایشگاهی (رژیم سالم و طبیعی) به طور آزادانه در طی آزمایش استفاده می‌کردند و تحت هیچگونه تیمار خاصی قرار نگرفتند، گروه شاهد، حیوانات این گروه از غذای استاندارد آزمایشگاهی و محلول ۰/۲ مولار کربنات کلسیم به جای آب آشامیدنی به مدت ۳۰ روز دریافت می‌کردند. گروه آلکالوز با دوز حداقل، حیوانات این گروه از غذای استاندارد آزمایشگاهی و محلول ۰/۲ مولار بیکربنات سدیم به مدت ۱۰ روز دریافت می‌کردند، گروه آلکالوز با دوز متوسط، حیوانات این گروه از غذای استاندارد آزمایشگاهی و محلول ۰/۲ مولار بیکربنات سدیم به مدت ۲۰ روز دریافت می‌کردند، گروه آلکالوز با دوز حداکثر، حیوانات این گروه از غذای استاندارد آزمایشگاهی و محلول ۰/۲ مولار بیکربنات سدیم به مدت ۳۰ روز دریافت می‌کردند. انتخاب دوز دارو بر اساس مطالعه‌های انجام شده قبلی بوده است (۶). پس از ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز تیمار با محلول‌های مورد استفاده، زمینه باروری موش‌ها فراهم شد. بدین صورت که در روز ۱۱، ۲۱ و ۳۱ پنج موش نر بالغ به هر قفس ۱۰ تایی از ماده‌ها اضافه شد و به مدت ۶ روز در یک قفس در کنار ماده‌ها قرار داشتند. در پایان روز ششم موش‌های نر جدا شدند. تیمار با محلول‌ها در تمام مراحل نکر شده تا پایان ۲۱ روز بارداری ادامه داشت. موش‌های باردار در قفسه جداگانه‌ای نگهداری می‌شدند. بعد از تولد نوزادان، تیمار مادران قطع و از آب آشامیدنی شهری استفاده می‌شد. در زمان بلوغ فرزندان نر و ماده از هم جدا شده و نرها برای تست فرمالین آماده گردید. برای انجام آزمایش‌های از جعبه تست فرمالین استفاده شد. این جعبه یک مکعب شفاف از جنس پلاکسی گلاس به ابعاد $30 \times 30 \times 30$ سانتی‌متر تشکیل شده است که در زیر آن جعبه‌ای دیگر با همین ابعاد قرار گرفته و درون جعبه زیری آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه قرار دارد تا وضعیت کف پای حیوان کاملاً مشخص باشد. این مطالعه بر اساس روش دنیس و دو بیسون انجام شد (۱۷).

حیوانات ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش و آزمون فرمالین از خانه حیوانات به محیط آزمایشگاه آورده شدند تا با محیط جدید کاملاً سازگار شوند. به

انجام شد. حیوانات مورد استفاده در این پژوهش موش‌های صحرایی ماده بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی 20 ± 180 گرم به تعداد ۵۰ سر بودند. حیوانات از موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی شیراز تهیه و در اتاقی با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، تهویه و رطوبت مناسب نگهداری شدند. حیوانات از غذای فشرده که از شرکت دام و طیور پارس تهیه شده بود استفاده کردند. در تمامی مراحل انجام پژوهش اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی بر اساس قانون مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی از کمیته اخلاق کار پژوهش در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون اخذ و رعایت گردید. موش‌ها به طور تصادفی به پنج گروه مساوی تقسیم شدند که شامل؛ گروه کنترل، روزانه از آب آشامیدنی شهرستان کازرون و غذای استاندارد آزمایشگاهی (رژیم سالم و طبیعی) به طور آزادانه در طی آزمایش استفاده می‌کردند و تحت هیچگونه تیمار خاصی قرار نگرفتند، گروه شاهد، حیوانات این گروه از غذای استاندارد آزمایشگاهی و محلول ۰/۲ مولار کربنات کلسیم به جای آب آشامیدنی به مدت ۳۰ روز دریافت می‌کردند. گروه آلکالوز با دوز حداقل، حیوانات این گروه از غذای استاندارد آزمایشگاهی و محلول ۰/۲ مولار بیکربنات سدیم به مدت ۱۰ روز دریافت می‌کردند، گروه آلکالوز با دوز متوسط، حیوانات این گروه از غذای استاندارد آزمایشگاهی و محلول ۰/۲ مولار بیکربنات سدیم به مدت ۲۰ روز دریافت می‌کردند، گروه آلکالوز با دوز حداکثر، حیوانات این گروه از غذای استاندارد آزمایشگاهی و محلول ۰/۲ مولار بیکربنات سدیم به مدت ۳۰ روز دریافت می‌کردند.

به صورت بیست قسمت ۱۵ ثانیه‌ای یک نمره درد ثبت و میانگین نمره درد طبق فرمول
$$\text{نمره درد} = \frac{0T_0 + 1T_1 + 2T_2 + 3T_3}{20}$$
 محاسبه گردید. پنج دقیقه اول به عنوان مرحله حاد و ۱۶-۶۰ دقیقه بعدی به عنوان مرحله مزمن در نظر گرفته شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنوا و توکی تجزیه و تحلیل شدند. کلیه نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شد و سطح معنی‌داری با $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

ارزیابی میانگین نمره درد نشان داد که نمره درد در مراحل حاد (۵-۰ دقیقه) و مزمن (۱۶-۶۰ دقیقه) آزمون فرمالین در گروه‌های فرزندان متولد شده از موش‌های صحرایی با آلکالوز متابولیک که محلول بیکربنات سدیم دریافت کرده بودند، افزایش معنی‌داری نسبت به میانگین نمره درد در فرزندان متولد شده از گروه‌های کنترل و شاهد نشان داد ($p < 0.05$) (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه نمره درد در گروه‌های مختلف فرزندان متولد شده از مادران سالم و مادران مبتلا به آلکالوز متابولیک

گروه‌های مختلف	مرحله حاد (خطای معیار \pm میانگین نمره)	مرحله مزمن (خطای معیار \pm میانگین نمره)
کنترل	۲/۱۵۶ \pm ۰/۲۰۳	۱/۷۳۸ \pm ۰/۰۹۰
شاهد	۲/۱۸۱ \pm ۰/۱۹۶	۱/۷۱۵ \pm ۰/۰۹۱
آلکالوز متابولیک حداقل	۲/۹۶۲ \pm ۰/۲۲۸*	۲/۳۸۸ \pm ۰/۱۱۴*
آلکالوز متابولیک متوسط	۲/۸۷۵ \pm ۰/۲۴۰*	۲/۴۴۷ \pm ۰/۱۰۲*
آلکالوز متابولیک حداکثر	۲/۸۹۰ \pm ۰/۱۷۳*	۲/۴۲۷ \pm ۰/۱۲۶*

* اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و شاهد ($p < 0.05$)

منظور رفع استرس و سازش با محیط جدید برای انجام آزمون فرمالین، ۳۰ دقیقه قبل از انجام تست فرمالین موش‌ها در محفظه آزمون فرمالین قرار گرفتند. زمان انجام تست فرمالین ساعت ۸ صبح تا ۱۲ ظهر بود. در این آزمون ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد با سرنگ‌های میلتون به کف پای راست حیوان تزریق شد. بعد از تزریق حیوانات را فوراً به محفظه برگردانده و با استفاده از کرنومتر زمان عکس‌العمل ثبت گردید. به وسیله آینه‌ای که با زاویه ۴۵ درجه نسبت به سطح افق در قسمت پایین محفظه تعبیه شده بود رفتار درد مورد ارزیابی قرار می‌گرفت. نمره (۰) برای هنگامی که حیوان در راه رفتن تعادل کامل داشته و وزن بدنش به تساوی روی هر دو پا تقسیم شده است.

نمره (۱) برای موقعی که حیوان وزن بدنش را روی پای تزریق شده تحمل نمی‌کرد و موقع راه رفتن مشکل دارد. نمره (۲) حیوان پنجه دردناک را بلند می‌کند و هیچ‌گونه تماسی با کف محفظه ندارد. نمره (۳) برای موقعی که حیوان پنجه دردناک را می‌لیسد یا گاز می‌گرفت و یا به شدت تکان می‌داد.

نمره درد طی ۶۰ دقیقه به صورت ۱۲ بلوک ۵ دقیقه‌ای محاسبه می‌شد. هر پنج دقیقه

بحث

مطالعه نشان داده که در آلكالوز متابولیک

القاء شده به وسیله تجویز بیکربنات سدیم باز جذب کلسیم از ادرار افزایش می‌یابد(۳). مرحله اول درد حاصل از تزریق فرمالین ناشی از تحریک مستقیم گیرنده‌های درد در فعالیت فیبرهای عصبی نوع C می‌باشد. فرمالین نورون‌های آوران اولیه درد را از طریق فعال کردن مستقیم کانال‌های یونی TRPA-1^(۱) تحریک می‌کند. کانال TRPA-1 به طور گسترده در فیبرهای آوران C وجود دارند و فرمالین با تحریک این کانال‌ها در فیبرهای آوران باعث جریان قوی کلسیم به داخل این فیبرها و در نتیجه ایجاد درد می‌گردد(۲۰).

در مطالعه حاضر، این احتمال وجود دارد که آلكالوز با افزایش غلظت یون‌های کلسیم پلاسمایی و اثر بر کانال‌های TRPA-1 واقع بر فیبرهای آوران C باعث کاهش آستانه حسی درد در نوزادان متولد شده از مادران مبتلا به آلكالوز شود.

آلكالوز متابولیک باعث افزایش دفع پتاسیم از کلیه‌ها و ایجاد حالت هیپوکالمی می‌شود(۲۱). هیپوکالمی باعث افزایش تحریک‌پذیری نورون‌ها می‌شود(۲۲) و این احتمال وجود دارد که آلكالوز با کاهش غلظت پتاسیم پلاسمایی می‌تواند باعث تحریک‌پذیری گیرنده‌های درد و در نتیجه پایین آمدن آستانه حسی درد و افزایش احساس درد در نوزادان متولد شده از مادران مبتلا به آلكالوز شده باشد.

نتایج به دست آمده در بررسی درد در مرحله حاد در نوزادان متولد شده در گروه‌های مختلف با استفاده از تست فرمالین نشان می‌دهد که نمره درد در نوزادان متولد شده از مادران مبتلا به آلكالوز متابولیک به طور معنی‌داری در سطح $p < 0.05$ نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد افزایش یافته است. در دروان بارداری جنین از طریق جفت با مادر در ارتباط است و از او تغذیه می‌کند. هر گونه تغییر در وضعیت فیزیولوژیکی مادر از طریق جفت به جنین منتقل می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی تغییرات احتمالی در آستانه حسی درد در فرزندان متولد شده از مادران مبتلا به آلكالوز متابولیک در مقایسه با فرزندان متولد شده از مادران سالم بود.

در مطالعه‌ای که بر روی موش‌های صحرایی باردار مبتلا به آلكالوز متابولیک صورت گرفته، نشان داده شده است که اختلالات ناشی از حالت آلكالوز مادر از طریق جفت به جنین رسیده و pH خون جنین را افزایش می‌دهد(۱۸). هم‌چنین در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شده که تغییرات بسیار ناچیز در pH خون جنین که از طریق جفت از مادر به جنین رسیده ممکن است به طور چشمگیری بر سیستم‌های گوناگون مربوط به اندام جنین مانند؛ سیستم قلبی-عروقی و سیستم عصبی مرکزی تأثیر بگذارد(۱۹). بنابراین احتمالاً می‌توان گفت که یکی از عملکردهای سیستم عصبی مرکزی که تحت تأثیر تغییرات pH قرار می‌گیرد ممکن است بر روی آستانه حسی درد باشد.

1- Transient Receptor Potential Ankyrin 1

نتایج به دست آمده در بررسی درد در مرحله مزمن در نوزادان متولد شده در گروه‌های مختلف با استفاده از تست فرمالین نشان داد که نمره درد در نوزادان متولد شده از مادران مبتلا به آلكالوز به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل و شاهد افزایش یافته است.

تحقیقات نشان داده است که حالت آلكالوز باعث کاهش معنی‌داری در دفع کلسیم ادراری و در نتیجه افزایش باز جذب کلسیم از ادرار می‌شود (۳). کانال‌های یونی TRPV-1^(۱) بر روی مهم‌ترین دریافت‌کننده‌های دردهای محیطی واقع می‌باشد. فعالیت این گیرنده‌های درد را ورود کلسیم از کانال‌های TRPV-1 تعیین می‌کند و چون این کانال‌ها در غشاء واقع شده‌اند، بنابراین فعال‌سازی آنها به افزایش کلسیم بین سلولی بستگی دارد (۲۴ و ۲۳). در نتیجه این احتمال وجود دارد که در آلكالوز متابولیک، کلسیم پلاسمایی افزایش یافته و این افزایش کلسیم پلاسمایی می‌تواند باعث فعال شدن کانال‌های TRPV-1 واقع در غشاء گیرنده‌های درد محیطی، افزایش ورود کلسیم به این گیرنده‌ها و در نتیجه افزایش نمره درد در موش‌های صحرایی متولد شده از مادران مبتلا به آلكالوز متابولیک شود.

مطالعه‌ها نشان داده شد غلظت پروستاگلاندین خون در آلكالوز متابولیک افزایش می‌یابد (۲۵).

تولید پروستاگلاندین با فعال شدن آنزیم سیکلو‌اکسیژناز ۱ و ۲ همراه است. سیکلو‌اکسیژنازها

باعث افزایش فعالیت نورون‌ها می‌گردد. بررسی‌ها نشان داده است که پروستاگلاندین‌ها کانال‌های سدیمی و کلسیمی را فعال می‌کنند و کانال‌های پتاسیمی را سرکوب می‌کنند و همین اختلال باعث افزایش درد می‌شوند (۲۶).

در مطالعه‌ای بیان شده است که در حالت آلكالوز متابولیک غلظت هورمون کورتیزول افزایش می‌یابد (۲۷). در مطالعه‌ای دیگر اثر استرس بر درد مورد بررسی قرار گرفته و نتایج بیانگر افزایش غلظت گلوکوکور تیکوئیدها مانند کورتیزول است و این امر باعث افزایش احساس درد هم‌زمان با افزایش سیگنال‌های گلوتامینرژیک در سیستم عصبی مرکزی می‌گردد. افزایش سطح کورتیزول در درد مزمن مشاهده شده است و همچنین کورتیزول باعث حساس‌سازی سیستم عصبی و حساس شدن گیرنده‌های NMDA در نورون‌های مرکزی و در نتیجه کاهش آستانه حسی درد می‌شود (۲۸). در نتیجه این احتمال وجود دارد که افزایش سطح کورتیزول در گردش خون جنین باعث حساس شدن نورون‌ها شده باشد که با نتایج در این پژوهش مطابقت دارد.

همچنین تحقیق‌ها نشان داد که مقدار گلوتامات در قشر مخ در موقع آلكالوز متابولیک افزایش می‌یابد (۵). گلوتامات در وزیکول‌ها ذخیره و به دنبال ایمپالس‌های عصبی از سلول‌های پیش سیناپسی آزاد و بر روی گیرنده‌های NMDA^(۲) در سلول‌های پس

1-Transient receptor potential vanilloid 1
2-N-Methyle D-Aspartate

این مقاله حاصل پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی سلولی-تکوینی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون می‌باشد که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد.

سیناپسی اثر می‌گذارد. سپس این رسپتورها فعال شده و باعث ورود کلسیم به داخل سلول و افزایش تحریک پذیری سلول و در نهایت منجر به افزایش درد می‌شود (۲۹).

نتایج این مطالعه با نتایج پژوهش حاضر از نظر کاهش آستانه حسی درد در نوزادان متولد شده از مادران مبتلا به آلکالوز متابولیک مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت آلکالوز متابولیک یکی از مهم‌ترین بیماری‌هایی است که بر دستگاه عصبی تأثیر می‌گذارد و تحریک‌پذیری نورون‌ها را فوق‌العاده افزایش می‌دهد. بنابراین آلکالوز متابولیک با داشتن چنین اثراتی و با توجه به نتایج به دست آمده می‌تواند باعث کاهش آستانه حسی درد در فرزندان متولد شده از مادران مبتلا به آلکالوز متابولیک و افزایش درد در آنها گردد.

بنابراین با جلوگیری از بروز آلکالوز متابولیک مادران باردار می‌توان از کاهش آستانه حسی درد در فرزندان آنها جلوگیری به عمل آورد. همچنین می‌توان استفاده از آلکالوز متابولیک برای بررسی اثرات آن بر تعیین جنسیت و خصوصیات ماکروسکوپیک جنین‌های تازه متولد شده را به عنوان یک پیشنهاد برای آینده در نظر گرفت.

تقدیر و تشکر

REFERENCES

1. Kellum A. Clinical review: reunification of acid-base Physiology. *Critcare* 2005; 9: 500-7.
2. John HG. Metabolic Alkalosis. *American Society of Nephrology* 2000; 11(2): 369-75.
3. Nijenhuis T, Renkema k, Bindels R, Hoenderop J. Acid-Base status determines the renal expression of Ca^{2+} and Na^{+} transport protein. *J Am Soc Nephrol* 2006;17: 617-26.
4. Collier D, Synder P. Extracellular chloride regulation the epithelial sodium channel. *Journal of Biological Chemistry* 2009; 284: 43-48.
5. Ang RC, Hoop B. Brain glutamate metabolism during metabolic Alkalosis and acidosis. *J APPL Physiol* 1994; 37(6): 2552-8.
6. Khatamsaz S, Oryan S, Parivar K. The effects of metabolic alkalosis on pituitary-adrenal hormonal axis and its interference in pituitary-gonadal axis in the Adrenalectomy and normal adult male rats. *Basic Science Islamic Azad university* 2005;13(50): 4188-96.
7. Shahbazi P, Malecna N. General biochemistry for students of medical sciences. 19thed. Tehran: Tehran university Press; 2001; 351-2.
8. Fang Y. Adrenocorticotrophic hormone (ACTH): Antagonist effect on opioid analgesia in central nervous system of the rat and its possible mechanism of action. *Biol Med* 1998; 26(2): 137-40.
9. Chiu H, Silmana A, Macfarlan G, Ray D, Gupta A, Dickens C. Poor sleep and depression are independently associated with a reduced pain threshold. *Results of a Population Based Study Pain* 2005; 316-21.
10. Kut E, Schaffner N, Wittwer N, Candia V, Brockman M, Strock C, Folkers G. Changes in self-perceived role identity modulate pain perception. *Pain* 2007; 131: 191-201.
11. Daniela M, Nicoleta C, Virgil V, Elisabeta VF, Rancisc S. Physiology of pain-general mechanism and individual differences. *Journal of Medical Research* 2010;.....: 19-23.
12. Oscar A. Pain pathway and mechanism of neuropathic pain. *University at Buffalo* 2007; 30(1): 133-8.
13. Levine D, Sherrington S. The Integrative action of the nervous system. *Annual Review of Physiology* 2007;.....: 1-6.
14. Nooshinfar A, Hamidpoor M, Akbarzadeh A, Mansoori V, Heidari M. The effect of diabetes of induced pain of formalin and baclofen analgesia in rats. *Journal of Paramedical Sciences* 2010; (2): 179-92.
15. Yuan L, Qihai G. Acid sensing ion channels and pain. *Pharmaceuticals* 2010; 30: 1411-25.
16. Visser SK, Greenen F, Biermans R, Meert TF. Pharmacological correlation between the formalin test and the neuropathic pain behavior in different species with chronic constriction injury. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2006; 84: 479-86.
17. Dubuisson D, Denniss G. The Formalin test: a quantitative study of the analgesic effect of morphine, meperidine, and brainstem stimulation in rats and cats. *Pain* 1977; 4(2): 161-74.
18. Schimert P, Buettiker V, Rutishauser C, Scham SM, Frey B. Transplacental metabolic alkalosis. *Paediatric Child Health* 2007; 43(12): 851-30.
19. Aghoja L. Maternal and fetal Acid-base chemistry: a major determinant of perinatal outcome. *Ann Med Health Sci Res* 2014; 4(1): 8-17.
20. McNamarac R, Mandel Brehm J, Bautista D, Siemens J. TRPA-1 mediates formalin-induced pain. *PAIN* 2007;104(33): 13525-30.
21. Galla J. Metabolic Alkalosis. *Journal of the American Society of Nephrology* 2009; 11: 369-75.
22. Kuwabara S, Kanai K, Sung K, Oqawara K, Hattori T, Burke D. Axonal hyperpolarization associated with hypokalemia: multiplexability measurements as indicator. *Muscle Nerve* 2002; 26(2): 283-7.
23. Karail J, Russell JT, Ladarolam J, Olah Z. Vanilloid receptor regulates multiple calcium compartments and contributes to Ca^{2+} induced Ca^{2+} release in sensory neurons. *J Peripher Nerv Syst* 2004; 279(16): 16377-87.
24. Hagenacker T, Ledwig D, Busse G. Feed back mechanism in the regulation of intercellular calcium in the peripheral nociceptive system role of TRPV-1 and related receptor. *Cell Calcium* 2008; 43: 215-227.

25. Nusing RM, Treude A, Jensen B. Dominant role of prostaglandin E₂ EP₄ receptor in furosemide induced salt-losing tubulopathy: a model for hyper prostaglandin E syndrome/anatal barter syndrome. *J Am Soc Nephron* 2005;16(8): 2354-62.
26. Premkumar LS, Raisinghani M. Nociceptors in cardiovascular Functions: Complex interplay as a result of cyclooxygenase inhibition. *Mol Pain* 2006; 2: 26.
27. Kinoshita H, Okabayashi M, KaneKo M, Yasuda M, Kamata T. Shakuyaku-kanzo-to induces pseudoaldosteronism characterized by hypokalemia, rhabdomyolysis, metabolic alkalosis with respiratory compensation, and increased urinary cortisol level. *J Altern Complement Med* 2009;15(4): 439-43.
28. Kuhil K. Effects of stress mechanisms on pain processing (Dissertation) . University of Trier; 2010.
29. Devers A, Galer BS. Delayed increase of Ca²⁺ in FLUX elicited by glutamate: role in neuronal death. *Mol Pharmacol* 2000; 36: 106-12.

Sensory Threshold of Pain in Male Rats Born to Normal Mothers and Mothers with Metabolic Alkalosis by Formalin Test

Nariman N, Khatamsaz S^{*}, Sharifi E

Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

Received: 25 Feb 2015 Accepted: 9 June 2015

Abstract

Background & aim: Metabolic alkalosis is one of the most common disorders of the acid-base body fluids which follows many of the metabolic and non-metabolic diseases in the body, and as a strong affective factor after establishment, it can influence the performance of other organs. The aim of this study was to examine the possible changes in the sensory threshold of pain in offsprings born to mothers with metabolic alkalosis in comparison with those born to healthy mothers.

Methods: In the present experimental study, fifty mature female Westar rats, weighing 180 ± 20 gr, were randomly divided into five groups: the control left untreated, the sham received calcium carbonate solution for thirty days before and through pregnancy. The experimental group was divided into three alkalosis groups of minimum, medium and maximum doses. Sodium bicarbonate was dissolved in drinking water to produce alkalosis in the experimental groups. The groups with minimum, medium and maximum alkalosis received 0.2M Sodium bicarbonate for 10, 20 and 30 days respectively before and during pregnancy. Following the birth of offspring, the treatment was stopped, and water used to the end of the experiment. Offsprings were kept to adulthood, and then males and females were separated. The study of sensory threshold of pain was conducted on male offsprings by formalin test procedure. Pain scores were recorded in acute and chronic stages, and were compared among different groups. The gathered data was statistically analyzed by SPSS software, and Tukey and Anova test.

Results: The results indicated a significant increase in the pain scores during acute (0-5min) and chronic stages (16-60min) of formalin test in male rat offspring born to mothers with metabolic alkalosis compared to control and sham groups ($P \leq 0.05$)

Conclusion: Alkalosis with such effects can reduce sensory threshold of pain in children born to mothers with metabolic alkalosis and increase the pain. Consequently, by preventing metabolic alkalosis in pregnant women, we can reduce sensory threshold pain in children.

Key words: sensory thresholds of pain, pain score, metabolic alkalosis, rat

***Corresponding author:** Khatamsaz S, Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

Email: saeed1617@yahoo.com

Please cite this article as follows:

NarimanN, Khatamsaz S, Sharifi E. Sensory Threshold of Pain in Male Rats Born to Normal Mothers and Mothers with Metabolic Alkalosis by Formalin Test. *Armaghane-danesh* 2015; 20 (4): 346-356.