

◇ ارزیابی آلودگی سرمایی توسط آزمون ترجیح مکان ناشی از حرارت متعاقب یک دوره کوتاه مدت تمرين ورزشی بر روی ترمیم در موش های صحرایی نوروپاتیک

عماد خلیل زاده^{*}، غلامرضا فایی سیاح^۱، هاتف خسروی^۱، مهدی دولتیاری^۱، فرزین آذرپی^۱، رضا حضرتی^۲

(۱) گروه علوم پایه، دانشکده دام پزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

(۲) مرکز تحقیقات مغز، دانشگاه لاؤال، کبک، کانادا

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۸/۵

چکیده

مقدمه: در این مطالعه، این فرضیه که ورزش ملایم کوتاه مدت می تواند تنفس از سرمای القاء شده توسط نوروپاتی اعصاب محیطی را با تحریک سیستم اپیوئیدی درون زاد کاهش دهد، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: قطع شاخه تیبیال عصب سیاتیک در حیوانات بیهوش انجام شد. ۲۸ روز بعد از جراحی، حیوانات به سه گروه ساکن و ۴ گروه ورزشی تقسیم شده و به مدت ۱۴ روز و هر روز به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت(۱/۲ Km/h) ورزش داده شدند. تحرک و رفتار ترجیح دمایی حیوانات با تکنیک دابل پلت(صفحه با دمای متعادل: ۲۴ و صفحه خنک: ۱۴) مجهز به سیستم ویدئو تراکینگ، ارزیابی شد. از تجویز نالتروکسان(۰.۲ mg/kg, i.p)، نالوکسان(۰.۱ mg/kg, i.p) و مورفین(۰.۰۵ mg/kg, i.p) جهت ارزیابی عملکرد سیستم اپیوئیدی استفاده شد.

یافته های پژوهش: قطع شاخه تیبیال عصب سیاتیک باعث کاهش معنادار فعالیت($P < 0.001$)، زمان اقامت حیوان بر روی صفحه سرد ($P < 0.002$) شده و اندکس فرار را افزایش داد($P < 0.0001$). تمرين ورزشی از آلودگی سرمایی جلوگیری کرده($P < 0.002$)، فعالیت حرکتی حیوانات را افزایش داده($P < 0.01$) و اندکس فرار را کاهش داد($P < 0.0001$). تزریق مورفین در هر دو گروه ساکن و ورزشکار باعث کاهش ($P < 0.0001$) اندکس فرار شد. تزریق نالتروکسان قبل از شروع ورزش و نالوکسان بالا فاصله بعد از شروع ورزش باعث مهار اثرات ورزش در حیوانات ورزشکار شد.

بحث و نتیجه گیری: ورزش هوازی با شدت متوسط کوتاه مدت، باعث کاهش تنفس از سرما و بهبود رفتار حرکتی حیوان مبتلا به درد نوروپاتیک از طریق فعالسازی سیستم اپیوئیدی می گردد.

واژه های کلیدی: ترجیح مکان ناشی از دما، ورزش ملایم هوازی، نوروپاتی، سیستم اپیوئیدی، موش صحرایی

* نویسنده مسئول: گروه علوم پایه، دانشکده دام پزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

Email: e.khalilzadeh@gmail.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

درد معمولاً به وسیله توالی از فعالسازی آوران های اولیه درد به وسیله تحریک واقعی یا بالقوه آسیب رسان باقی ایجاد می شود. این نوع از درد تحت عنوان درد فیزیولوژیک شناخته می شود. هم چنین درد می تواند در درون سیستم عصبی حسی ایجاد گردد، بدون این که محرك دردزایی موجب تحریک انتهایهای عصبی گردد که این نوع از درد نیز تحت عنوان درد نوروپاتیک معروفی شده است. بر اساس تعریف سازمان جهانی مطالعه درد (IASP) درد نوروپاتیک به دردی اطلاق می شود که در نتیجه آسیب اولیه و یا نقص در عملکرد سیستم عصبی محیطی و مرکزی ایجاد می شود(۱). عوامل مختلفی نظیر آسیب های فیزیکی عصبی ناشی از جراحات جنگی و جراحی، دیابت، شیمی درمانی، تومورها، بیماری های ویروسی نظیر ایدز و عفونت های هرپس ویروسی با ایجاد اختلال در عملکرد اعصاب مرکزی و محیطی می توانند باعث بروز نوروپاتی و نیز دردهای نوروپاتیک گرددند(۲). درد نوروپاتیک به عنوان یک درد مزمن می تواند موجب اختلال در روند زندگی روزمره بیماران مبتلا گشته و کیفیت زندگی آن ها را پایین آورد(۳). بیماران مبتلا به نوروپاتی محیطی از دردهای سوزشی و نیز حس درد متعاقب لمس ملایم اشیاء شکایت می نمایند(۴). درمان های مورد استفاده در درمان درد نوروپاتیک شامل داروهای ضد صرع، ضد افسردگی، ضد التهاب و داروهای ضد درد اپیوئیدی می باشد که پاسخ های درمانی متفاوتی را ایجاد می کنند و حتی در برخی از موارد درد نوروپاتیک نسبت به درمان های رایج مقاومت نشان می دهد. به علاوه این داروها حتی با وجود موثر بودن در برخی بیماران عوارض جانبی متعددی را در درمان طولانی مدت ایجاد می نمایند(۵).

شواهد در حال افزایش حاکی از اثرات مفید ورزش در کاهش عالیم درد حاد می باشد(۶). هم چنین گزارشاتی در ارتباط با اثر مفید ورزش در ارتباط با درد مزمن، اثرات ضد التهابی ورزش و نیز اثرات آن بر تخفیف عالیم درد نوروپاتیک وجود دارد(۸,۷). در مطالعات مختلفی که بر روی جوندگان و انسان انجام

گرفته است مشخص شده که تمرينات ورزشی موجب کاهش دامنه درک درد می شود(۹).

دروری و همکاران در سال ۲۰۰۴ طی بررسی که انجام داده اند، اثر کاهش دهنده درد را توسط ورزش های ایزو متربیک و نیز ورزش روی ترمیم را در ورزشکاران به اثبات رسانیده اند(۱۰). هم چنین طی مطالعه ای که توسط قورویچ و همکاران در سال ۱۹۹۴ بر روی ورزشکاران به انجام رسید، اعلام شد که ورزش های هوایی می توانند میزان درک و احساس درد را کاهش داده و تحمل به درد را متعاقباً افزایش دهند(۱۱). اطلاعاتی که از مطالعات مختلف که با استفاده از پروتکل شناختی اجباری در جوندگان به دست آمده است، نشانگر عدم پاسخ یا کاهش پاسخ به محرك های دردزای مختلف نظیر حرارت یا استرس سرمایی در ناحیه دم یا کف پا و یا تحریک الکتریکی کف پا در موش صحرایی(۱۲،۱۳) و نیز در موش سوری(۱۴) می باشد. بررسی دیگری که توسط بارسلوومو و همکاران بر روی انسان در سال ۱۹۹۶ به انجام رسید، افزایش معنی داری در میزان مقاومت به محرك دردزا بعد از یک دوره بیست دقیقه ای ورزش به عنوان پاسخ بی دردی بعد از ورزش نشان داده شده است(۱۵).

ورزش به عنوان یک استرس فیزیولوژیک مکانیسم های مختلفی را برای ایجاد بی دردی ناشی از ورزش به کار می گیرد(۶). گزارشات متعددی در ارتباط با نقش سیستم اپیوئیدی درون زاد در بی دردی ناشی از ورزش وجود دارد(۱۶). به عنوان مثال افزایش سطح اندروفین و انکفالین پلاسمای در جین ورزش و نیز بعد از آن در انسان(۱۷،۱۸) و موش صحرایی(۱۹) اثبات شده است.

بر اساس مطالب مذکور بر آن شدیم تا اثرات تمرين ورزشی هوایی با شدت ملایم را بر روی رفتار اجتناب و تنفر از سرما که در حیوانات مبتلا به نوروپاتی محیطی ایجاد می گردد را با استفاده از جدیدترین تکنیک رفتاری معرفی شده توسط والزاک و بیاولی یو در سال ۲۰۰۶ برای ارزیابی آزادانه حیوانات مبتلا به نوروپاتی تجربی، مورد بررسی قرار دهیم. در این ارتباط

جراحی سیلک ۳ صفر عصب تیبیال در دو ناحیه لیگیت شده و دقیقاً بلافارسله قبل از ناحیه سه شاخه شدن عصب سیاتیک یک قطعه ۳ میلی متری از عصب توسط قیچی و انناس بریده و برداشته شد. دو شاخه دیگر عصب سیاتیک دست نخورده رها شدند. سپس در ناحیه زخم عضلات و پوست با کمک نخ بخیه کات گوت کرومیک ۳ صفر بخیه گردید(۲۱).

بیست و هشت روز بعد از القاء درد نوروپاتیک محیطی، با استفاده از تکنیک تغییر یافته معرفی شده توسط والزاک و بیاولی یو(۲۰۰۶) ترجیح مکانی ناشی از دما با استفاده از سیستم دو صفحه حرارتی در حیوانات مبتلا به نوروپاتی و نیز سالم مورد ارزیابی قرار گرفت.

سیستم DPT از دو صفحه خنک(۱۴ درجه سانتی گراد) و متعادل(۲۴ درجه سانتی گراد) که توسط عایق سیلیکون از هم جدا شده اند، تشکیل شده است. برای ایجاد مساحت یکسان از هر دو صفحه خنک و متعادل قفسی از جنس پلکسی گلس در ابعاد $40 \times 30 \times 30$ سانتیمتر به صورت مشترک روی آن ها قرار گرفت.

فعالیت حیوان بر روی صفحات توسط دوربین دیجیتال متصل به کامپیوتر ثبت گردید. کلیه مراحل این آزمون بدون دخالت آزمونگر و توسط سیستم پیشرفتہ و بسیار دقیق و بدئو تراکینگ و با نرم افزار اسмарلت(محصول کمپانی تجهیزات هاروارد اسپانیا) توسط کامپیوتر به مدت ۱۰ دقیقه به انجام رسید(۲۲). کلیه مراحل انجام آزمایش در اتاقی با دمای تحت کنترل 22 ± 1 درجه سانتی گراد و در نور قابل کنترل 80 لوکس به انجام رسید. پارامترهای مختلفی در طی این آزمون نظیر سرعت حرکت حیوانات بر روی صفحات، درصد اقامت در صفحات خنک و متعادل، مسافت طی شده توسط هر حیوان در طول مدت آزمون، 30 دقیقه بعد از تجویز مورفین و یا نالوکسان و یک ساعت بعد از تجویز نالتروکسان و توسط رایانه ثبت گردید. بر اساس امکانات نرم افزار فضای انجام آزمایش بر روی دو صفحه به صورت مجازی به نواحی زیر تقسیم شدند:

- (۱) ناحیه روی صفحه خنک، (۲) ناحیه روی صفحه با دمای متعادل، هر یک از این دو ناحیه نیز خود به دو ناحیه مرکزی و محیطی تقسیم بندی شدند(شکل شماره ۱).

جهت تعیین عملکرد سیستم اپیوئیدی از مهار کوتاه مدت و نیز طولانی مدت گیرنده های اپیوئیدی توسط داروهای نالوکسان و نالتروکسان به ترتیب استفاده شد.

مواد و روش ها

حیوانات: در این مطالعه تعداد ۴۹ سر موش صحرایی نر نژاد ویستان سالم، به صورت تصادفی انتخاب شدند. حیوانات مذکور پس از خریداری از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دام آزمایشگاهی بخش فیزیولوژی دانشکده دام پزشکی دانشگاه تبریز با درجه حرارت 22 ± 2 درجه سانتی گراد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعت(شروع روشنایی ساعت ۷ و شروع تاریکی ساعت ۱۹) به تعداد چهار موش در هر قفس پرورشی استاندارد با آب و غذا استاندارد به طور آزادانه، نگهداری شدند. کلیه آزمایشات رفتاری در فاصله زمانی بین ساعت ۱۱ تا ۱۵ به انجام رسید. در این مطالعه کلیه موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق موازین اخلاقی و طبق معاهده هلسینکی رعایت شد(۲۰).

سالین نرمال استریل(سرم فیزیولوژی)، پودر مورفين سولفات(ساخت شرکت تماد، کرج-ایران)، پودر نالوکسان هیدروکلراید و نالتروکسان هیدروکلراید (ساخت شرکت سیگما-آلدریچ، آمریکا)، ویال کتامین هیدروکلراید(ساخت شرکت روتیکس مدیکال-آلمان) و ویال زیالازین(ساخت شرکت آلفاسان-هلند) در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. پودر خالص مورفین سولفات، نالوکسان هیدروکلراید و نالترکسان هیدروکلراید به منظور تهیه غلظت های مورد نیاز در سالین نرمال حل شدند.

درد نوروپاتیک با استفاده از تکنیک TNT یا قطع شاخه تیبیال عصب سیاتیک ایجاد شد. در این مرحله حیوانات با استفاده از مخلوط داروی کتامین(۸۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم) و زیالازین(۱۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم) بیهوش شده و پس از تراشیدن موها در ناحیه ران و نیز ضد عفونی ناحیه جراحی توسط بتادین اسکراپ برشی به طول ۲ سانتی متر در پوست ایجاد شده و عصب سیاتیک و شاخه های آن(تیبیال، سورال و پرونئال) شناسایی شده و در نهایت با نخ

تمرین ورزشی روزانه دریافت کننده نالتروکسان(2mg/kg).

همه داروها در این مطالعه به صورت داخل صفاقی(IP) و در حجم ۲۰۰ میکرولیتر تجویز شدند. مورفین در مقدار ۲/۵ میلی گرم به ازای وزن بدن بالافاصله بعد از تمرین ورزشی تجویز شد. هم چنین حیوانات فاقد رژیم ورزشی در روز آزمون به مدت نیم ساعت در درون دستگاه تردیمیل خاموش قرار گرفتند و سپس مورفین(2/5 mg/kg) به آن ها تجویز شد.

نالوکسان بالافاصله بعد از اتمام تمرین ورزشی با مقدار ۱ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن و نالتروکسان نیز قبل از شروع تمرین ورزشی در مقدار ۲ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن تجویز شد.

یک هفته قبل از شروع تمرین ورزشی برای به حداقل رساندن تعداد حیوانات غیر دونده که از دویلن در همان ابتدای امر اجتناب می کنند، حیوانات خریداری شده طی یک دوره آشناسازی و تمرین کوتاه مدت به تدریج با دستگاه تردیمیل(ساخت شرکت تجهیز گستر امید ایرانیان، تهران-ایران) و ورزش روی تردیمیل آشنا شدند. حیواناتی که تمایلی به دویلن نداشتند مشخص شده و وارد چرخه آزمایش نشدند.

در دوره آشناسازی از دوره های تمرینی کوتاه تکرار شونده استفاده شد(هر مرحله تمرینی شامل دوره ۱۰ دقیقه ای و تکرار ۲ بار در روز با شیب صفر درجه نوارگردان به انجام رسید). در طی این دوره ها سرعت پایین دستگاه یعنی ۱۴ متر بر دقیقه جهت آشناسازی استفاده شد. در طول این مدت میزان شوک قابل دریافت توسط حیوان بر روی ۴ میلی آمپر تنظیم شد(۲۳). برای تشویق حیوانات در دوره عادت دهی برای دویلن طبق نظر ویسلوف و همکاران از مشوقی مانند بیسکویت در انتهای تمرینات دوره آشناسازی استفاده شد(۲۴). پس از یک هفته دوره آشناسازی، برنامه تمرینی حیوانات آغاز شد. برنامه دویلن روی نوار گردان در یک جلسه به شرح زیر بود:

پس از قرار دهی بر روی تسمه تردیمیل و طی ۱۰ دقیقه دوره ابتدایی گرم کردن با سرعت ۱۴ m/min تمرین را شروع نموده و سپس حیوانات به مدت ۲۰

حیوانات سالم فاقد هرگونه دستکاری بر روی صفحات خنک و نیز متعادل تقریباً با سرعت یکسانی حرکت می کنند، این در حالی است که حیوانات مبتلا به درد نوروپاتیک سرعت حرکت بالایی را بر روی صفحه خنک به نسبت صفحه با دمای متعادل از خود نشان می دهد. هم چنین سرعت حرکت حیوان بر روی صفحه دارای دمای متعادل نیز به دلیل تمایل حیوان به استراحت بیشتر بر روی این صفحه نسبت به حیوانات سالم کاهش نشان می دهد. بر مبنای این یافته در آزمایشگاه ما، بر آن شدیدم تا شاخص جدیدی را بر مبنای سرعت حرکت حیوانات بر روی صفحات دستگاه به نام شاخص فرار از روی صفحه خنک را برای اولین بار معرفی کنیم. افزایش سرعت حرکت حیوانات مبتلا به درد نوروپاتیک محیطی نشانگر ناراحتی و تنفر واقعی حیوان مبتلا به درد نوروپاتیک به دمای محیطی خنک می باشد که با افزایش سرعت حرکت سعی بر فرار از محیط دردزا به محیط امن تر می نماید. جهت محاسبه این شاخص برای هر یک از حیوانات گروه به تنها ی از فرمول زیر استفاده شد:

شاخص فرار از روی صفحه خنک (EI)= سرعت حرکت حیوان بر روی صفحه خنک(متر بر ثانیه) تقسیم بر سرعت حرکت حیوان بر روی صفحه با دمای متعادل(متر بر ثانیه).

در این مطالعه حیوانات مورد مطالعه به هفت گروه تقسیم شدند. در هر گروه تعداد هفت سرموش صحرایی قرار گرفت این گروه ها عبارتند از:

- (۱) حیوانات سالم فاقد برنامه ورزشی و دریافت کننده نرمال سالین،
- (۲) حیوانات مبتلا به نوروپاتی بدون تمرین ورزشی و دریافت کننده نرمال سالین،
- (۳) حیوانات مبتلا به نوروپاتی بدون تمرین ورزشی(2/5 mg/kg)
- (۴) حیوانات مبتلا به نوروپاتی و دارای تمرین ورزشی روزانه دریافت کننده نرمال سالین،
- (۵) حیوانات مبتلا به نوروپاتی و دارای تمرین ورزشی روزانه دریافت کننده نرمال سالین،
- (۶) حیوانات مبتلا به نوروپاتی و مورفین(2/5 mg/kg)
- (۷) حیوانات مبتلا به نوروپاتی و دارای تمرین ورزشی نالوکسان

صورت معنادار($P<0.002$) مدت زمان طولانی تری را بر روی صفحات سرد اقامت نمودند(شکل شماره ۲A). تجویز مورفین در مقدار ۲/۵ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن هم در حیوانات فاقد رژیم ورزشی ($40/38\pm16/99$ درصد) و هم در گروه دارای رژیم ورزشی($49/2\pm7/61$ درصد) منجر به افزایش مدت اقامت حیوانات در صفحه خنک در مقایسه حیوانات مبتلا به نوروپاتی محیطی فاقد رژیم ورزشی دریافت کننده سالین نرمال گردید. اما فقط در گروه دارای رژیم ورزشی این افزایش معنادار($P<0.002$) بود(شکل شماره ۲B). تجویز نالتروکسان در مقدار ۲ میلی گرم به ازای کیلوگرم قبل از شروع دوره ورزشی ($13/92\pm7/03$ درصد) به صورت معنادار($P<0.05$) توانست از اثر ضد آلودینی سرمایی ناشی از ورزش در مقایسه با حیوانات دارای رژیم ورزشی ممانعت به عمل آورد. هم چنین تجویز نالوکسان در مقدار یک میلی گرم به ازای کیلوگرم دقیقاً بعد از اتمام دوره ورزشی($6/44\pm2/64$ درصد) به صورت معنادار($P<0.01$) توانست از اثر ضد آلودینی سرمایی ناشی از ورزش ممانعت به عمل آورد(شکل شماره ۲C).

میزان مسافت طی شده بر روی هر دو صفحه در طول مدت آزمایش در حیوانات فاقد رژیم ورزشی مبتلا به نوروپاتی محیطی($161/0.7$ سانتی متر) به صورت معنادار($P<0.001$) در مقایسه با حیوانات سالم فاقد رژیم ورزشی($2270/75\pm142/60$ سانتی متر) کاهش یافت(شکل شماره ۳A). انجام تمرین ورزشی روزانه در حیوانات مبتلا به نوروپاتی محیطی ($1725/21\pm20.6/27$ سانتی متر) در مقایسه با حیوانات فاقد رژیم ورزشی به صورت معنادار($P<0.02$) موجب افزایش مسافت طی شده توسط حیوانات شد. تجویز داخل صفاقی مورفین($2/5$ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) در حیوانات مبتلا به نوروپاتی محیطی فاقد رژیم ورزشی($1001/72\pm174/97$ سانتی متر) تاثیری بر روی میزان مسافت طی شده توسط حیوانات در طول آزمایش اعمال نکرد. در حالی که تجویز مورفین در حیوانات دارای رژیم ورزشی موجب افزایش مسافت طی شده($180/0.3\pm1876/0.6$ سانتی متر) توسط حیوانات مبتلا به نوروپاتی محیطی به صورت معنادار

دقیقه با سرعت 20 m/min تمرین داده شدند. این دوره از تمرین ورزشی نیز به مدت چهارده روز متوالی به انجام رسید(۷).

یک روز پس از اتمام دوره تمرینی مستمر 14 روزه، جهت انجام آزمون ترجیح مکان ناشی از دما حیوانات ابتدا به مدت 10 دقیقه و با سرعت 20 m/min تمرین سپس به مدت 20 دقیقه با سرعت 20 m/min تمرین داده شدند، با این تفاوت که در روز آزمون شوکر دستگاه خاموش بود و حیوانات مورد آزمایش هیچ نوع تحریک الکتریکی دریافت نکردند. بالاصله بعد از اتمام تمرین ورزشی رفتار حیوانات توسط سیستم آزمون ترجیح مکان ناشی از حرارت مورد ارزیابی قرار گرفت. داده های حاصل با روش آماری آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه و سپس آزمون تعییبی توکی GraphPad Prism (Tukey) با استفاده از نسخه 5 (Tukey) تجزیه و تحلیل شدند. داده های مربوط به سرعت حرکت حیوانات بر روی صفحات خنک و نیز با دمای متعادل توسط آزمون آماری(Student t-test) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در نمودارها، داده ها به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد از میانگین ($\text{Mean}\pm\text{SEM}$) آورده شده اند. سطح معنی داری، $P<0.05$ در نظر گرفته شده است.

یافته های پژوهش

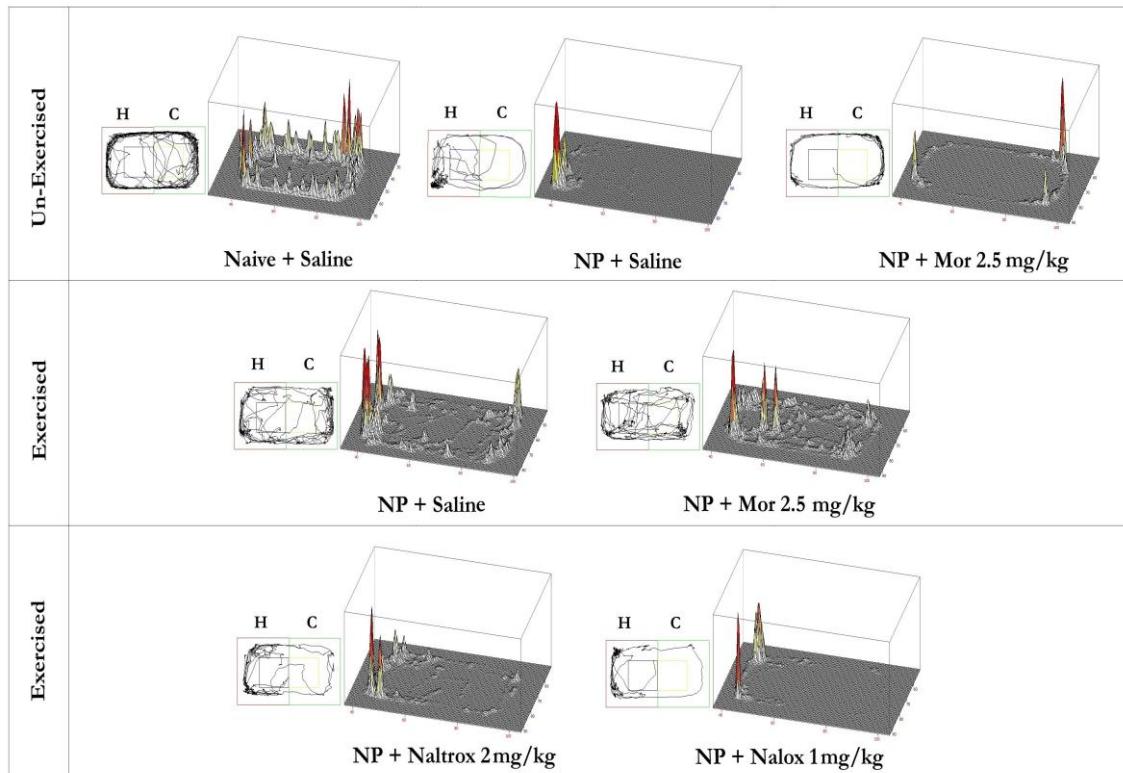
نمونه هایی از نمودار مسیر عبور حیوانات(تریس)، نحوه حرکت و اقامت حیوانات در محیط آزمون در گروه های آزمایشی فوق الذکر که توسط نرم افزار اسмарات به صورت تک بعدی و سه بعدی رسمن شده اند، در شکل شماره ۱ ارائه شده است. حیوانات مبتلا به نوروپاتی محیطی فاقد رژیم ورزشی و دریافت کننده سالین نرمال($9/154\pm3/86$ درصد) در مقایسه با حیوانات سالم فاقد رژیم ورزشی(Naive) ($49/163\pm4/76$ درصد) به صورت معنادار($P<0.002$) مدت زمان بسیار کمتری را بر روی صفحات سرد اقامت نمودند. این در حالی است که حیوانات مبتلا به نوروپاتی محیطی با رژیم ورزشی و دریافت کننده سالین نرمال($43/27\pm10/59$ درصد) در مقایسه با حیوانات مبتلا به نوروپاتی محیطی فاقد رژیم ورزشی و دریافت کننده سالین نرمال($9/154\pm3/86$ درصد) به

رژیم ورزشی مبتلا به نوروپاتی محیطی($4/98\pm/61$) به صورت معنادار($P<0.0001$) در مقایسه با حیوانات سالم فاقد رژیم ورزشی($1/09\pm/12$) افزایش یافت(شکل شماره ۵A). انجام تمرين ورزشی روزانه در حیوانات مبتلا به نوروپاتی محیطی($1/46\pm/41$) در مقایسه با حیوانات فاقد رژیم ورزشی به صورت معنادار($P<0.0001$) موجب کاهش میزان شاخص فرار از روی صفحه خنک توسط حیوانات شد. تجویز مورفين در مقدار $2/5$ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن هم در حیوانات فاقد رژیم ورزشی($1/15\pm/6$) و هم در گروه دارای رژیم ورزشی($1/35\pm/17$) منجر به کاهش معنادار($P<0.0001$) شاخص فرار از روی صفحه خنک در مقایسه حیوانات مبتلا به نوروپاتی محیطی فاقد رژیم ورزشی دریافت کننده سالین نرمال(شکل شماره ۵B). تجویز نالتروکسان در مقدار 2 میلی گرم به ازای کیلوگرم قبل از شروع دوره ورزشی($3/98\pm/48$) توانست از کاهش شاخص فرار از روی صفحه خنک القاء شده توسط ورزش در مقایسه با حیوانات دارای رژیم ورزشی ممانعت به عمل آورد. هم چنین تجویز نالتروکسان در مقدار یک میلی گرم به ازای کیلوگرم دقیقاً بعد از اتمام دوره ورزشی($4/07\pm/62$) توانست از کاهش شاخص فرار از روی صفحه خنک القاء شده توسط ورزش در مقایسه با حیوانات دارای رژیم ورزشی ممانعت به عمل آورد(شکل شماره ۵C).

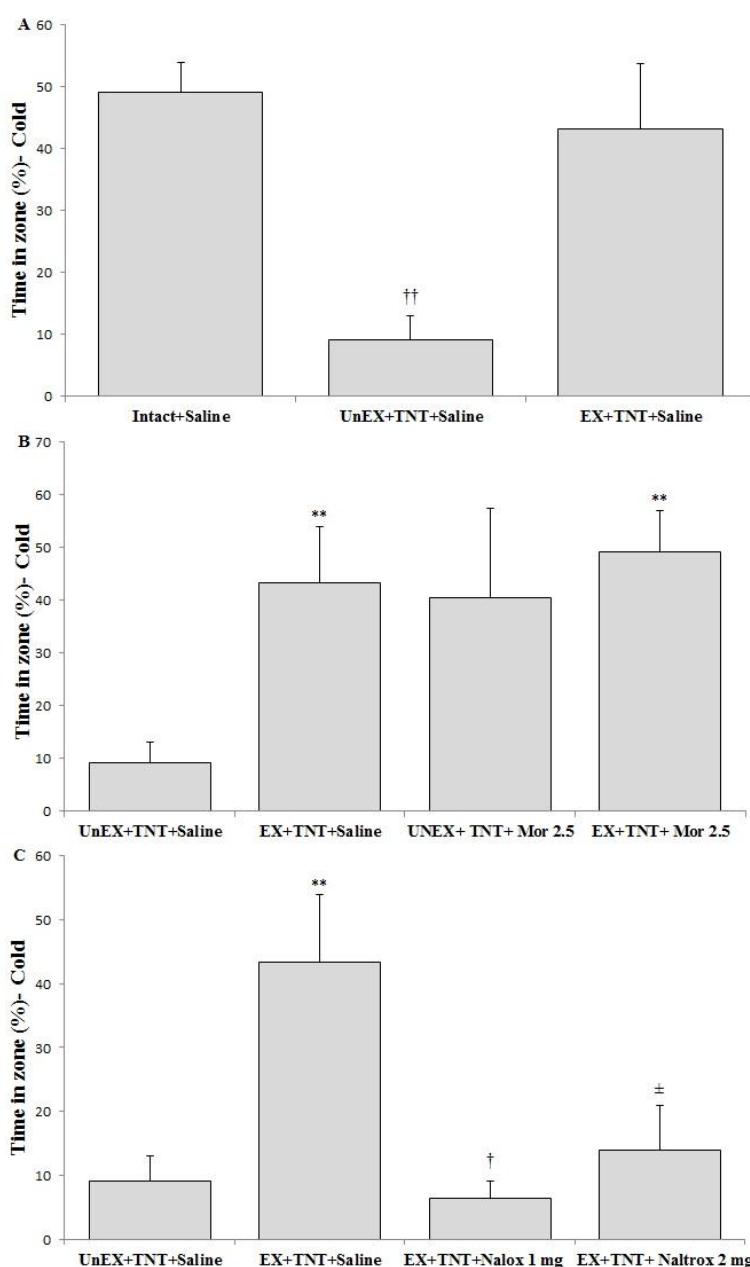
(P<0.01) گردید(شکل شماره ۳B). تجویز نالتروکسان در مقدار 2 میلی گرم به ازای کیلوگرم قبل از شروع دوره ورزشی($1068/75\pm/150/93$ سانتی متر) به صورت معنادار($P<0.05$) توانست از افزایش مسافت طی شده القاء شده توسط ورزش در مقایسه با حیوانات دارای رژیم ورزشی ممانعت به عمل آورد. هم چنین تجویز نالتروکسان در مقدار یک میلی گرم به ازای کیلوگرم دقیقاً بعد از اتمام دوره ورزشی($1107/69\pm/116$ سانتی متر) به صورت معنادار($P<0.05$) توانست از افزایش مسافت طی شده ناشی از ورزش ممانعت به عمل آورد(شکل شماره ۳C).

حیوانات سالم فاقد هر گونه دستکاری بر روی صفحات خنک و نیز متعادل تقریباً با سرعت یکسانی (صفحه خنک: $4/15\pm/39$ و صفحه با دمای متعادل: $3/93\pm/25$ متر بر ثانیه) حرکت کردند(شکل شماره ۴)، این در حالی است که حیوانات مبتلا به درد نوروپاتیک سرعت حرکت بالایی را بر روی صفحه خنک ($6/88\pm/38$ متر بر ثانیه) نسبت به حیوانات سالم ($P<0.0001$) از خود نشان می دهند. هم چنین سرعت حرکت حیوان بر روی صفحه دارای دمای متعادل نیز به دلیل تمايل حیوان به استراحت بیشتر بر روی این صفحه، نسبت به حیوانات سالم کاهش معنادار($P<0.0001$) نشان می دهد(شکل شماره ۴).

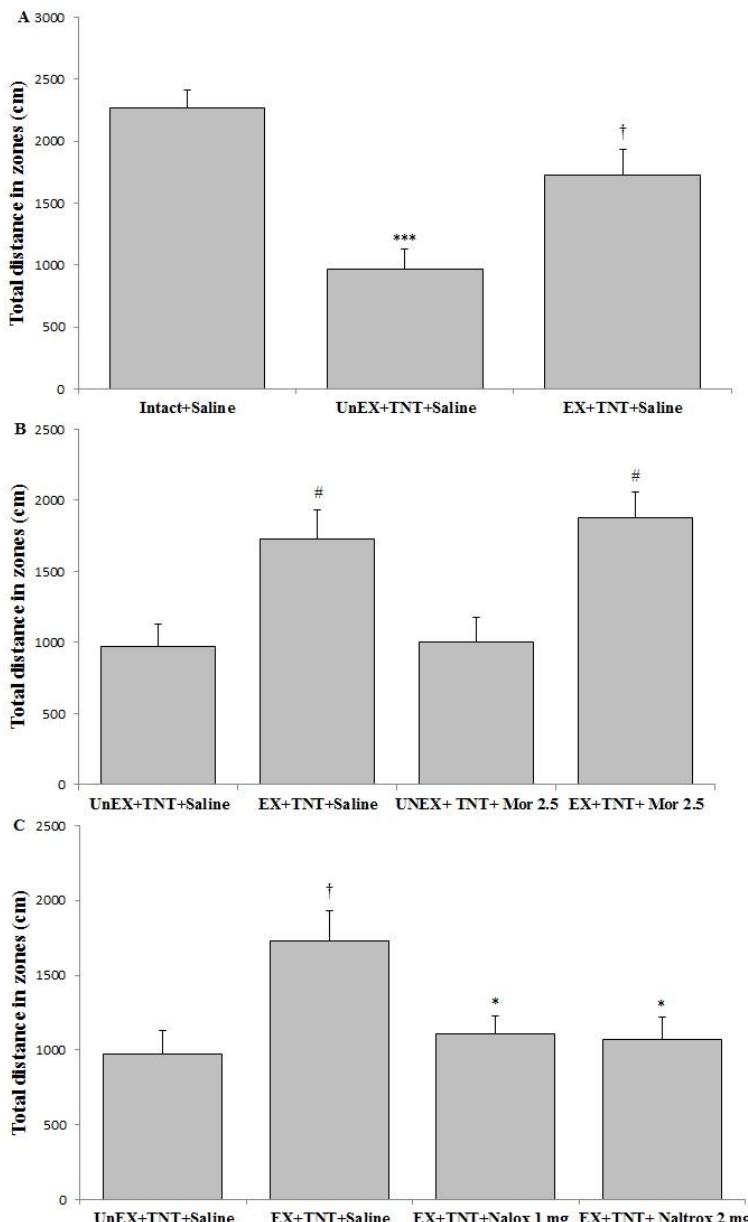
شاخص فرار از روی صفحه خنک در حیوانات فاقد



شکل شماره ۱. نقشه حرکت و اقامت خطی و سه بعدی رسم شده توسط نرم افزار اسمارت برای یک حیوان در هر گروه آزمایشی. در نقشه حرکتی خطی میزان و مدل حرکت حیوان بر روی هر دو صفحه با رسم مسیر خطی حرکت حیوان در زمان آزمایش مشخص شده است. در نقشه سه بعدی حرکتی، علاوه از میزان مسافت و مدل حرکت، مدت سکون حیوان در هر ناحیه با رسم قله های رنگی مشخص شده است (رنگ سفید معرف اقامت کوتاه، رنگ زرد معرف اقامت متوسط و رنگ قرمز نمایان گر اقامت طولانی مدت است). (H): صفحه با دمای ۲۴ درجه، (C): صفحه با دمای ۱۴ درجه سانتی گراد، (Mor): مورفین، (NP): حیوان مبتلا به نوروپاتی محیطی، (Nalox): نالوکسان، (Naltrox): نالتروکسان



شکل شماره ۲. مدت زمان اقامت بر روی صفحه خنک در حیوانات سالم و مبتلا به نوروپاتی دارای رژیم ورزشی و فاقد رژیم ورزشی(A)، تاثیر تجویز مورفین بر مدت زمان اقامت حیوان بر روی صفحه خنک در حیوانات سالم و مبتلا به نوروپاتی دارای رژیم ورزشی و فاقد رژیم ورزشی(B)، تاثیر مهار گیرنده های آپیوئیدی درون زاد پیش از شروع تمرین ورزشی توسط نالتروکسان و بعد از اتمام تمرین ورزشی توسط نالوکسان بر مدت زمان اقامت بر روی صفحه خنک در حیوانات سالم و مبتلا به نوروپاتی دارای رژیم ورزشی و فاقد رژیم ورزشی (C). † تفاوت معنادار در مقایسه با گروه سالم ($P<0.002$). ‡ تفاوت معنادار در مقایسه با گروه دارای تمرین ورزشی مبتلا به نوروپاتی ($P<0.01$). † تفاوت معنادار در مقایسه با گروه دارای تمرین ورزشی مبتلا به نوروپاتی ($P<0.05$). ** تفاوت معنادار در مقایسه با گروه فاقد تمرین ورزشی مبتلا به نوروپاتی ($P<0.02$).



شکل شماره ۳. میزان مسافت طی شده توسط حیوانات در طول مدت آزمایش بر روی هر دو صفحه با دمای متعادل و خنک در حیوانات سالم و مبتلا به نوروپاتی دارای رژیم ورزشی و فاقد رژیم ورزشی دریافت کننده سالین نرمال(A)، مورفین(B) و مهار کننده های گیرنده های اپیوئیدی پیش از شروع تمرين ورزشی توسط نالتروکسان و بعد از اتمام تمرين ورزشی توسط نالتروکسان(C). (EX): دارای تمرين ورزشی، (UnEX): فاقد تمرين ورزشی، (TNT): مبتلا به قطع شاخه تبییال عصب سیاتیک، (Mor): مورفین، (NP): حیوان مبتلا به نوروپاتی محیطی، تمرين ورزشی مبتلا به نوروپاتی دریافت کننده سالین نرمال(P<0.002).

*** تفاوت معنادار در مقایسه با گروه سالم دریافت کننده سالین

نرمال (P<0.001). # تفاوت معنادار در مقایسه با گروه

فاقد تمرين ورزشی مبتلا به نوروپاتی دریافت کننده

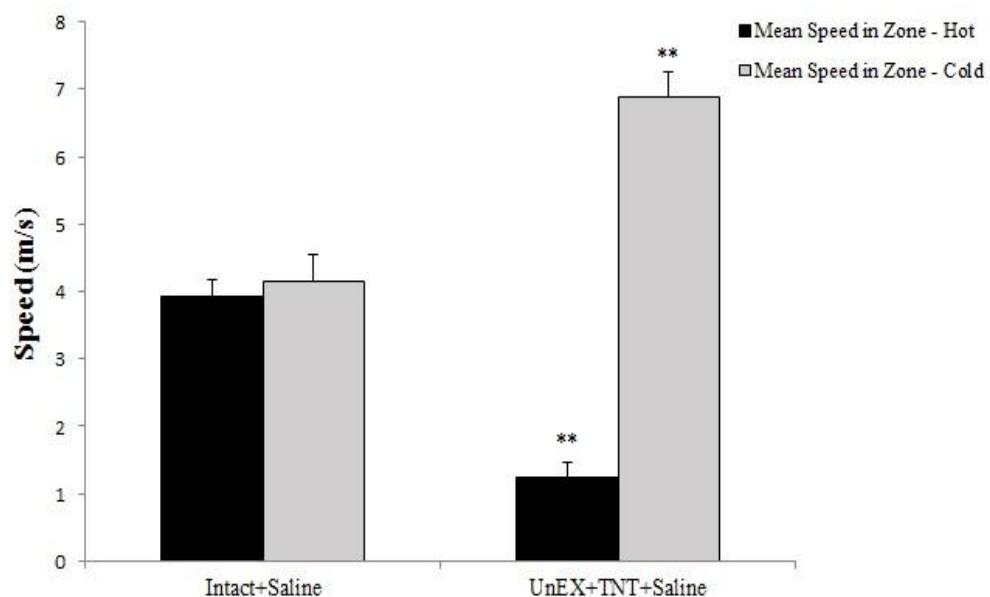
سالین نرمال(P<0.01). *. تفاوت معنادار

در مقایسه با گروه دارای تمرين

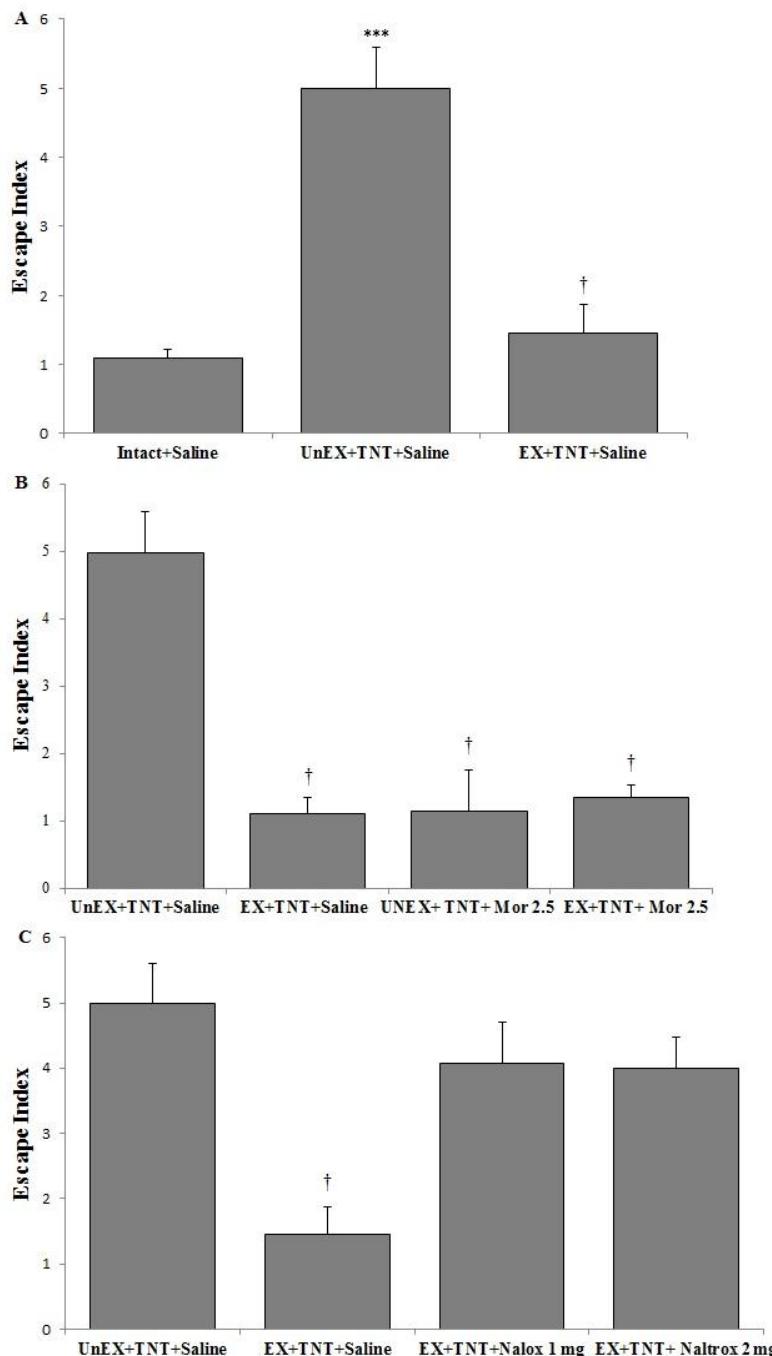
ورزشی مبتلا به نوروپاتی

دریافت کننده سالین

. (P<0.05).



شکل شماره ۴. سرعت حرکت حیوانات بر روی صفحه سرد و متعادل در حیوانات سالم و مبتلا به نوروباتی محیطی فاقد رژیم ورزشی. (UnEX): گروه فاقد تمرين ورزشی، (TNT): مبتلا به قطع شاخه تیبیال عصب سیاتیک.
** تفاوت معنادار در مقایسه با گروه سالم دریافت کننده سالین نرمال ($P<0.0001$).



شکل شماره ۵. میزان شاخص فرار از روی صفحه خنک در حیوانات سالم و مبتلا به نوروپاتی دارای رژیم ورزشی و فاقد رژیم ورزشی دریافت کننده سالین نرمال(A)، مورفین(B) و مهار کننده های گیرنده های اپیونیدی پیش از شروع تمرین ورزشی توسط نالتروکسان و بعد از اتمام تمرین ورزشی توسط نالتروکسان(C). (EX): گروه دارای تمرین ورزشی، (UnEX) گروه فاقد تمرین ورزشی، (TNT): مبتلا به قطع شاخه تیبیال عصب سیاتیک، (Mor): مورفین، (NP): حیوان مبتلا به نوروپاتی محیطی، (Naltrox): نالتروکسان. *** تفاوت معنادار در مقایسه با گروه سالم دریافت کننده سالین (Naltrox) (P<0.0001). † تفاوت معنادار در مقایسه با گروه فاقد تمرین ورزشی مبتلا به نوروپاتی دریافت کننده سالین (Naltrox) (P<0.0001).

بحث و نتیجه گیری

مدت گیرنده های مو اپیوئیدی) موجب مهار اثر مثبت ورزش بر روی شاخص فرار از محیط سرد گردید. از طرفی تجویز مورفین به عنوان یک داروی ضد درد استاندارد(کنترل مثبت) در حیوانات فاقد تمرين ورزشی نیز اثری مشابه به آن چه در حیوانات ورزشکار مشاهده شد را ایجاد نمود. بر اساس نتایج مذکور احتمالاً اثر کاهش تنفر نسبت به محیط خنک در حیوانات دونده بر روی ترمیم مبتلا به نوروپاتی توسط فعالسازی سیستم اپیوئیدی درون زاد به انجام می رسد.

آزمون ترجیح مکانی ناشی از حرارت با نام آزمون دو صفحه ای در سال ۲۰۰۶ توسط والزاک و بیالی یو جهت بررسی آلودینی سرمایی واقعی در مدل های حیوانی مبتلا به نوروپاتی محیطی معرفی گردید. این آزمون دارای یکسری ویژگی منحصر به فرد در مطالعه آلودینی سرمایی در حیوانات مبتلا به انواع نوروپاتی می باشد. اساس این آزمون بر مبنای اجتناب حیوان مبتلا به نوروپاتی از محیط خنک و پناه بردن به ناحیه دارای دمای متعادل یا خنثی می باشد. این آزمون دارای مزایای متعددی در ارزیابی آلودینی سرمایی نسبت به سایر آزمون های رایج نظیر آزمون استون یا آزمون صفحه سرد می باشد. در این آزمون هیچ نوع ماده شیمیایی استفاده نشده و فضای لازم برای فرار حیوان از محرك دردزا به صورت اختیاری مهیا می باشد. هم چنین جهت ارزیابی آلودینی سرمایی از محرك سرمایی غیر دردزا یعنی دمای ۱۴ درجه سانتی گراد استفاده می گردد. به دلیل وجود یک اتفاک باز در محیط سیستم آزمایشی رفتار حرکتی و اکتشافی حیوانات مورد آزمون را می توان مورد ارزیابی قرار داد(۲۲).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر با سایر یافته ها در ارتباط با اثرات ضد دردی ناشی از ورزش همسو می باشد. مطالعات متعدد بر روی انسان و حیوانات نشان دهنده این مطلب می باشد که یک دوره تمرين ورزشی توانایی افزایش آستانه تحمل درد را بلاعسله بعد از اتمام ورزش دارا می باشد(۹). تمرينات منظم ورزشی موجب افزایش سطح اپیوئیدهای درون زاد سرم(۲۵) و نیز مایع مغزی-نخاعی(۲۶) شده است. استاگ و همکاران(۲۰۱۱) اعلام نمودند که تمرين

یافته های حاصل از این مطالعه نشان داد حیوانات مبتلا به درد نوروپاتیک در آزمون ترجیح مکانی ناشی از حرارت، صفحه با دمای متعادل را جهت اقامت انتخاب می نمایند، این در حالی است که حیوانات سالم تقریباً اقدام به حرکت و اقامت در هر دو صفحه به صورت مساوی و با اختلاف اندک بر روی صفحه دارای دمای متعادل می نمایند. تمرين منظم روزانه کوتاه مدت موش های مبتلا به نوروپاتی، در این مطالعه توانست موجب افزایش معنادار مدت اقامت در صفحه با دمای خنک شده و آلودینی سرمایی را به صورت معنادار کاهش دهد. حیوانات مبتلا به نوروپاتی محیطی به دلیل حس درد(آلودینی سرمایی) در محیط های خنک و سرد سعی به فرار از این محیط می نمایند، این رفتار را می توان با ارزیابی سرعت حرکت حیوان بر روی صفحه با دمای متعادل و نیز صفحه خنک مورد مطالعه قرار داد. در این مطالعه سرعت حرکت حیوانات بر روی صفحه خنک به صورت معنادار افزایش یافت. این در حالی است که سرعت حرکت بر روی صفحه با دمای متعادل کاهش معناداری از خود نشان داد. افزایش سرعت حرکت حیوان بر روی صفحه با دمای خنک نشانگر تنفر واقعی حیوانات مبتلا از این محیط می باشد. لذا در این مطالعه برای اولین بار شاخص فرار (که حاصل نسبت سرعت حرکت بر روی صفحه خنک به سرعت حرکت بر روی صفحه با دمای متعادل می باشد) معرفی شده و مورد استفاده قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل، انجام تمرين ورزشی منظم روزانه توانایی کاهش شاخص فرار از روی صفحه خنک را دارد. این یافته به این معنا است که تنفر حیوان مبتلا به نوروپاتی از محیط خنک متعاقب ورزش کاهش می یابد. هم چنین تجویز مورفین، چه در حیوانات دارای رژیم ورزشی و چه در حیوانات فاقد رژیم ورزشی مبتلا به نوروپاتی موجب ممانعت از افزایش شاخص فرار از محیط سرد می گردد. مهار گیرنده های اپیوئیدی چه پیش از شروع تمرين ورزشی توسط نالتروکسان(به عنوان آنتاگونیست دارای اثر طولانی گیرنده ای اپیوئیدی) و چه بعد از اتمام تمرين ورزشی توسط نالوكسان به عنوان آنتاگونیست دارای اثر کوتاه

بردنده(۳۹). آندوکاتانینوئیدها نقش عمده‌ای در کاهش درد دارند به طوری که فعال سازی سیستم کاتانینوئیدی می‌تواند موجب کاهش حس درد در سطوح محیطی و مرکزی شود(۳۰).

با توجه به قابلیت آزمون ترجیح مکانی ناشی از حرارت در ارزیابی فعالیت حرکتی و نیز رفتار اکتشافی به دلیل دارا بودن یک فضای باز در درون سیستم جهت حرکت آزادانه حیوانات در درون دستگاه میزان مسافت طی شده توسط حیوانات در طول مدت آزمون (به مدت ده دقیقه) توسط سیستم ویدئوتراکینگ به صورت دقیق مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از این بررسی نیز نشان داد که حیوانات مبتلا به درد نوروپاتیک در آزمون ترجیح مکانی ناشی از حرارت، به صورت معنادار مسافت بسیار کمتری را نسبت به حیوانات سالم در درون سیستم آزمایش طی می‌کنند، این در حالی است که تمرين منظم روزانه کوتاه مدت در این مطالعه توانست موجب افزایش معنادار میزان مسافت طی شده بر روی هر دو صفحه حرارتی در موش های مبتلا به نوروپاتی محیطی دارای رژیم ورزشی گردید. بهبود عملکرد حرکتی و فعالیت اکتشافی در حیوانات مبتلا به نوروپاتی دارای رژیم ورزشی به دلایل مختلفی می‌تواند ایجاد شود. یکی از این دلایل به اثر مثبت ورزش بر روی سیستم عصبی-عضلانی در ناحیه مبتلا بر می‌گردد به گونه‌ای که اودینا و همکاران در سال ۲۰۱۱ اعلام نمودند که ورزش فعال و نیز غیر فعال با افزایش فاکتورهای تروفیک می‌تواند موجب افزایش عصب گیری مجدد عضلات قطع عصب شده و هم چنین موجب افزایش تعداد آکسون ها باز تولید شده در ناحیه دیستال عصب آسیب دیده گشته و نیز منجر به کاهش تحریک پذیری افزایش یافته نخاعی متعاقب آسیب ها گردد(۳۱).

نمونه برداری از گانگلیون های عصبی ریشه پشتی یا DRG در حیوانات دارای رژیم تمرين ورزشی، نشانگر افزایش سطح mRNA برخی مواد نظیر فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز(BDNF)، نیوتروفین سه، سیناپسین I و پروتئین همراهی کننده رشد چهل و سه در آن ها در مقایسه با حیوانات ساکن بود(۳۲). هم چنین ورزش موجب کاهش معنادار گلیکوپروتئین همراه

منظم ورزش هوازی موجب مهار آلودگی مکانیکی در آزمون رشته های ون فری و نیز آزمون هات پلیت در مدل لیگاسیون عصب سیاتیک(SNL) از طریق افزایش میزان بتا آندورفین و مت انکفالین در هسته های PAG و RVM مغزی می شود. هم چنین ایشان اثبات نمودند که اثر ضد دردی مشاهده شده با تجویز محیطی نالوکسان هیدروکلراید و مرکزی نالوکسان متیودید(به عنوان آنتاگونیست گیرنده های اپیوئیدی غیر قابل نفوذ از سد خونی مغزی) مهار شده است در حالی که تجویز نالوکسان متیودید به صورت داخل صفاقی و ایتراتکال نتوانسته است از اثر ضد درد ورزش در این مدل ممانعت به عمل آورد(۷).

مطالعات تجربی نشان داده اند که نالوکسان و نالتروکسان می‌توانند موجب برگشت اثرات بی دردی ناشی از ورزش شوند، اما تاثیر آن ها بستگی به شدت و نوع استرس ورزشی دارد. برای مثال بی دردی که توسط آزمون صفحه داغ ارزیابی شده در موش های سوری نر نژاد سوئیس و بستر بعد از ۳ دقیقه شنای اجباری در آب سرد ۱۵ درجه سانتی گراد، به وسیله نالوکسان مهار نشده است. این نوع از بی دردی به عنوان بی دردی با واسطه غیر اپیوئیدی معرفی شده که NMDA می‌تواند توسط آنتاگونیست های گیرنده NMDA مهار گردد(۲۷) در حالی که در مطالعه ای دیگر بی دردی ناشی از شنای اجباری به وسیله تجویز نالوکسان در موش سوری مهار گردیده است(۱۴).

در انسان، دویدن در مسافت طولانی موجب ایجاد کاهش حس درد یا هایپوآلرژی شده است که توسط نالوکسان این بی دردی ناشی از ورزش مهار گشته است که نشانگر ارتباط اثر ورزش با گیرنده های اپیوئیدی داخلی می‌باشد(۲۸).

مکانیسم های دیگری برای بی دردی ناشی از ورزش غیر از تئوری فعل اسازی اندروفین مطرح شده است به طوری که اسپارالینگ و همکاران در سال ۲۰۰۳ به نقش گیرنده های آندوکاتانینوئیدی و فعل اسازی این گیرنده ها توسط ورزش اشاره نموده اند به طوری که با اندازه گیری آناندامید(لیگاند طبیعی گیرنده های CB₁ و CB₂) در دوندگان و دوچرخه سواران به افزایش معنی دار این ماده در سرم بی

می شوند(۳۶). تعداد گیرنده های اپیوئیدی بعد از دوره کوتاه مدت هفت روزه و متوازن ورزشی(ورزش حاد) دستخوش افزایش گشته، این در حالی است که ورزش مزمن به مدت ۴۵ روز متوازن موجب کاهش تعداد این گیرنده ها شده است(۳۶). هم چنین این احتمال نیز دور از ذهن نمی باشد که تجویز مورفین اگزورژن همراه با افزایش مواد اپیوئیدی درون زاد مانند بتا اندورفین متعاقب ورزش موجب ایجاد اثرات تقویتی متقابل در ارتباط با مهار آلودینی سرمایی و بهبود عالیم آن شده باشد. مطالعات مختلفی در این راستا تاثیر ورزش را بر روی افزایش سطح بتا آندورفین خون گزارش نموده اند. این افزایش میزان بتا آندورفین متعاقب ورزش در مطالعات مختلف بر مبنای تفاوت رژیم ورزشی(نوع ورزش، طول دوره ورزشی، شدت تمرین ورزشی، هوایی و یا بی هوایی بودن) متفاوت بوده و بین ۱/۵ تا ۷ برابر حد نرمال در خون گزارش شده است(۱۶). نتایج مطالعه حاضر نشانگر این مطلب می باشد که ورزش کوتاه مدت با شدت ملایم یا متوسط می تواند موجب کاهش آلودینی سرمایی و نیز تنفس از محیط با دمای خنک از طریق فعالسازی سیستم اپیوئیدی درون زاد گشته و از سوی دیگر موجب بهبود عملکرد حرکتی و نیز رفتار جستجوگرانه حیوان مبتلا به نوروپاتی گردد. از این رو می توان تمرینات ورزشی ملایم کوتاه مدت دوره ای را به عنوان یک تراپی مکمل که فاقد عوارض جانبی بوده و اثرات مفید فراوان دارد در کنار درمان های دارویی در افراد مبتلا به دردهای نوروپاتیک ناشی از قطع اعصاب محیطی پیشنهاد نمود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز جناب آقای دکتر محمد مقدم واحد جهت مساعدت در خریداری دستگاه تردیل اختصاصی حیوانات آزمایشگاهی تشکر و سپاسگزاری می شود.

با میلين که یک مهارکننده قوی ممانعت کننده از رشد آکسونی است، می شود، در نتیجه امکان رشد آکسونی را با این مکانیسم فراهم می آورد(۳۳). از دلایل احتمالی افزایش حرکت در حیوانات مبتلا به نوروپاتی در مطالعه حاضر می توان به تاثیر مستقیم ورزش روی نوروترانسミترهای مغزی اشاره نمود. یکی از مهم ترین نوروترانسミترهای دخیل در این ارتباط دوپامین می باشد. هاتوری و همکاران(۱۹۹۴) اثبات نموده اند که دویدن بر روی تردیل می تواند موجب افزایش سرعت روند تغییر و تبدیل دوپامین در مغز موش صحرایی به صورت وابسته به سرعت گردد(۳۴). لازم به ذکر است که افزایش سطح دوپامین مغزی توانایی ایجاد اثرات ضد دردی را نیز دارا می باشد(۳۵).

با توجه به این موضوع که تجویز نالوکسان و نالتروکسان هر دو موجب کاهش مسافت طی شده در حیوانات دارای رژیم ورزشی و مبتلا به نوروپاتی گردید، می توان نتیجه گیری کرد که با افزایش درد متعاقب مهار سیستم اپیوئیدی درون زاد رغبت حیوان به حرکت در درون محوطه آزمون کاهش می یابد. از این جهت می توان عنوان نمود که کاهش درد حیوانات مبتلا توسط ورزش موجب افزایش توجه حیوان جهت جستجوی محیط جدید می گردد، این در حالی است که عدم مهار درد خود باعث افزایش توجه حیوان به ناحیه دردناک و کاهش توجه او به محیط اطراف می گردد. نکته جالب توجه دیگر این است که تجویز مورفین با مقدار مشابه در هر دو گروه ساکن و دارای رژیم ورزشی اثر یکسان اعمال ننموده است، به گونه ای که اثر آن در گروه دارای رژیم ورزشی در جهت افزایش مسافت طی شده به مراتب موثرتر بوده است. احتمالاً این اثر به تغییرات بیان ژن های گیرنده های اپیوئیدی و نیز تغییر تاثیرگذاری آن ها بعد از ورزش بر می گردد چرا که آریدا و همکاران(۲۰۱۵) اثبات نمودند که گیرایی و نیز تعداد گیرنده های اپیوئیدی متعاقب ورزش های حاد و مزمون به صورت متفاوتی دستخوش تغییر

References

- 1.Treede RD, Jensen TS, Campbell JN, Cruccu G, Dostrovsky JO, Griffin JW, et al. Neuropathic pain Redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Neurology* 2008; 70:1630-5.
Doi:10.1212/01.wnl.0000282763.29778.59
- 2.Scadding J, Koltzenburg M. Neuropathic pain. *Adv Clin Neurosci Rehabil* 2003; 3: 8-14.
- 3.Kuphal KE, Fibuch EE, Taylor BK. Extended swimming exercise reduces inflammatory and peripheral neuropathic pain in Rodents. *J Pain* 2007; 8: 989-997.
Doi:10.1016/j.jpain.2007.08.001
- 4.Meyer RA, Ringkamp M. A role for uninjured afferents in neuropathic pain. *Sheng Li Xue Bao* 2008; 60: 605-9.
- 5.Saarto T, Wiffen PJ. Antidepressants for neuropathic pain. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; 5454.
Doi: 10.1002/14651858.CD005454.pub2
- 6.OConnor PJ, cook DB. Exercise and pain: the neurobiology measurement and laboratory study of pain in relation to exercise in Human. *Exe Sport Sci Rev* 1999; 27: 119-66.
- 7.Stagg NJ, Mata HP, Ibrahim MM, Henriksen EJ, Porreca F, Vanderah TW, et al. Regular exercise reverses sensory hypersensitivity in a rat neuropathic pain model role of endogenous opioids. *Anesthesiology* 2011; 114: 940-8. Doi: 10.1097/ALN.0b013e318210f880
- 8.Woods JA, Vieira VJ, Keylock KT. Exercise, inflammation, and innate immunity. *Neurol Clin* 2006; 24: 585-599.
Doi: 10.1016/j.iac.2009.02.011
- 9.Koltyn KF. Analgesia following exercise. *Sports Med* 2000; 29: 85-98.
- 10.Drury DG, stuempfle K, Shannon R, Miller J. An investigation of exercise induced hypoanalgesia after isometric and cardiovascular excercise. *J Exe Physiol* 2004; 7: 1-5.
- 11.Gurevich M, kohn P, Davis C. Exercise induced analgesia and the role of reactivity in pain sensitivity. *J Sport Sci* 1994; 12: 549-59.
- 12.Terman GW, Morgan MJ, Liebeskind JC. Opioid and non- opioid stress analgesia from cold water swim importance of stress severity. *Brain Res* 1986; 372: 167-71.
Doi:10.1016/0006-8993(86)91472-1
- 13.Bodnar RJ, Kelly DD, Spiaggia A, Ehrenberg C, Glusman M. Dose dependent reductions by naloxan of analgesia induced by cold water stress. *Pharmacol Biochem Behav* 1987; 8: 667-72. Doi:10.1016/0091-3057(78)90264-2
- 14.Carmody J, Cooper K. Swim stress reduces chronic pain in mice through an opioid mechanism. *Neurosci latt* 1987; 74: 358-63.
Doi.org/10.1016/0304-3940(87)90324-7
- 15.Bartholomew JB, Lewis BP, Linder DE, Cook DB. Post exercise analgesia: replication and extension. *J Sport Sci* 1996; 14: 329-34.
Doi:10.1080/02640419608727718
- 16.Constantini N, Hackney AC. Exercise and endogenous opiates endocrinology of physical activity and sport. 2th ed. New York Springer Publication; 2013;P.21-37.
- 17.Boone Jr JB, Sherraden T, Pierzchala K, et al. Plasma Met enkephalin and catecholamine responses to intense exercise in humans. *J Appl Physiol* 1992; 73: 388-92. Doi:10.1152/jappl.1992.73.1.388
- 18.Droste C, Meyer H, Greenlee MW, Roskamm H. Effect of physical exercise on pain thresholds and plasma beta-endorphins in patients with silent and symptomatic myocardial ischaemia. *Eur Heart J* 1988; 9:25-33. Doi: 10.1093/eurheartj/9.
- 19.Debruille C , Luyckx M , Ballester L , Brunet C , Odou P , Dinet et al . Serum opioid activity after physical exercise in rats. *Physiol Res* 1999; 48: 129-33.
- 20.World Medical Organization. Declaration of Helsinki. *British Med J* 1996; 313:1448-9.
- 21.Lee BH, Won R, Baik EJ, Lee SH, Moon CH. An animal model of neuropathic pain employing injury to the sciatic nerve branches. *Neuroreport* 2000; 11: 657-61.
- 22.Walczak JS, Beaulieu P. Comparison of three models of neuropathic pain in mice using a new method to assess cold allodynia the double plate technique. *Neurosci Lett* 2006; 399: 240-4. Doi: 10.1016/j.neulet.2006.01.058
- 23.Kregel KC, Allen DL, Booth FW, Fleshner MR, Henriksen EJ, Musch TI, et al. Resource book for the design of animal exercise protocols. 1th ed. American

- Physiological Society Publication. 2006;P.133-9.
- 24.Wisloff U, Helgerud J, Kemi OJ, and Ellingsen O. Intensity controlled treadmill running in rats: VO₂ max and cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: 1301-10. Doi: 10.1152/ajpheart.2001.280.3.H1301
- 25.Su CF, Chang YY, Pai HH, Liu IM, Lo CY, Cheng JT. Mediation of beta endorphin in exercise induced improvement in insulin resistance in obese Zucker Rats. *Diabetes Metab Res Rev* 2005; 21:175-82. Doi: 10.1002/dmrr.496
- 26.Hoffmann P, Terenius L, Thoren P. Cerebrospinal fluid immunoreactive beta endorphin concentration is increased by voluntary exercise in the spontaneously hypertensive rat. *Regul Pept* 1990; 28:233-9. Doi:10.1016/0167-0115(90)90021-N
- 27.Marek P, Mogil JS, Sternberg WF, Panocka I, Liebeskind JC. N-methyl-D-aspartic acid receptor antagonist MK-801 blocks non opioid stress-induced analgesia. II. Comparison across three swim stress paradigms in selectively bred Mice. *Brain Res* 1992; 578: 197-203. Doi:10.1016/0006-8993(92)90248-8
- 28.Janal MN, Colt EW, Clark WC, Glusman M. Pain sensitivity, mood and plasma endocrine levels in man following long distance running: effect of naloxone. *Pain* 1984; 19: 13-25.
- 29.Sparling PB, Giuffrida A, Piomelli D, Rosskopf L, Dietrich A. Exercise activates the endocannabinoid system. *Neuroreport* 2003; 14: 2209-11. Doi: 10.1097/01.wnr.0000097048.56589.47
- 30.Richardson JD. Cannabinoids modulate pain by multiple mechanisms of action. *J Pain* 2000; 1: 2-14. Doi.org/10.1016/S1526-5900(00)90082-8
- 31.Udina E, Puigdemasa A, Navarro X. Passive and active exercise improve regeneration and muscle reinnervation after peripheral nerve injury in the rat. *Muscle Nerve* 2011; 43: 500-9. Doi: 10.1002/mus.21912
- 32.Molteni R, Zheng JQ, Ying Z, Gomez F, Twiss JL. Voluntary exercise increases axonal regeneration from sensory neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 8473-8. Doi: 10.1073/pnas.0401443101
- 33.Ghiani CA, Ying Z, de Vellis J, Gomez F. Exercise decreases myelin associated glycoprotein expression in the spinal cord and positively modulates neuronal growth. *Glia* 2007; 55: 966-75. Doi: 10.1002/glia.20521
- 34.Hattori S, Naoi M, Nishino H. Striatal dopamine turnover during treadmill running in the Rat relation to the speed of running. *Brain Res Bullet* 1994;35:41-9. Doi: 10.1016/0361-9230(94)90214-3
- 35.Wood PB. Role of central dopamine in pain and analgesia. *Exp Rev Neurother* 2008; 8: 781-97. Doi: 10.1586/14737175.8.5.781.
- 36.Arida RM, Gomes S, Almeida AA, Cavalheiro EA, Zavala C, Brand S, Rocha L. Differential effects of exercise on brain opioid receptor binding and activation in Rats. *J Neurochem* 2015; 132: 206-17. Doi: 10.1111/jnc.12976



Evaluation of Cold allodynia by Thermal Place Preference Test Following A Short Term of Treadmill Exercise in Neuropathic Rats

Khalilzadeh E^{1*}, Vafaeisaiah G¹, Khosravi H¹, Dolatyari M¹, Azarpey F¹, Hazrati R²

(Received: October 26, 2016)

Accepted: December 18, 2016)

Abstract

Introduction: In this study, we investigated the hypothesis of whether short term and moderate intense treadmill exercise could lead to a sustained reversal of peripheral neuropathy induced cold aversion by activation of endogenous opioidergic systems.

Materials & Methods: The tibial nerve transection (TNT) was performed in the anesthetized rats. 28 days after TNT surgery, the animals were randomized to three sedentary and four treadmill exercise (14 days, 30 min/day with max speed of 1.2 Km/h) groups. Animal activity and thermal preference behavior were determined by double plate technique (thermo-neutral plate: 24 °C and cold plate: 14 °C), equipped with a video tracking software. For determination of opioidergic system involvement, intraperitoneal injection of naltrexone (2 mg/kg) was done before exercise. Morphine (2.5 mg/kg) and naloxone (1 mg/kg) were also used exactly after the end of the last session of exercise.

Findings: Tibial nerve transection significantly decreased the animals'

activities ($P<0.001$), the time spent in cold plate ($P<0.002$) and increased escape index from the cold plate (E.I), ($P<0.0001$), in comparison with intact animals. Treadmill exercise significantly prevented cold allodynia ($P<0.002$), increased animal activity ($P<0.01$) and decreased E.I ($P<0.0001$) 42 days after TNT surgery. Administration of morphine in the both exercised and none-exercised groups significantly reduced E.I., ($P<0.0001$). Injection of naltrexone before exercise training or naloxone immediately after exercise prevented anti-allodynia effect of exercise on the exercise trained animals.

Discussion & Conclusion: Our investigation came to the conclusion that a short period of moderate aerobic exercise could reduce cold aversion and improve animal locomotor activity after peripheral neuropathy via activation of opioidergic system.

Keywords: thermal place preference, moderate aerobic exercise, opioidergic systems, neuropathy, rats

1. Dept of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz University, Tabriz, Iran

2. Brain Research Center, Laval University, Quebec, Canada

* Corresponding author Email:e.khalilzadeh@gmail.com