Journal of Military Medicine
2024, Volume 26, Issue 5
Pages: 2507-2517
10.30491/jmm.2024.1006725.1217

Investigating the Effects of an Infusion of Propranolol in the Prefrontal Cortex on Stress-Induced Analgesia in Male Rats

Mohammad Mahdi Yazdanshenas [1], Gholam Hossein Meftahi [2*], Hedayat Sahraei [2]

[1] *Student Research Committee, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
[2] *Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

Received: 15 August 2024 **Accepted:** 30 September 2024

Abstract

Background and Aim: Stress is a pervasive life experience, especially observed in military environments. Stress-induced analgesia is the reduction of the pain response after exposure to stress, achieved through descending pain inhibitory circuits. The prefrontal cortex is one of the brain regions that are important not only in executive functions but also in pain processing. Adrenergic receptors in the prefrontal cortex are involved in pain processing. Considering the effects of adrenergic receptors in the prefrontal cortex on processing pain under stress, the present study aimed to investigate the inhibition of beta-adrenergic receptors in the prefrontal cortex on pain behaviors and brain oxidative capacity caused by forced swimming stress in male rats.

Methods: Thirty male Wistar rats were randomly divided into five groups: Control (without receiving stress and drugs), sham (surgery but without receiving stress and drugs), stress (forced swimming stress), forced swimming stress group + propranolol (received 4 µg/µL of propranolol before forced swimming stress), and propranolol group (receiving 4 µg/µl propranolol without stress). In the present study, tonic pain responses (tail-flick test) and cold allodynia were investigated. Also, the levels of glutathione, malondialdehyde and catalase enzymes were investigated using biochemical kits.

Results: The findings of the present study showed that forced swimming stress reduced the occurrence of tonic pain and cold allodynia. Also, the results showed that forced swimming stress did not significantly change the concentration of glutathione in the brain compared to the control group, but it decreased the concentration of malondialdehyde and catalase ($p<0.05$). Furthermore, injection of propranolol in the prefrontal cortex (stress group + propranolol) increased tonic pain and cold allodynia compared to the stress group. Moreover, injection of propranolol in the prefrontal cortex before forced swimming stress increased the concentration of malondialdehyde and catalase in the brain compared to the stress group.

Conclusion: The results of the present study showed that beta-adrenergic receptors in the prefrontal cortex play a mediating role in stress-induced analgesia.

Keywords: Allodynia, Beta-Adrenergic Receptors, Prefrontal Cortex, Pain.

*Corresponding author: **Gholam Hossein Meftahi,** Email: hossein.meftahi@bmsu.ac.ir

مجله طب نظامی
دوره ۲۶، شماره ۵، آذر و دی ۱۴۰۳
صفحات: ۲۵۱۷-۲۵۰۷
10.30491/jmm.2024.1006725.1217

بررسی اثرات تزریق پروپرانولول در کورتکس پری فرونتال بر بی‌دردی ناشی از استرس در موش صحرایی نر

محمد مهدی یزدان‌شناس[۱]، غلام حسین مفتاحی[۲*]، هدایت صحرایی[۲]

[۱] کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران
[۲] مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: استرس یک تجربه فراگیر زندگی است و به خصوص در محیط‌های نظامی به فراوانی شاهد بروز آن هستیم. بی‌دردی ناشی از استرس به کاهش پاسخ درد پس از قرار گرفتن در معرض استرس دلالت دارد که با واسطه مدارهای بازدارنده درد نزولی انجام می‌شود. قشر پری‌فرونتال مغز یکی از نواحی مغزی است که نه تنها در عملکردهای اجرایی مهم است، بلکه در پردازش درد نیز اهمیت دارد. نشان داده شده است که گیرنده‌های آدرنرژیک در قشر پری‌فرونتال در پردازش درد نقش دارند. با توجه به اثرات گیرنده‌های آدرنرژیک در قشر پری‌فرونتال در پردازش درد در استرس، هدف تحقیق حاضر بررسی اثرات مهار گیرنده های بتا–آدرنرژیک در قشر پری فرونتال بر رفتارهای درد و ظرفیت اکسیدانی مغز ناشی از استرس شنای اجباری در موش صحرایی نر بود.

روش‌ها: ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به پنج گروه تقسیم شدند: کنترل (بدون دریافت استرس و دارو)، شم (جراحی ولی بدون دریافت استرس و دارو)، استرس (استرس شنای اجباری)، گروه استرس شنای اجباری + پروپرانولول (دریافت ۴ میکروگرم/میکرولیتر پروپرانولول قبل از استرس شنای اجباری) و گروه پروپرانولول (دریافت ۴ میکروگرم/میکرولیتر پروپرانولول بدون استرس). در مطالعه حاضر پاسخ های درد تونیک (زمان پس کشیدن دم) و آلودینیای سرد بررسی گردید. همچنین میزان سطح گلوتاتیون، مالون دی آلدهید و آنزیم کاتالاز با استفاده از کیت های بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که استرس شنای اجباری سبب کاهش بروز درد تونیک و آلودینیای سرد شد. همچنین نتایج نشان داد که استرس شنای اجباری غلظت گلوتاتیون در مغز را نسبت به گروه کنترل به صورت معنی‌داری تغییر نداد ولی غلظت مالون دی آلدهید و کاتالاز را کاهش می‌دهد ($P<۰/۰۵$). از طرفی تزریق پروپرانولول در قشر پری فرونتال (گروه استرس + پروپرانولول) درد تونیک و آلودینیای سرد را نسبت به گروه استرس به تنهایی افزایش داد. علاوه براین، تزریق پروپرانولول در قشر پری فرونتال قبل از استرس شنای اجباری سبب افزایش غلظت مالون دی آلدهید و کاتالاز نسبت به گروه استرس در مغز گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعات حاضر نشان داد، گیرنده های بتا–آدرنرژیک در قشر پری فرونتال در بی دردی ناشی از استرس نقش واسطه‌گری دارند.

کلیدواژه‌ها: آلودینیا، گیرنده‌های بتا–آدرنرژیک، قشر پری فرونتال، درد.

*نویسنده مسئول: **غلام حسین مفتاحی**. پست الکترونیک: hossein.meftahi@bmsu.ac.ir
دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۵/۲۵ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۰۷/۰۹

مقدمه

استرس یک تجربه فراگیر زندگی است و به خصوص در محیط‌های نظامی در بین کارکنان به فراوانی شاهد بروز آن هستیم. همچنین با توجه به نیازهای شغلی خاص در نیروهای نظامی که می‌بایست از سطح آمادگی بالایی به لحاظ جسمی و ذهنی برای انجام اقدامات امنیتی و نظامی برخوردار باشند به ویژه نیروهای رزمی دائما در معرض استرس بالایی به لحاظ شرایط محیطی و جنگی قرار دارند. منابع ایجاد استرس در این نیروها غالبا شامل تحرکات نظامی غیرمنتظره، نیاز به استقرار در محیط‌های ناشناخته، مشارکت در ماموریت های بشردوستانه مرتبط با حوادث و سوانح طبیعی و انجام وظایف غیرقابل پیش بینی می‌باشد (۱). افرادی که با شرایط استرس‌زا و تهدیدکننده مواجه می‌شوند دچار تغییرات فیزیکی و رفتاری می‌شوند که هدف آن حفظ کردن هوموستاز است (۲). پاسخ‌های استرس بیشتر شامل فعال‌سازی محور هیپوتالاموس –هیپوفیز– قشرآدرنال (HPA Axis) و تحریک آزادسازی هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین (CRH) و وازوپرسین توسط هسته‌های اطراف بطنی هیپوتالاموس (PVN) می‌باشد (۳).

بی دردی ناشی از استرس (Stress-induced analgesia: SIA) یک پاسخ داخلی سرکوب کننده درد است که در طول یا پس از قرار گرفتن در معرض یک محرک استرس‌زا یا ترسناک رخ می‌دهد (۴). بی دردی ناشی از استرس تحت تأثیر سن، جنسیت و تجربه قبلی نسبت به محرک‌های استرس‌زا، دردناک یا سایر محرک‌های محیطی است. بی‌دردی ناشی از استرس با فعال شدن مسیر نزولی بازدارنده درد انجام می‌شود (۵). نواحی متفاوتی از مغز در بی دردی ناشی از استرس نقش دارند. یکی از این نواحی قشر پری فرونتال (PFC: prefrontal cortex) است که در یادآوری و خاموش کردن حافظه مرتبط با ترس از محرک‌های دردناک نقش دارد. به عبارتی مطالعات نشان داده‌اند که قشر پری فرونتال در پردازش درد نقش دارد (۶). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که وجود ضایعه یا غیرفعال شدن قشر پری فرونتال می‌تواند منجر به افزایش حساسیت به درد شود (۷). علاوه بر این، نشان داده شده است که قرار گرفتن در معرض استرس می‌تواند قشر پری فرونتال را فعال کرده و منجر به کاهش حساسیت به درد شود. با این حال، مکانیسم های خاص زیربنای این فرآیند نامشخص است. یکی از نامزدهای بالقوه، نوروترنسمیتر نوراپی‌نفرین است که در پاسخ به استرس و تعدیل درد نقش دارد (۸). در این راستا شواهد نشان داده‌اند که در مقایسه با محرک‌های غیردردی، محرک‌های درد باعث افزایش نوسانات باند گاما در قشر پری فرونتال می‌شوند و این نوسانات یکی از ویژگی‌های سیگنال‌دهی درد در قشر پری فرونتال می‌باشد (۹).

مطالعات فارماکولوژیک و نوروشیمیایی نقش تعداد زیادی از نوروترانسمیترها و نوروپپتیدها را نشان داده است. به طور خاص، نقش‌های کلیدی برای سیستم های اپیوئیدی درون‌زا، مونوآمین، کانابینوئید، گابا و گلوتامات وجود دارد (۵). نورآدرنالین در طول استرس عمدتا از فعال شدن لوکوس سرولئوس آزاد می شود (۱۰). قشر پری فرونتال آوران‌های نورآدرنرژیک را از لوکوس سرولئوس در مغز میانی دریافت می‌کند. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که ارتباطات پیچیده صعودی بین لوکوس سرولئوس و کورتکس، هم سبب مهار و هم سبب تسهیل درد می‌شوند. به عبارتی علاوه بر نقش مهاری مسیرهای پونتواسپینال نزولی (مسیرهای آدرنرژیک نزولی از لوکوس سرولئوس به نخاع) که انتقال درد نخاعی را مهار می‌کند، تحقیقات نشان می‌دهد که نورون‌های نورآدرنرژیک در لوکوس سرولئوس و پایانه‌های صعودی آن‌ها در کورتکس پره– فرونتال میانی (mPFC) در پردازش اطلاعات درد نیز نقش مهمی دارند (۱۱). نوراپی نفرین باعث شلیک مداوم نورون‌های هرمی در ناحیه قشر پری فرونتال می‌شود که شامل گیرنده‌های پیش سیناپسی α1– آدرنرژیک است که آزادسازی گلوتامات را تسهیل می‌کند (۱۲). پروپرانولول، که یک آنتاگونیست گیرنده بتا–آدرنرژیک است، اثرات نوراپی نفرین را مسدود می‌کند (۱۳). استفاده از پروپرانولول به عنوان ابزاری برای بررسی نقش نوراپی نفرین در بی دردی ناشی از استرس قبلاً در سایر مناطق مغز مانند آمیگدال و نخاع نشان داده شده است (۱۴). با این وجود مطالعات کمی در مورد نقش گیرنده‌های آدرنرژیک در ناحیه قشر پری فرونتال در بی دردی ناشی از استرس وجود دارد.

لذا، با توجه به نامشخص بودن مکانیسم‌های دخیل در پدیده بی دردی ناشی از استرس و اینکه فهم بهتر مکانیسم درد می‌تواند سبب درمان موثرتری در بیمارانی شود که از دردهای مزمن رنج می‌برند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی نقش گیرنده‌های بتا–آدرنرژیک ناحیه پره فرونتال کورتکس بر بی دردی ناشی از استرس در موش بزرگ آزمایشگاهی می‌باشد. بنابراین، در این مطالعه یک رویکرد جدید برای درک مکانیسم‌های زیربنایی بی دردی ناشی از استرس را بررسی کردیم. با مسدود کردن اثرات گیرنده‌های بتا–آدرنرژیک (با تزریق پروپرانولول) در ناحیه قشر پری فرونتال، نقش این انتقال دهنده عصبی کلیدی را در تعدیل بی دردی ناشی از استرس مورد بررسی قرار دادیم. از طرفی مطالعات نشان داده‌اند که سیستم آدرنرژیک نقش اصلی را در سیگنال‌دهی استرس ایفا می‌کند و استرس اغلب با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (reactive oxygen species; ROS) همراه است. فعال شدن گیرنده بتا–آدرنرژیک منجر به افزایش فعالیت NADPH اکسیداز می‌گردد که به دنبال آن تولید گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابد (۱۵). از طرفی بیان شده است که مهار گیرنده‌های بتا–آدرنرژیک ممکن است تولید گونه‌های فعال اکسیژن را تغییر دهد. لذا در این تحقیق برآنیم که به دنبال مهار رسپتورهای بتا–آدرنرژیک در ناحیه پری فرونتال به دنبال درد، فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی بررسی گردد.

روش‌ها

حیوانات

در مطالعه حاضر تجربی– آزمایشگاهی سی سر موش صحرایی

(رت) نر بالغ، نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده گردید. حیوانات از دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) خریداری شده و پس از انتقال به اتاق حیوانات درگروه‌های ۲ تایی در قفس‌های پلاستیکی شفاف مخصوص به ابعاد (۴۵×۳۰×۱۵) در شرایط آزمایشگاهی استاندارد با آب و غذای مناسب و تازه و همچنین دوره ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. حیوانات برای سازش با محیط جدید آزمایشگاه یک هفته قبل از شروع آزمایش به محیط آزمایش منتقل شدند. رت‌ها جهت تخصیص به گروه‌های مختلف به طورکاملاً تصادفی انتخاب شدند.

گروه‌های مورد مطالعه

در مطالعه حاضر، حیوانات به طور تصادفی به پنج گروه شش تایی تقسیم شدند. ۱) گروه کنترل: این گروه حیوانات هیچ استرس شنای اجباری و دارویی را دریافت نمی کردند و فقط پاسخ‌های درد تونیک (زمان پس کشیدن دم) و آلودینیای سرد بررسی گردید؛ ۲) گروه شم: این گروه فقط تحت جراحی استرئوتاکس قرار گرفت و نرمال سالین به عنوان حلال (۰/۲ میکرولیتر/ در هر طرف) پروپرانولول در ناحیه قشر پری فرونتال تزریق گردید. این گروه استرس و دارو (پروپرانوول) دریافت نکرد؛ ۳) گروه پروپرانولول (۴ میکروگرم/میکرولیتر) (۱۶): در این گروه در ابتدا پروپرانولول در ناحیه قشر پری فرونتال تزریق شد و بعد از ۵ دقیقه پاسخ‌های درد تونیک (زمان پس کشیدن دم) و درد و آلودینیای سرد بررسی شد. پروپرانولول (از شرکت اکسیر دارو تهیه گردید) به شکل تک دوز در ناحیه قشر پری فرونتال تزریق گردید. در این گروه، حیوانات هیچ استرس شنای اجباری را دریافت نکردند؛ ۴) گروه استرس شنای اجباری + پروپرانولول (۴ میکروگرم/میکرولیتر): در این گروه در ابتدا پروپرانولول در ناحیه قشر پری فرونتال تزریق شده و بعد از ۵ دقیقه، حیوانات در معرض استرس شنای اجباری به مدت ۶ دقیقه قرار گرفتند. سپس پاسخ های درد تونیک (زمان پس کشیدن دم) و آلودینیای سرد (تست پس کشیدن پا) بررسی گردید. پروپرانولول در ناحیه قشر پری فرونتال به شکل تک دوز تزریق شد؛ ۵) گروه استرس شنای اجباری (بدون پروپرانولول): در ابتدا حیوانات در معرض استرس شنای اجباری به مدت ۶ دقیقه قرار گرفتند. سپس پاسخ‌های درد تونیک و آلودینیای سرد بررسی گردید. در این گروه حیوانات هیچ دارویی دریافت نکرده و فقط استرس شنای اجباری را دریافت کردند. در این گروه نرمال سالین (حلال پروپرانولول) در ناحیه قشر پری فرونتال تزریق گردید. لازم به ذکر است با توجه به اینکه نتایج گروه شم و کنترل در مطالعات رفتاری و استرس اکسیداتیو تفاوت معنی‌داری با هم نداشت در نمودارها نتایج گروه شم آورده نشده است.

روش جراحی و تعبیه کانول راهنما

ابتدا رت‌ها از حیوانخانه به محل آزمایش انتقال داده شده و جهت بیهوشی حیوانات کلرال هیدرات (۳۵۰ mg/kg) به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. پس از بیهوشی کامل حیوان آن را درون دستگاه استرئوتاکس قرار دادیم و سر حیوان در دستگاه ثابت شد. مختصات استرئوتاکسی ناحیه پری فرونتال کورتکس با توجه به اطلس پاکسینوس و واتسون (۲۰۰۷) (۱۷) به‌صورت ۳/۲ mm = AP، ۳ mm = DV و ۰/۸ mm = ML محاسبه شد. سپس به وسیله مته دندانپزشکی سوراخی در محل علامت‌گذاری شده بر روی جمجمه ایجاد شد که این سوراخ به قطر ۱ میلی‌متر بوده و تا پرده مننژ ادامه داشت. جهت تهیه کانول راهنما از سر سوزن G ۲۳ استفاده شد. طول کانول راهنما یک میلی‌متر کوتاه‌تر از کانول تزریق در نظر گرفته شد. کانول راهنما با سیمان دندانپزشکی روی سر حیوان فیکس شد. بعد از تعبیه کانول راهنما حیوانات در قفس انفرادی قرار داده شدند و برای سپری شدن دوره بهبودی هفت روز به حیوان استراحت داده و بعد از این دوره آزمایشات بر روی آن‌ها انجام شد.

استرس شنای اجباری

جهت القای استرس در حیوان و بررسی اثرات استرس بر پاسخ های درد، هر حیوان به طور انفرادی در تانکی به عمق ۶۰ سانتیمتر که تا ۵۰ سانتیمتر آن از آب پر شده بود به مدت ۶ دقیقه قرار گرفتند. دمای آب تانک ۱±۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. پس از تمام شدن زمان مقرر حیوانات با حوله خشک شدند. برای جلوگیری از مداخله تغییرات فیزیولوژیکی روزانه، رت‌ها در بین ساعات ۱۰ تا ۱۱ صبح تحت استرس قرار گرفتند.

آلودینیای سرد (Cold allodynia)

از این تست جهت مشخص کردن حساسیت حیوان به آلودینیای سرد استفاده گردید. در این روش حیوان بر روی یک شبکه سیمی قرار گرفت، سپس به وسیله یک سرنگ انسولین که به جای سوزن آن لوله باریک پلی‌پروپیلن قرار داشت، یک قطره استن به کف پای چپ حیوان پاشیده شد. این آزمایش ۵ بار و هر بار به فاصله ۳ دقیقه انجام گرفت. در صورتی که حیوان با پاشیده شدن استن پای خود را بلند می‌کرد، پاسخ مثبت و در غیر این صورت پاسخ منفی در نظر گرفته می‌شد. در پایان درصد پاسخ (R) به وسیله فرمول زیر محاسبه گردید (۱۸):

R = (دفعات تحریک/ تعداد پاسخ مثبت) ×۱۰۰

تست پس کشیدن دم (Tail flick test)

تست غوطه وری دم حیوان در حمام آب گرم (۵۰ درجه سانتی‌گراد) برای ارزیابی واکنش تکان دادن دم موش‌ها می‌باشد و زمان تکان دادن دم موش‌ها ثبت گردید. آزمایشگر می‌تواند مطالعه را با نگه داشتن یا قرار دادن حیوان در یک نگهدارنده با دم باز انجام دهد. سپس دم حیوانات در حمام آب غوطه ور گردید. هنگامی که حیوان با تکان دادن دم خود واکنش نشان می‌دهد، زمان این واکنش (زمان پس کشیدن دم) ثبت شد.

اندازه‌گیری مارکرهای استرس اکسیداتیو

دو ساعت پس از انجام تست‌های درد، حیوانات با کلرال هیدرات بیهوش شدند و پس از قربانی کردن آن‌ها مغز حیوان جدا گردید و میزان سطح گلوتاتیون (مارکر آنتی اکسیدانت) و مالون دی آلدهید (مارکر اکسیدان) و نیز میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از کیت‌های مخصوص بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت. سنجش مارکرهای ذکر شده در کل مغز انجام شد.

سنجش غلظت گلوتاتیون (GSH)

برای سنجش میزان گلوتاتیون بافت از روش Tietz استفاده شد (۱۹). ۰/۰۱ میلی‌لیتر از نمونه هموژنه با ۱۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۵۰ درصد مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور g ۲۰۰۰ سانتریفوژ شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی برداشته به ۸۱۰ میکرولیتر دی سدیم فسفات ۰/۳ مولار اضافه شد. سپس با اضافه کردن ۹۳ میکرولیتر DTNB ۴ درصد محلول در سیترات سدیم یک درصد واکنش شروع گردید. تغییرات جذب در طول موج ۴۱۲ نانومتر در طی ۵ دقیقه قرائت شد. با استفاده از محلول گلوتاتیون یک میلی‌گرم بر میلی لیتر منحنی استاندارد گلوتاتیون در غلظت‌های ۲۰۰-۲۵ میکرومولار رسم گردید و غلظت گلوتاتیون بر حسب نانومول بر میلی‌گرم پروتئین در کل مغز محاسبه گردید.

سنجش غلظت مالون دی‌آلدهید (MDA)

برای تعیین محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها MDA از روش Satho استفاده شد (۲۰). به ۵۰۰ میکرولیتر بافت هموژنه ۱/۵ میلی‌لیتر TCA ۱۰ درصد اضافه شد. به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از مایع رویی را برداشته و ۲ میلی‌لیتر اسید تیوبابیتوریک ۶۷ درصد اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری جوش قرار داده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر - n بوتانل به محلول اضافه و بعد از ورتکس، به مدت ۱۵ دقیقه در g ۴۰۰۰ سانتریفوژ شد. سپس جذب محلول رویی صورتی رنگ در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. غلظت مالون دی‌آلدئید با استفاده از ۱ و ۱ و ۳ و ۳ تترا اتوکسی پروپان به عنوان استاندارد تعیین شده و غلظت مالون دی‌آلدئید بر حسب نانومول بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

سنجش غلظت کاتالاز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Abei استفاده شد (۲۱). مخلوط واکنش حاوی ۰/۹۳ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار pH = ۷ و ۰/۰۲ میلی‌لیتر بافت هموژن است. واکنش با افزودن ۰/۰۵ میلی‌لیتر H_2O_2 (۳۰ میلی مولار تهیه شده در بافر فسفات پتاسیم۵۰ میلی مولار pH = ۷) آغاز شد و کاهش جذب به مدت ۳ دقیقه در ۲۴۰ نانومتر قرائت شد. یک واحد فعالیت CAT مقدار یک میکرومول از H_2O_2 است که دریک دقیقه تجزیه می شود. فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار IBM SPSS (نسخه ۲۴) انجام شد. اگر آزمون کولموگروف–اسمیرنوف نرمال بودن داده‌ها را مشخص کرد، از آنالیز واریانس یک طرفه برای تجزیه و تحلیل همه داده‌ها استفاده شد، که پس از آن آزمون تعقیبی توکی انجام گردید. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد برای هر گروه در نظر گرفته شد و در تمامی مراحل $P<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد.

ملاحظات اخلاقی

کلیه پروتکل‌های مربوط به مطالعات بر روی حیوانات آزمایشگاهی تدوین شده توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) (با کد اخلاق IR.BMSU.AEC.1402.035) در این مطالعه مورد توجه قرار گرفته و رعایت شدند.

نتایج

آلودینیای سرد

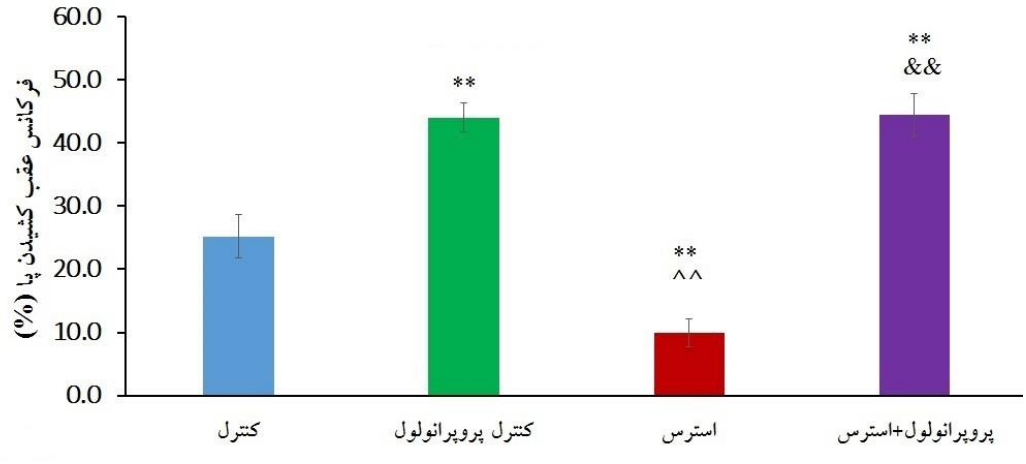
همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است، پس از استرس شنای اجباری، درصد پاسخ عقب کشیدن پا به طور قابل‌توجهی در موش‌های استرسی ($P<۰/۰۰۱$) در مقایسه با موش‌های صحرایی گروه کنترل کاهش یافت. نتایج نشان داد که مهار گیرنده‌های بتا–آدرنرژیک در قشر پری فرونتال پاسخ آلودینیای سرد (درصد پاسخ عقب کشیدن پا) را نسبت به گروه کنترل افزایش می‌دهد. آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که تزریق پروپرانولول به ناحیه پری فرونتال کورتکس قبل از استرس شنای اجباری باعث می‌شود درصد پاسخدهی آن‌ها به پاشیدن استون افزایش یافته، به طوری که اختلاف بین گروه استرس + پروپرانوول و گروه استرس معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$). بنابراین در مطالعه حاضر، می‌توان گفت مهارگیرنده‌های بتا–آدرنرژیک در پری فرونتال کورتکس می‌تواند اثرات ضد دردی در مدل استرس شنای اجباری را مهار کند.

تست پس کشیدن دم (Tail flick test)

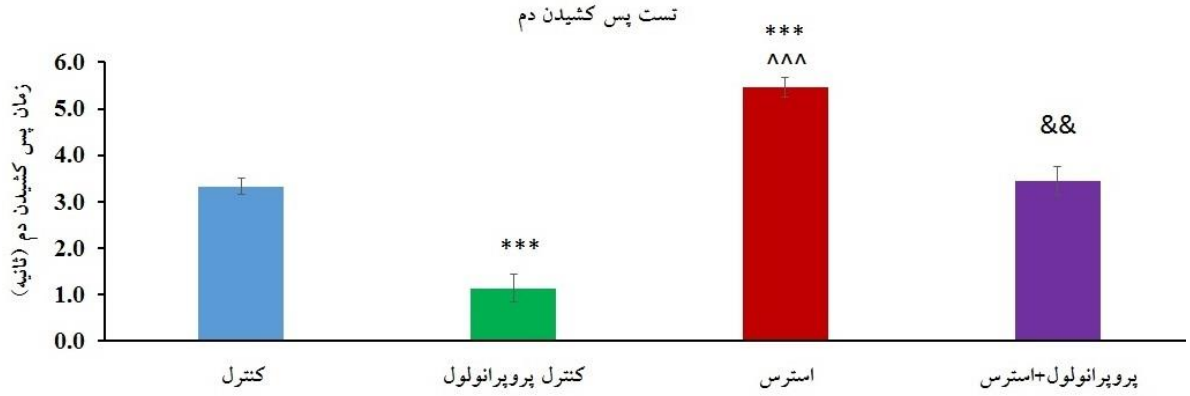
تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که استرس شنای اجباری به طور قابل توجهی زمان پس کشیدن دم را نسبت به گروه کنترل افزایش داد ($P<۰/۰۰۱$). تزریق پروپرانولول در ناحیه پری فرونتال کورتکس به طور قابل توجهی ($P<۰/۰۱$) زمان پس کشیدن دم را در موش‌های تحت استرس در مقایسه با گروه استرس به تنهایی کاهش داد (نمودار ۲). گروه کنترل پروپرانولول در مقایسه با حیوانات کنترل به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۰۱$) زمان کشیدن دم را کاهش داد.

اثرات تزریق پروپرانولول در ناحیه پری فرونتال کورتکس بر غلظت گلوتاتیون (GSH) در بافت مغز به دنبال استرس شنای اجباری

بعد از استخراج بافت‌های مغز در انتهای آزمایش، مارکرهای



نمودار-۱. اثرات تزریق پروپرانولول بر قشر پری فرونتال به دنبال استرس شنای اجباری بر آلودینیای سرد در تست استن (ارزیابی پارامتر درصد عقب کشیدن پا در مدت زمان ۵ دقیقه). تغییرات رفتاری آلودینیای سرد حیوانات در گروه‌های مختلف ارزیابی شد. تمام داده‌ها نشان‌دهنده میانگین ± خطای استاندارد می‌باشد. تفاوت در پارامترهای اندازه‌گیری شده در بین گروه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن آزمون تعقیبی توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (n = 6). نماد ** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل با $P<۰/۰۱$، نماد ^^ نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل پروپرانولول با $P<۰/۰۱$ و نماد && نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه استرس با $P< ۰/۰۱$ می‌باشد.



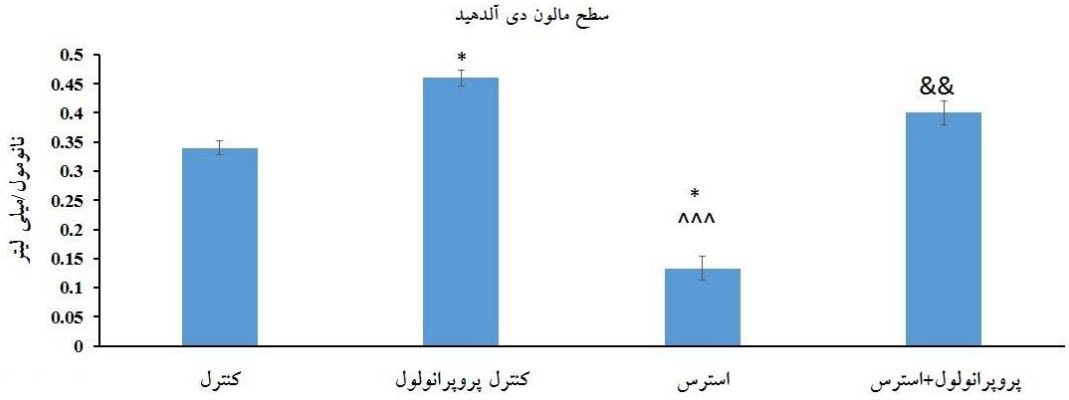
نمودار-۲. اثرات تزریق پروپرانولول بر قشر پری فرونتال به دنبال استرس شنای اجباری بر تست پس کشیدن دم (ارزیابی پارامتر درصد عقب کشیدن پا در مدت زمان ۵ دقیقه). تغییرات رفتاری تست پس کشیدن دم در گروه‌های مختلف ارزیابی شد. تمام داده‌ها نشان‌دهنده میانگین ± خطای استاندارد می‌باشد. تفاوت در پارامترهای اندازه‌گیری شده در بین گروه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن آزمون تعقیبی توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (n = 6). نماد *** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل با $P<۰/۰۰۱$، نماد ^^ نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل پروپرانولول با $P< ۰/۰۰۱$ و نماد && نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه استرس با $P< ۰/۰۱$ می‌باشد.

استرسی با استفاده از کیت‌های مخصوص غلظت گلوتاتیون و مالون دی الدهید و فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز نمودار سنجیده شد. گلوتاتیون به عنوان یک آنتی‌اکسیدان به متعادل کردن رادیکال‌های آزاد کمک می‌کند. پس از جمع‌آوری و آنالیز داده‌ها همان طور که در نمودار ۳ نشان داده شده است در گروه استرس شنای اجباری غلظت گلوتاتیون در مغز نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری ($P<۰/۰۵$) را نشان نداد. در ارتباط با گروه استرس + پروپرانولول این مقدار نسبت به گروه استرس به تنهایی افزایش نیز معناداری نبود. همچنین نتایج تفاوت معنی‌داری را بین گروه استرس + پروپرانولول در مقایسه با حیوانات کنترل و پروپرانولول به تنهایی نشان نداد.

اثرات تزریق پروپرانولول در ناحیه پری فرونتال کورتکس بر غلظت مالون دی آلدهید (MDA) در بافت مغز به دنبال استرس شنای اجباری

همان‌طور که درنمودار ۴ دیده می‌شود مقدار مارکر استرسی مالون دی آلدهید در گروه استرس شنای اجباری کاهش معناداری ($P<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد. فعالیت مالون دی آلدهید به طور معناداری ($P<۰/۰۱$) در گروه استرس + پروپرانوول در مقایسه با گروه استرس به تنهایی افزایش نشان می‌دهد. از طرفی فعالیت این آنزیم پس از تزریق پروپرانولول به قشر پر فرونتال در شرایط بدون استرس (گروه کنترل پروپرانولول) در مقایسه با حیوانات کنترل به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) افزایش یافت. از

نمودار-Error! No text of specified style in document. بررسی اثر استرس شنای اجباری و تزریق پروپرانولول در قشر پری فرونتال بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون در مغز موش صحرایی نر. تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم گلوتاتیون مغز بین گروه‌های مختلف مشاهده نشد. مقادیر به صورت Mean ± SEM بیان شد (n = ۶).



نمودار-Error! No text of specified style in document. بررسی اثر استرس شنای اجباری و تزریق پروپرانولول در قشر پری فرونتال بر سطح آنزیم مالون دی آلدهید در مغز موش صحرایی نر. مقادیر به صورت Mean ± SEM بیان شد (n = ۶). نماد * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل با $P<۰/۰۵$، نماد ^^^ نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل پروپرانولول با $P<۰/۰۰۱$ و نماد && نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه استرس با $P<۰/۰۱$ می‌باشد.

نمودار-۵. بررسی اثر استرس شنای اجباری و تزریق پروپرانولول در قشر پری فرونتال بر سطح فعالیت کاتالاز در مغز موش صحرایی نر. تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم کاتالاز مغز بین گروه‌های مختلف مشاهده شد. مقادیر به صورت Mean ± SEM بیان شد (n = ۶). نماد ** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل با $P<۰/۰۱$، نماد *** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل با $P<۰/۰۰۱$، نماد ^ نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل پروپرانولول با $P<۰/۰۵$ و نماد && نشان دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه استرس با $P<۰/۰۰۱$ می‌باشد.

این‌رو می‌توان نتیجه گرفت گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک در ناحیه پره فرونتال کورتکس می‌توانند تأثیر بسزایی در عملکرد نشان‌گرهای استرس اکسیداتیو ناشی از استرس شنای اجباری داشته باشند.

اثرات تزریق پروپرانولول در ناحیه پری فرونتال کورتکس بر کاتالاز در بافت مغز به دنبال استرس شنای اجباری

استرس شنای اجباری به‌طور قابل‌توجهی فعالیت کاتالاز را در مغز در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد ($P<۰/۰۱$). تجزیه و تحلیل آماری نتایج نشان داد فعالیت کاتالاز مغز در گروه استرس + پروپرانولول در مقایسه با گروه استرس به تنهایی به طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین تزریق پروپرانولول در قشر پری فرونتال در شرایط بدون استرس نیز فعالیت کاتالاز مغز را نسبت به گروه استرس و کنترل به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۰۱$) افزایش داد (نمودار ۵).

بحث

در تحقیق حاضر نقش گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک در قشر پری فرونتال بر پاسخ‌های درد تونیک (زمان پس کشیدن دم) و آلودینیای سرد به دنبال استرس شنای اجباری بررسی گردید. همچنین میزان سطح گلوتاتیون، مالون دی آلدهید و آنزیم کاتالاز در مغز نیز با مهار گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک در قشر پری‌فرونتال قبل از استرس شنای اجباری مورد بررسی قرار گرفت. به عبارت دیگر هدف از مطالعه حاضر این بود که آیا فعالیت گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک در قشر پری فرونتال می‌تواند پاسخ‌های درد و نیز ظرفیت اکسیدانی مغز در پاسخ به استرس شنای اجباری را تغییر دهد؟ همان گونه که در بالا ذکر شد، از پروپرانولول به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک استفاده شد. مدل استرس شنای اجباری یکی از رایج‌ترین مدل‌های حیوانی برای القا استرس حاد می‌باشد. از این مدل جهت بررسی اثرات استرس در مدل‌های حیوانی انجام می‌شود. نتایج حاصل از مطالعات رفتاری درد با استفاده از تست آلودینیای سرد نشان داد که استرس شنای اجباری درصد پاسخ عقب کشیدن پا را به طور قابل‌توجهی کاهش می‌دهد. نتایج آلودینیای سرد نشان داد که در حیوانات گروه پروپرانولول، درصد پاسخ عقب کشیدن پا به صورت معنی‌داری در مقایسه با گروه استرس افزایش یافته بود. نتایج آلودینیای سرد نشان داد پیش درمانی با پروپرانولول قبل از اعمال استرس موجب افزایش درصد پاسخ عقب کشیدن پا می‌شود. نتایج بررسی پاسخ درد در تست پس کشیدن دم نشان داد که تزریق پروپرانولول در قشر پری‌فرونتال قبل از استرس شنای اجباری زمان پس کشیدن دم را نسبت به گروه استرس کاهش داد. به‌عبارتی تزریق پروپرانولول در ناحیه قشر پری فرونتال از بی دردی متعاقب استرس جلوگیری کرده است.

همراستا با مطالعه حاضر، مطالعات متعددی نشان داده‌اند که قرارگیری حاد در معرض عوامل مختلف استرس‌زا می‌تواند در انواع مختلف مدل‌های درد، سبب ایجاد بی‌دردی شود (۲۲). استرس‌های مختلف با تغییر در میزان ترشح نوروترانسمیترها و ساختارهای نورونی، سبب به وجود آمدن انواع گوناگونی از اختلالات و بیماری‌ها می‌شوند. استرس نواحی مختلف مغزی را تحت تاثیر قرار می‌دهد و همچنین توانایی کورتکس مغز بر اساس ساختارهای مغز در جریان آموزش‌های رفتاری تغییر می‌کند. کورتکس پره فرونتال با دخالت در عملکردهای شناختی، در تنظیم پاسخ‌های استرسی نقش دارد (۲۳). همچنین این ناحیه منطقه‌ای است که در روند اختلالات افسردگی به دنبال استرس، درگیر می‌شود و مطالعات بیان کرده‌اند که استرس می‌تواند سبب اختلال در عملکرد کورتکس پره فرونتال در مدل‌های حیوانی شده و سبب تغییرات مورفولوژیکی در سلول‌های این ناحیه شود (۲۴). نشان داده شده است که قشر پری فرونتال در تعدیل درد از طریق کاهش فعالیت سمپاتیک ناشی از درد نقش دارد (۲۵). تغییرات در نوروترانسمیترها، بیان ژن، سلول‌های گلیال و التهاب عصبی در قشر پری فرونتال در طول درد حاد و مزمن رخ می‌دهد که منجر به تغییر در ساختار، فعالیت و اتصالات این ناحیه مغزی می‌شود (۸). نورون‌های درون قشر پری‌فرونتال میانی (mPFC) به محرک‌های دردناک پاسخ می‌دهند و تحریک الکتریکی قشر پره فرونتال میانی پاسخ‌های درد را مهار می‌کند (۲۶). اکثر پایانه‌های نورآدرنرژیک در قشر مغز از لوکوس سرولئوس در مغز میانی منشا می‌گیرند. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که نورون‌های آدرنرژیک لوکوس سرولئوس با قرار گرفتن در معرض شدید استرس فیزیکی فعال می‌شوند (۲۷). نشان داده شده است که رها شدن نورآدرنرژیک که از لوکوس سرولئوس به قشر پره فرونتال میانی می‌آیند، فعالیت برانگیخته درد در این ناحیه را از طریق گیرنده‌های آدرنرژیک آلفا ۲ سرکوب می‌کند تا حساسیت مکانیکی نوروپاتیک را کاهش دهد (۲۸). گزارش شده است که رسپتورهای آلفا ۲-آدرنرژیک در پایانه‌های نورون‌های درد آوران اولیه بیان می‌شوند و آزادسازی گلوتامات را مهار می‌کنند و نقش مهاری در انتقال درد دارند (۲۹). علاوه بر این، تحریک رسپتورهای آلفا ۱-آدرنرژیک فرکانس جریان‌های مهاری خودبه‌خودی (sIPSCs) را در نورون‌های نخاعی ماده ژلاتینوزا (SG) افزایش می‌دهد. مطالعات نشان داده‌اند که محتوای نوراپی نفرین در لوکوس سرولئوس در شرایط مختلف استرس افزایش می‌یابد. سطح نوراپی نفرین در مایع مغزی نخاعی در پاسخ به استرس‌های روانی افزایش می‌یابد (۳۰). علاوه بر این Uchiyama و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که اثرات ضددردی به یک محرک دردناک که بعد از استرس بی حرکتی در موش‌ها ایجاد می‌شود به دنبال مهار رسپتورهای آلفا ۱-آدرنرژیک مختل می‌شود (۳۱).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مهار گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک در قشر پری فرونتال بی دردی ناشی از استرس را در تست‌های آلودینیای سرد و عقب کشیدن دم کاهش می‌دهد. نوراپی نفرین باعث شلیک مداوم نورون‌های هرمی در قشر پریفرونتال می‌شود. این اثر به دلیل فعالیت گیرنده‌های پیش‌سیناپسی آلفا ۱-

آدرنرژیک است که آزادسازی گلوتامات را تسهیل می‌کند (۳۲). با این حال، شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد نورون‌های نورآدرنرژیک در لوکوس سرولئوس نیز می‌توانند در ایجاد و حفظ آلودینیا و پردردی پس از آسیب عصبی شرکت کنند (۳۳). برای مثال، گزارش شده است که فعال شدن نورون های نورآدرنرژیک لوکوس سرولئوس که به قشر پری‌فرونتال می‌روند منجر به تشدید درد خود به خودی می‌شود (۳۴).

در قسمت بعدی مطالعه اثرات مهار گیرنده های بتا-آدرنرژیک در ناحیه قشر پری‌فرونتال بر میزان سطح گلوتاتیون (مارکر آنتی اکسیدانت) و مالون دی‌آلدهید (مارکر اکسیدان) و نیز میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که استرس و تزریق پروپرانولول در قشر پری فرونتال سطح گلوتاتیون را تغییر نداد ولی در گروه استرس به تنهایی سطح مالون دی‌الدهید و کاتالاز کاهش یافت. از طرفی مهار گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک در قشر پری‌فرونتال سبب افزایش میزان سطح مالون دی‌الدهید و کاتالاز گردید، که نشان می‌دهد مهار گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک در قشر پری فرونتال میزان سطح ترکیبات اکسیدان افزایش داده است. در این راستا مطالعات زیادی نشان داده‌اند که استرس به عنوان یک کاتالیزور برای تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در مغز عمل می‌کند. به عبارتی استرس اکسیداتیو در پاسخ به استرس و در پاتوژنز بیماری‌های عصبی و روانی نقش دارد (۳۵).

سیستم آدرنرژیک سمپاتیک نقش اصلی را در سیگنال‌دهی استرس ایفا می‌کند و استرس اغلب با افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال مرتبط است. تعادل بین تولید گونه‌های اکسیژن فعال و فعال شدن سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی برای کنترل هموستاز سلولی بسیار مهم است. گونه‌های اکسیژن فعال نقش مهمی در فرآیندهای سیگنالینگ ایفا می کند، اما تولید بیش از حد آن‌ها باعث ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. در واقع، گونه‌های اکسیژن فعال می‌تواند عملکردهای سلولی را تنظیم کند، به عنوان مثال، در طول فرآیندهای ایمنی و التهابی، در نتیجه تولید بیش از حد آن‌ها باعث آسیب به اجزای سلولی، از جمله DNA، پروتئین ها و لیپیدها می‌شود، به ویژه زمانی که با فعالیت ناکافی آنزیم آنتی اکسیدانی رخ دهد. سیستم سمپاتیک آدرنرژیک نقش اساسی در توانایی واکنش سریع به انواع مختلف تهدیدات دارد (۳۶).

تحریک مسیرهای عصبی از هسته لوکوس سرلئوس به کورتکس و شکنج قدامی (مسیرهای صعودی این هسته به کورتکس) باعث افزایش حساسیت نورون‌ها و احساس درد می‌شود (۳۷). بنابراین، تحریک سیستم آدرنرژیک در نواحی مختلف سیستم عصبی مرکزی (مسیرهای نزولی به نخاع و صعودی به کورتکس) اثرات پیچیده‌ای در پردازش اطلاعات درد دارد. لذا، مطالعات بیشتری برای شفاف سازی نقش گیرنده های آدرنرژیک در نواحی مختلف سیستم عصبی مرکزی مورد نیاز است. قرار گرفتن در معرض استرس غیرقابل کنترل باعث از بین رفتن دندریت‌ها در قشر پری فرونتال می‌شود. همچنین قرار گرفتن در معرض استرس غیرقابل کنترل حاد سبب آزادسازی سطوح بالایی از کاتکول آمین در قشر پری فرونتال می شود، که مسیرهای سیگنالینگ کلسیم-cAMP را فعال می کند و آن‌ها نیز سبب باز شدن کانال‌های پتاسیم شده، و به دنبال آن ارتباطات سیناپسی و فعالیت نورون‌ها کاهش می‌یابد (۳۸). درد نوروپاتیک باعث ایجاد اختلال نورآدرنرژیک می‌شود که نورون‌های لوکوس سرولئوس که به قشر می‌روند فعالیت، متابولیسم و انتقال نورآدرنرژیک افزایش یافته و همچنین حساسیت گیرنده‌های آلفا ۲-آدرنرژیک زیاد می‌شود (۳۹). در نتایج گروه کنترل پروپرانول با اینکه استرس داده نشده است مارکرهای استرس اکسیداتیو افزایش یافت که دلیل آن ممکن است انجام پروسه جراحی باشد ولی مطالعات بیشتری نیاز است تا علت این افزایش مارکرهای استرس اکسیداتیو به دلیل تزریق پروپرانولول مشخص گردد. مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت بیش از حد سیستم نورآدرنرژیک سبب افزایش فعالیت استرس اکسیداتیو میتوکندری شده که تولید گونه‌های فعال اکسیژن را افزایش می‌هد و باعث ایجاد سیگنال‌های نابجای سلولی و در نهایت منجر به مرگ سلول‌های عصبی می‌شود (۴۰).

نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه حاضر تاییدی بر نقش گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک در قشر پری فرونتال که می‌توانند در بی دردی ناشی از استرس نقش داشته باشد. علاوه براین، به نظر می‌رسد که بتا-آدرنرژیک در قشر پری فرونتال تعدیل فاکتورهای اکسیدان را میانجی‌گری می‌کنند و مهار این رسپتورها در این ناحیه مغز تولید ترکیبات استرس اکسیداتیو را تحت تاثیر قرار دهد. به عبارتی در مطالعه حاضر مهار گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک با پروپرانولول در قشر پری فرونتال بی دردی ناشی از استرس شنای اجباری را کاهش داد و تولید ترکیبات اکسیدان (مالون دی الدهید و کاتالاز) را افزایش داد.

نکات بالینی کاربردی برای جوامع نظامی

- گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک در قشر پری فرونتال، می‌تواند سبب تعدیل بی‌دردی ناشی از صدمات جنگی در شرایط استرس در نیروهای نظامی گردد.

تشکر و قدردانی: نویسندگان این طرح از آزمایشگاه مرکز تحقیقات علوم اعصاب و همچنین دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) کمال تشکر را دارند. ایده اصلی، طراحی و نحوه انجام مراحل مختلف این پژوهش توسط سرپرست و نویسنده مسئول طرح (غ.ح.م) ارائه شده است.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Bui E, Blackburn AM, Brenner LH, Laifer LM, Park ER, Fricchione GL, et al. Military and veteran caregivers' perspectives of stressors and a mind-body program. Issues in Mental Health Nursing. 2018;39(10):850-7. doi:10.1080/01612840.2018.1485796
2. Yeager DS, Bryan CJ, Gross JJ, Murray JS, Krettek Cobb D, HF Santos P, et al. A synergistic mindsets intervention protects adolescents from stress. Nature. 2022;607(7919):512-20. doi:10.1038/s41586-022-04907-7
3. Sheng JA, Bales NJ, Myers SA, Bautista AI, Roueinfar M, Hale TM, et al. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis: development, programming actions of hormones, and maternal-fetal interactions. Frontiers in Behavioral Neuroscience. 2021;14: 601939. doi:10.3389/fnbeh.2020.601939
4. Bruehl S, Morris MC, Al'Absi M. Stress-induced analgesia: an evaluation of effects on temporal summation of pain and the role of endogenous opioid mechanisms. Pain Reports. 2022;7(2):e987. doi:10.1097/PR9.0000000000000987
5. Butler RK, Finn DP. Stress-induced analgesia. Progress in neurobiology. 2009;88(3):184-202. doi:10.1016/j.pneurobio.2009.04.003
6. Hugues S, Deschaux O, Garcia R. Postextinction infusion of a mitogen-activated protein kinase inhibitor into the medial prefrontal cortex impairs memory of the extinction of conditioned fear. Learning & Memory. 2004;11(5):540-3. doi:10.1101/lm.77704
7. Zhou H, Martinez E, Lin HH, Yang R, Dale JA, Liu K, et al. Inhibition of the prefrontal projection to the nucleus accumbens enhances pain sensitivity and affect. Frontiers in Cellular Neuroscience. 2018; 12:240. doi:10.3389/fncel.2018.00240
8. Ong WY, Stohler CS, Herr DR. Role of the prefrontal cortex in pain processing. Molecular Neurobiology. 2019;56(2):1137-66. doi:10.1007/s12035-018-1130-9
9. Pacak K, Palkovits M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. Endocrine Reviews. 2001; 22(4):502-48. doi:10.1210/edrv.22.4.0436
10. Ross JA, Van Bockstaele EJ. The locus coeruleus-norepinephrine system in stress and arousal: unraveling historical, current, and future perspectives. Frontiers in Psychiatry. 2021;11: 601519. doi:10.3389/fpsyt.2020.601519
11. Taylor BK, Westlund KN. The noradrenergic locus coeruleus as a chronic pain generator. Journal of Neuroscience Research. 2017;95(6):1336-46. doi:10.1002/jnr.23956
12. Zhang Z, Cordeiro Matos S, Jego S, Adamantidis A, Seguela P. Norepinephrine drives persistent activity in prefrontal cortex via synergistic alpha1 and alpha2 adrenoceptors. PLoS One. 2013;8(6): e66122. doi:10.1371/journal.pone.0066122
13. Rosen SG, Supiano MA, Perry TJ, Linares OA, Hogikyan RV, Smith MJ, et al. Beta-adrenergic blockade decreases norepinephrine release in humans. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 1990;258(6):999-1005. doi:10.1152/ajpendo.1990.258.6.E999
14. Strobel C, Hunt S, Sullivan R, Sun J, Sah P. Emotional regulation of pain: the role of noradrenaline in the amygdala. Science China Life Sciences. 2014;57:384-90. doi:10.1007/s11427-014-4638-x
15. Kim E, Zhao Z, Rzasa JR, Glassman M, Bentley WE, Chen S, et al. Association of acute psychosocial stress with oxidative stress: Evidence from serum analysis. Redox Biology. 2021;47:102138. doi:10.1016/j.redox.2021.102138
16. Meftahi GH, Jangravi Z, Taghdir M, Sepandi M, Bahari Z. Micro-injection of propranolol within basolateral amygdala impaired fear and spatial memory and dysregulated evoked responses of CA1 neurons following foot shock stress in rats. Brain Research Bulletin. 2021;177:12-21. doi:10.1016/j.brainresbull.2021.09.007
17. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6th ed. San Diego, CA: Academic Press; 2006.
18. Allchorne AJ, Broom DC, Woolf CJ. Detection of cold pain, cold allodynia and cold hyperalgesia in freely behaving rats. Molecular Pain. 2005;1:1744-8069. doi:10.1186/1744-8069-1-36
19. Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. Analytical Biochemistry. 1969;27(3):502-22. doi:org/10.1016/0003-2697(69)90064-5
20. Kei S. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clinica Chimica Acta. 1978;90(1):37-43. doi:10.1016/0009-8981(78)90081-5
21. Aebi H. Catalase in vitro Methods Enzymol. 1984;105:121-6. doi:10.1016/S0076-6879(84)05016-3
22. Carrive P, Churyukanov M, Le Bars D. A reassessment of stress-induced "analgesia" in the rat using an unbiased method. PAIN. 2011;152(3):676-86. doi:10.1016/j.pain.2010.12.019
23. Perez-Cruz C, Simon M, Flügge G, Fuchs E, Czéh B. Diurnal rhythm and stress regulate dendritic architecture and spine density of pyramidal neurons in the rat infralimbic cortex. Behavioural Brain Research. 2009;205(2):406-13. doi:10.1016/j.bbr.2009.07.021
24. Shansky RM, Morrison JH. Stress-induced dendritic remodeling in the medial prefrontal cortex: Effects of circuit, hormones and rest. Brain Research. 2009;1293:108-13. doi:10.1016/j.brainres.2009.03.062
25. Perlaki G, Orsi G, Schwarcz A, Bodi P, Plozer E, Biczo K, et al. Pain-related autonomic response is modulated by the medial prefrontal cortex: An ECG–fMRI study in men. Journal of the Neurological Sciences. 2015;349(1-2):202-8. doi:10.1016/j.jns.2015.01.019

26. Kummer KK, Mitrić M, Kalpachidou T, Kress M. The medial prefrontal cortex as a central hub for mental comorbidities associated with chronic pain. International Journal of Molecular Sciences. 2020;21(10):3440. doi:10.3390/ijms21103440
27. Valentino RJ, Van Bockstaele E. Convergent regulation of locus coeruleus activity as an adaptive response to stress. European Journal Pharmacology. 2008;583(2-3):194-203. doi:10.1016/j.ejphar.2007.11.062
28. Chu KL, Xu J, Frost J, Li L, Gomez E, Dart MJ, et al. A selective α 2 B adrenoceptor agonist (A-1262543) and duloxetine modulate nociceptive neurones in the medial prefrontal cortex, but not in the spinal cord of neuropathic rats. European Journal of Pain. 2015;19(5):649-60. doi:10.1002/ejp.586
29. Kawasaki Y, Kumamoto E, Furue H, Yoshimura M. Alpha 2 adrenoceptor-mediated presynaptic inhibition of primary afferent glutamatergic transmission in rat substantia gelatinosa neurons. Anesthesiology. 2003;98(3):682-9. doi:10.1097/00000542-200303000-00016
30. Morris LS, McCall JG,) Charney DS, Murrough JW. The role of the locus coeruleus in the generation of pathological anxiety. Brain and Neuroscience Advances. 2020;4:2398212820930321. doi:10.1177/2398212820930321
31. Uchiyama S, Yoshihara K, Kawanabe R, Hatada I, Koga K, Tsuda M. Stress-induced antinociception to noxious heat requires α1A-adrenaline receptors of spinal inhibitory neurons in mice. Molecular Brain. 2022;15(1):6. doi:10.1186/s13041-021-00895-3
32. Zhang Z, Cordeiro Matos S, Jego S, Adamantidis A, Seguela P. Norepinephrine drives persistent activity in prefrontal cortex via synergistic alpha1 and alpha2 adrenoceptors. PLoS One. 2013;8(6):e66122. doi:10.1371/journal.pone.0066122
33. Taylor BK, Westlund KN. The noradrenergic locus coeruleus as a chronic pain generator. Journal of Neuroscience Research. 2017;95(6):1336-46. doi:10.1002/jnr.23956
34. Hirschberg S, Li Y, Randall A, Kremer EJ, Pickering AE. Functional dichotomy in spinal-vs prefrontal-projecting locus coeruleus modules splits descending noradrenergic analgesia from ascending aversion and anxiety in rats. elife. 2017;6:e29808. doi:10.7554/eLife.29808
35. Ro JY, Zhang Y, Asgar J, Shou H, Chung MK, Melemedjian OK, et al. Forced swim stress exacerbates inflammation-induced hyperalgesia and oxidative stress in the rat trigeminal ganglia. Frontiers in Pain Research. 2024;5:1372942. doi:10.3389/fpain.2024.13729422
36. Corbi G, Conti V, Russomanno G, Longobardi G, Furgi G, Filippelli A, et al. Adrenergic signaling and oxidative stress: a role for sirtuins?. Frontiers in Physiology. 2013;4:324. doi:10.3389/fphys.2013.00324
37. Zhang X, Bai X. New therapeutic uses for an alpha2 adrenergic receptor agonist–dexmedetomidine in pain management. Neuroscience Letters. 2014;561:7-12. doi:10.1016/j.neulet.2013.12.039
38. Woo E, Sansing LH, Arnsten AF, Datta D. Chronic stress weakens connectivity in the prefrontal cortex: architectural and molecular changes. Chronic Stress. 2021;5:24705470211029254. doi:10.1177/24705470211029254
39. Alba-Delgado C, Llorca-Torralba M, Horrillo I, Ortega JE, Mico JA, Sánchez-Blázquez P, et al. Chronic pain leads to concomitant noradrenergic impairment and mood disorders. Biological Psychiatry. 2013;73(1):54-62. doi:10.1016/j.biopsych.2012.06.033
40. Evans AK, Defensor E, Shamloo M. Selective vulnerability of the locus coeruleus noradrenergic system and its role in modulation of neuroinflammation, cognition, and neurodegeneration. Frontiers in Pharmacology. 2022;13:1030609. doi:10.3389/fphar.2022.1030609