

اثر دوره های مختلف فعالیت بدنی بر درد حاد و مزمن در حضور و غیاب نالوکسان

مهناز کسمتی، علیرضا قدیری طادی، رحیم چینی پرداز

دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، بخش زیست شناسی

چکیده

برخی شواهد نشان داده اند فعالیت بدنی از طریق افزایش اوپیوئیدها، اثرات مفیدی در تسکین درد بعضی بیماریها اعمال می نماید. در مطالعه حاضر اثر نالوکسان و دوره های مختلف فعالیت بدنی بر پاسخ به درد حاد و مزمن ناشی از تست فرمالین در موش صحرایی نر بالغ مورد بررسی قرار گرفته است. فعالیت بدنی توسط نقاله دوار در گروههای گوناگون و به مدت یک، دو و چهار هفته، روزانه ۱۵ دقیقه اعمال شد و دوره پاسخگویی به درد در دو فاز زمانی متفاوت پس از تزریق فرمالین (در ۵ دقیقه اول پس از تزریق = درد حاد و ۲۵ الی ۴۵ دقیقه پس از تزریق = درد مزمن) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد فعالیت بدنی اثر پیشگیری و تسکین دهنده درد داشته و دوره پاسخگویی به درد حاد و درد مزمن، بطور وابسته به مدت فعالیت بدنی، کاهش می یابد و اثر تسکینی بر درد مزمن بیشتر است. نالوکسان (به میزان ۳ میلی گرم بر کیلوگرم، داخل صفاقی) به عنوان آنتاگونیست اوپیوئیدی قادر به کاهش اثر تسکین دهنده دوره های متفاوت فعالیت بدنی بویژه در رابطه با درد مزمن می باشد و در رابطه با درد حاد اثر قابل ملاحظه را نشان نمی دهد. بدین ترتیب به نظر می رسد که اثر تسکین دهنده فعالیت بدنی می بایست لاقط بخشی از طریق فعال کردن سیستم اوپیوئیدهای درون زاد باشد زیرا نالوکسان بعنوان آنتاگونیست گیرنده های اوپیوئیدی (مو، دلتا و کاپا) احتمالاً با مهار اثرات این ترکیبات داخلی باعث افزایش درد مزمن شده و ایجاد پردردی می کند. نقش احتمالی سایر سیستم های نوروشیمیایی قابل بررسی می باشد.

واژه های کلیدی : درد، فعالیت بدنی، تست فرمالین، نالوکسان.

مقدمه

جهت درمان مبتلایان به انواع دردها از جمله دردهای عضلانی و ستون فقرات توصیه شده است [۲، ۳]. نیز نشان داده اند فعالیتهای بدنی مناسب می تواند با تحت الشعاع قرار دادن سیستم ایمنی بدن از طریق افزایش تعداد و فعالیت سیتولیتیکی سلولهای کشنده طبیعی بدن و افزایش اثرات کموتاکتیک مونوسیتها، در تسکین دردهای ناشی از

مطالعات نشان داده است که دردهای مزمن از مشکلات اصلی سلامت عمومی جوامع محسوب می شود و می تواند هزینه های فردی، اقتصادی و اجتماعی زیادی به بار آورد [۱]. علت بسیاری از دردهای مزمن ناشی از زندگی ماشینی و کم تحرکی می باشد. بنابراین تمرینات و فعالیتهای بدنی مناسب و مداوم بعنوان عامل یاری دهنده،

بیماری‌های عفونی نیز دخالت داشته باشد [۴].

برخی گزارشها نشان داده است ورزش می‌تواند اثرات بسیار مثبتی بر وی‌تمامی بدن داشته باشد. بطوریکه بعضی از حالات بیماری گونه که بصورت عمومی دیده می‌شوند مانند فشار خون بالا، فشارها و ضربات مختلف روحی و جسمی و دیابت ملیتوس، می‌توانند توسط فعالیتهای بدنی مناسب بهبود یابند. ضمن اینکه اقدام به انجام اینگونه فعالیتهای می‌تواند عادات و روشهای زندگی را که برای خیلی از مردم سخت و طاقت فرسا شده است را تغییر دهد [۵].

با توجه به شواهد زیادی که مؤید اثرات قابل ملاحظه فعالیتهای بدنی بر انواع دردها [۳و۶] می‌باشد، پی بردن به مکانیسمهای احتمالی آن می‌تواند روشن کننده ابهامات کنونی در خصوص درد نیز باشد. برخی تحقیقات علت تأثیر مطلوب فعالیتهای بدنی را افزایش میزان اوپیوئیدهای درون مغزی مانند بتا اندورفین [۷] که نقش آنها در تسکین درد اثبات شده، می‌دانند [۸]. نشان داده شده دو ساعت پس از درویدن ۲۰ دقیقه ای تغییراتی در سیستم اوپیوئیدی درون زاد ایجاد خواهد شد بطوریکه میزان mRNA پری پروانکفالین در استریاتوم ۹۰ درصد افزایش می‌یابد [۹]. از سوی دیگر نشان داده شده پس از قدم زدن سریع و قوی سطح بتا اندورفین [۷و۱۰] در ماده خاکستری دور قنات سیلویوس و هسته قوسی افزایش می‌یابد و ممکن است بی‌دردی ناشی از استرس مربوط به این امر باشد [۱۰]. با توجه به شواهد فوق روشن نیست که آیا انجام فعالیتهای بدنی قبل از ایجاد درد می‌تواند به نوعی در بالا بردن میزان آستانه تحمل درد دخیل باشد و یا به عبارت دیگر نقش پیشگیری کننده دارد یا خیر؟ و در صورتیکه این فعالیتهای افزایش یابند با تجویز داروهای مؤثر بر سیستم اوپیوئیدی می‌توان به تغییر فعالیت این سیستم در هنگام انجام فعالیت بدنی پی برد؟ در این تحقیق بر آن شدیم که نقش دوره‌های مختلف فعالیت بدنی را در دردهای حاد و مزمن ناشی از فرمالین ۲/۵ درصد که

یکی از مناسبترین مدل‌های بررسی و ارزیابی دردهای حاد و مزمن می‌باشد [۱۱] در موش صحرانی نر مورد بررسی قرار داده و با تجویز داروهای مؤثر بر سیستم اوپیوئیدی (مانند نالوکسان به عنوان آنتاگونیست سیستم اوپیوئیدی) [۱۲] به چگونگی نقش این سیستم پی ببریم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از موشهای صحرایی نر بالغ با وزن ۲۸۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در گروههای ۷ تایی و تحت شرایط یکسان با دوره روشنایی ۱۲ ساعته که با دستگاه تنظیم کننده کنترل میشد، نگهداری شدند. آب و غذا به میزان کافی در اختیار آنها قرار می‌گرفت. جهت انجام فعالیت بدنی از نقاله دوار استفاده شد که توسط متخصصین دانشکده مهندسی دانشگاه شهید چمران طراحی و ساخته شد و از نظر ساختاری و عملی ترکیبی از دو نقاله آرمند [۱۳] و لاندبرگ [۱۴] بود. ابتدا حیوان را به مدت چند دقیقه در محفظه دستگاه نقاله دوار قرار داده می‌شد تا به محیط سازش پیدا کند سپس با روشن کردن دستگاه نقاله دوار با سرعت ۶۰ سانتیمتر بر ثانیه به مدت ۱۵ دقیقه در روز (بین ساعت ۹ صبح تا ۲ بعد از ظهر) به حیوان فعالیت بدنی داده می‌شد [۱۳و۱۵]. دوره‌های مختلف فعالیت بدنی در گروههای یک هفته، دو هفته و چهار هفته [۱۶] اعمال شد. در انتهای دوره فعالیت بدنی در گروههای مختلف جهت بررسی پاسخ به درد، فرمالین ۲/۵ درصد را به میزان ۵۰ میکرولیتر در کف پای راست بصورت زیر جلدی تزریق کرده [۱۱] و سپس حیوان داخل محفظه‌ای قرار گرفت که یک آئینه با زاویه ۴۵ درجه در زیر آن تعبیه شده بود تا از طریق آن وضعیت پای مورد تزریق بخوبی قابل مشاهده باشد. نحوه اندازه گیری میزان درد اینگونه بود که برای انجام هر تست فرمالین ۴۵ دقیقه رفتار پاسخ به درد در حیوان مورد ارزیابی قرار می‌گرفت [۱۲]. این ۴۵ دقیقه به

دو بلوک زمانی تقسیم می شد: بلوک اول بلافاصله پس از زمان تزریق تا انتهای دقیقه ۵ (۵-۰ دقیقه) بوده و مدت زمان بر حسب ثانیه که موش در این مدت صرف لیس زدن یا گزیدن محل تزریق می کرد، بعنوان شاخص درد نوع حاد (فاز یک) محاسبه می گردید. سپس به مدت ۲۰ دقیقه موش درون محفظه آزمون به حال خود رها می شد و سپس بلوک زمانی دوم شروع می شد. نقطه شروع این بلوک دقیقه ۲۵ بعد از تزریق و انتهای آن دقیقه ۴۵ پس از تزریق بود (۴۵-۲۵ دقیقه). در این بلوک نیز مدت زمان بر حسب ثانیه که موش صرف لیس زدن یا گزیدن محل تزریق می کرد به عنوان شاخص درد مزمن (تونیک) محاسبه گردید (فاز دو). در هر یک از گروههای مورد آزمایش (شامل ۷ سر موش) زمانهای محاسبه شده در بلوکهای اول و دوم بصورت میانگین در نظر گرفته می شد.

جهت بررسی سیستم اویپوئیدی، نالوکسان به عنوان آنتاگونیست سیستم اویپوئیدی (آنتاگونیست گیرنده های مو. دلتا و کاپا)، بصورت داخل صفاقی و به میزان ۳ میلی گرم بر کیلوگرم وزن حیوان به فاصله ۲۰ دقیقه قبل از انجام تست فرمالین تزریق می شد. زمان تزریق سالیین و نالوکسان برای گروه کنترل در همان روز انجام تست فرمالین صورت می گرفت و برای گروههای دارای فعالیت بدنی در آخرین روز هر دوره فعالیت، تزریق انجام می شد. تمامی آزمایشات بر روی چهار گروه کلی از موشها انجام گرفت که هر گروه دارای سه زیر گروه دیگر بودند که شامل:

۱- گروه کنترل که فاقد فعالیت بدنی بودند، شامل:

الف - گروه کنترل ۱ که فقط تست فرمالین در آنها انجام شد.

ب - گروه کنترل ۲ که سالیین دریافت کرده سپس مورد تست فرمالین قرار گرفتند.

ج - گروه کنترل ۳ که نالوکسان دریافت کرده و سپس مورد تست فرمالین قرار گرفتند.

۲- گروه آزمایشی دارای یک هفته فعالیت بدنی، شامل: گروه الف - یک هفته فعالیت بدنی و سپس مورد تست فرمالین قرار گرفتند.

گروه ب - یک هفته فعالیت بدنی، دریافت سالیین و سپس مورد تست فرمالین قرار گرفتند.

گروه ج - یک هفته فعالیت بدنی، دریافت نالوکسان و سپس مورد تست فرمالین قرار گرفتند.

۳- گروه آزمایشی دارای دو هفته فعالیت بدنی، شامل:

گروه الف - دو هفته فعالیت بدنی و سپس مورد تست فرمالین قرار گرفتند.

گروه ب - دو هفته فعالیت بدنی، دریافت سالیین و سپس مورد تست فرمالین قرار گرفتند.

گروه ج - دو هفته فعالیت بدنی، دریافت نالوکسان و سپس مورد تست فرمالین قرار گرفتند.

۴- گروه آزمایشی دارای چهار هفته فعالیت بدنی، شامل:

گروه الف - چهار هفته فعالیت بدنی و سپس مورد تست فرمالین قرار گرفتند.

گروه ب - چهار هفته فعالیت بدنی، دریافت سالیین و سپس مورد تست فرمالین قرار گرفتند.

گروه ج - چهار هفته فعالیت بدنی، دریافت نالوکسان و سپس مورد تست فرمالین قرار گرفتند.

جهت مقایسه داده های بدست آمده از گروههای

دوازده گانه، آزمونهای آماری ANOVA one way, t-test (آنالیز واریانس یک طرفه) مورد استفاده قرار گرفت و در

صورت معنی دار بودن از پس آزمون Tukey-Kramer برای بررسی جایگاه اختلاف نیز استفاده شد. $P < 0.05$ بعنوان

حداقل سطح معنی دار بودن در نظر گرفته شد و افزایش سطح معنی داری بصورت افزایش تعداد ستاره در نمودارها

مشخص گردید. در نمودارها معادل کلمه فعالیت بدنی، ورزش ذکر شده است.

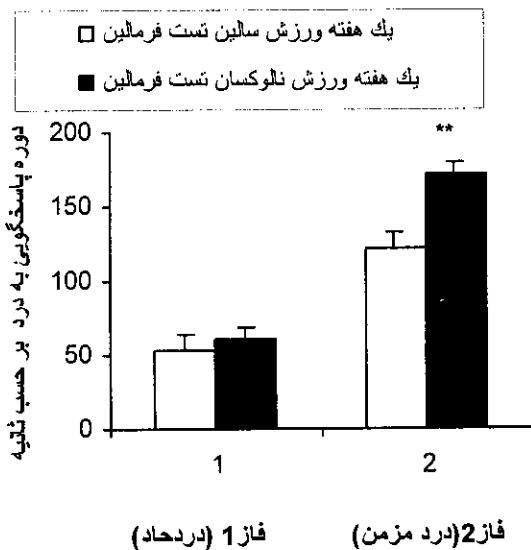
نتایج

الف) نتایج مربوط به اثر دوره های مختلف فعالیت بدنی بر پاسخ به درد حاد و مزمن و مقایسه آن با گروه کنترل:

اثر فعالیتهای بدنی در مدت مختلف بر پاسخ حیوان به دردهای حاد و مزمن ناشی از تزریق فرمالین در نمودار ۱- نشان می دهد که با افزایش فعالیت بدنی دوره پاسخ به درد کمتر می شود. بطوری که آزمون-t در حالت مربوط به درد حاد نشان می دهد گروههای یک هفته، دو هفته و چهار هفته فعالیت بدنی با گروه کنترل (فاقد فعالیت بدنی) به ترتیب با $P < 0.01$ - $P < 0.05$ - $P < 0.001$ دارای اختلاف معنی داری می باشند. آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA (جهت مقایسه بین گروهها) اختلاف معنی داری را بین گروهها نشان داد $F(3, 24) = 29$, $P < 0.0001$. پس آزمون

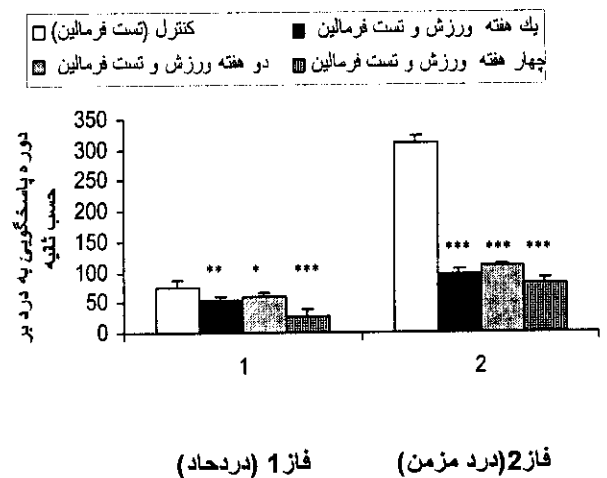
توکی برای بررسی جایگاه اختلاف نشان داد که بجز گروههای ۱ و ۲، ۳ و ۴ بقیه گروهها با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند ($P < 0.05$).

در حالت مربوط به درد مزمن آزمون t نیز نشان داد گروههای یک هفته، دو هفته و چهار هفته فعالیت بدنی با گروه کنترل (فاقد فعالیت بدنی) با $P < 0.001$ دارای اختلاف معنی داری می باشند. آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA اختلاف معنی داری را بین گروهها نشان داد. $F(3, 24) = 57.083$, $P < 0.0001$. پس آزمون توکی برای بررسی جایگاه اختلاف نشان داد که بجز گروه ۲ و ۳ بقیه گروهها با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند ($P < 0.05$). همچنانکه مشاهده می شود کاهش پاسخ درد مزمن به مراتب بیشتر از درد حاد است.



نمودار ۲- اثر نالوکسان (۳ میلی گرم بر کیلوگرم) بر پاسخ به درد حاد (۰-۵ دقیقه) و مزمن (۲۵-۴۵ دقیقه) در گروه یک هفته فعالیت بدنی (ورزش)

میانگین \pm انحراف معیار $P < 0.01$ **



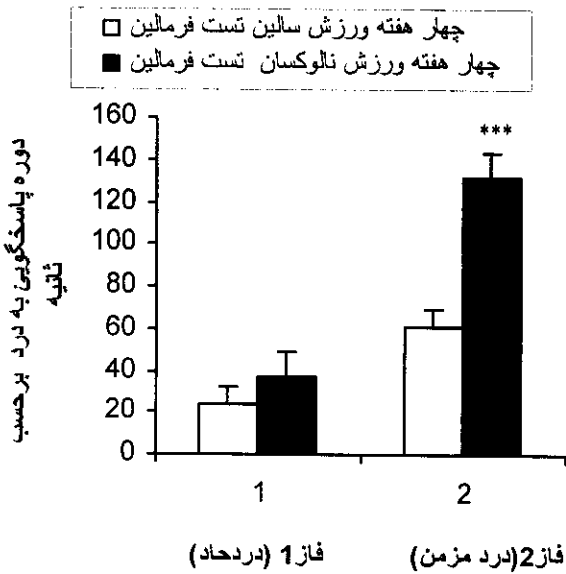
نمودار ۱- اثر دوره های مختلف فعالیت بدنی (ورزش) بر پاسخ به درد حاد (۰-۵ دقیقه) و مزمن (۲۵-۴۵ دقیقه) میانگین \pm انحراف معیار

$P < 0.05$ * $P < 0.01$ ** $P < 0.001$ ****

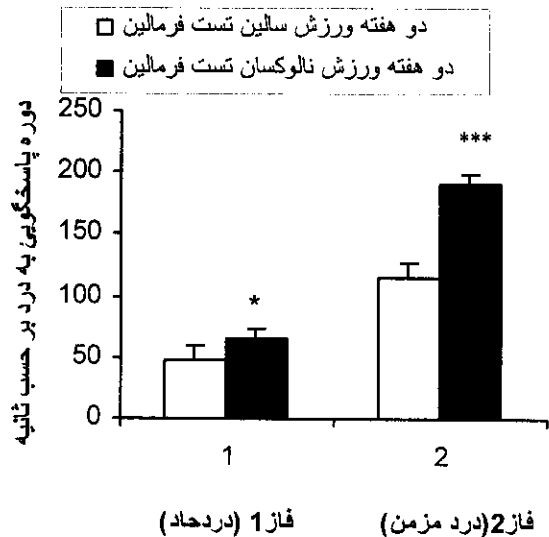
در گروه دو هفته در حالت مربوط به درد حاد، نالوکسان نیز با $P < 0.05$ باعث ایجاد تفاوت معنی دار در دوره پاسخگویی به درد شده است و در حالت مزمن با $P < 0.001$ افزایش بیشتری در دوره پاسخگویی به درد نموده است (نمودار ۳).

در گروه چهار هفته فعالیت بدنی نیز در حالت مربوط به درد حاد نالوکسان تفاوت معنی داری ایجاد نکرده است اما در حالت مربوط به درد مزمن با $P < 0.001$ ، تفاوت معنی داری را در دوره پاسخگویی به درد ایجاد نموده است (نمودار ۴).

ب) نتایج مربوط به تزریق نالوکسان بر پاسخ به درد حاد و مزمن در زمانهای مختلف فعالیت بدنی: اثر تزریق داخل صفاقی نالوکسان ۳ میلی گرم بر کیلو گرم بر دوره پاسخگویی به درد حاد و مزمن در گروههای دارای فعالیت بدنی با زمانهای متفاوت مورد مقایسه قرار گرفته است (در نمودار ۲). آزمون آماری t جفت نشده، در گروه یک هفته در حالت مربوط به درد حاد تفاوت معنی داری نشان نمی دهد اما در حالت مربوط به درد مزمن نالوکسان با افزایش دوره پاسخگویی به درد باعث ایجاد تفاوت معنی دار در سطح $P < 0.01$ می گردد.



نمودار ۴- اثر نالوکسان (۳ میلی گرم بر کیلوگرم) بر پاسخ به درد حاد (۰-۵ دقیقه) و مزمن (۲۵-۴۵ دقیقه) در گروه چهار هفته فعالیت بدنی، میانگین \pm انحراف معیار $P < 0.001$ ***



نمودار ۳- اثر نالوکسان (۳ میلی گرم بر کیلوگرم) بر پاسخ به درد حاد (۰-۵ دقیقه) و مزمن (۲۵-۴۵ دقیقه) در گروه دو هفته فعالیت بدنی (ورزش) میانگین \pm انحراف معیار $P < 0.001$ ***، $P < 0.05$ *

بحث

به درد حاد تغییر قابل ملاحظه ای را ایجاد نمی کند. این نتایج مؤید نتایج تحقیقاتی می باشد که نشان داده اند با انجام ورزش و فعالیت بدنی میزان اویپوئیدهای درون سیستم عصبی مرکزی افزایش می یابد [۶، ۸ و ۲۱] و نیز گزارش شده در فعالیت بدنی مناسب که میزان اکسیژن مورد نیاز بدن با حجم ماکزیمم دریافت می شود، میزان اندروفین های خون افزایش می یابد [۶]. بدین ترتیب اویپوئیدها نه تنها نقش تعدیل کننده پس از اعمال درد دارند بلکه در صورت افزایش قبل از اعمال درد نقش پیشگیری کننده را نیز ایفا می کنند. در خصوص مکانیسم اثر اویپوئیدها نشان داده اند ترکیبات اویپوئیدی داخلی مانند بتاندروفین ها و انکفالین ها از طریق مهار انتقال سیگنالهای درد در ناحیه شاخی خلفی نخاع و یا با مهار آزاد کردن ماده P توسط آورانه‌های اولیه و از طریق درجه کنترل درد باعث کاهش درک درد می گردند [۲۲]. همچنین تحقیقات دیگر مشخص کرده است که در سطح فوق نخاعی یکی از آثار اویپوئیدها بالا بردن آستانه حس درد است [۱۱، ۲۳] و نالوکسان بعنوان آنتاگونیست اویپوئیدها مانع از اثرات ضد دردی آنها می شود.

نکته قابل توجه در این مطالعه تأثیر شگرف فعالیت‌های بدنی در پیشگیری و تحمل درد مزمن ناشی از تست فرمالین می باشد. این نتیجه مؤید نتایج سایر تحقیقات که نشان داده‌اند مرفین بعنوان آگونیست اویپوئیدها در تسکین دردهای مزمن نتیجه بخش تر است، می باشد [۸]. بدین ترتیب فعالیت بدنی احتمالاً با فعال کردن مدارهای نورونی خاص در مناطق ویژه ای از سیستم اعصاب مرکزی و احتمالاً ناحیه خاکستری دور قنات سیلویوس که مرتبط با ساخت و آزاد سازی ترکیبات اویپوئیدی هستند، می تواند در روند درک درد اثر مهاری را اعمال کند [۱، ۲، ۶، ۲۴، ۲۲]. قابل ذکر است که نقش فعالیت بدنی در تغییر پارامترهای خونی و قلبی و عروقی و فعالیت سایر سیستم‌های

با توجه به نقش قابل ملاحظه و وابسته به زمان فعالیت بدنی بر پاسخ به درد حاد و مزمن که در نتایج ارائه شد، در می یابیم که القاء فعالیت بدنی راهی مناسب و بی خطر در پیشگیری و تسکین درد می باشد. در رابطه با اثرات مثبت و سودمند فعالیت‌های بدنی مناسب بر بدن در حالت طبیعی و در بسیاری از اختلالات و بیماریها گزارشات و تحقیقات زیادی صورت گرفته است [۳، ۴ و ۸] و در حال حاضر و طی سالهای اخیر در بسیاری از بیمارستانها و کلینیک های کشورهای پیشرفته ورزش و فعالیت بدنی به عنوان روش مناسب با تأثیرات شگرف جهت درمان بیماران برگزیده شده است.

اثر وابسته به زمان فعالیت بدنی بر دوره پاسخگویی به درد حاد و مزمن (بویژه درد مزمن) می تواند حاکی از تغییر در ترشح و فعالیت عوامل کنترل کننده درد در سیستم عصبی مرکزی باشد. تحقیقات مختلف نشان داده است که سیستم های نوروشیمیائی مختلف شامل سیستمهای اویپوئیدی، سروتونرژیک، آدرنرژیک، گابا ارژیک و غیره از جمله مهمترین عوامل کنترل کننده و تنظیم درک درد می باشند [۱۹-۱۷]. نشان داده شده فعالیت برخی از این سیستم ها تحت تأثیر عوامل و شرایط گوناگون مانند خواب، ورزش، هیپنوتیزم، تحریک الکتریکی و غیره تغییر می یابد [۲۰]. نتایج حاصل از بررسی نقش سیستم اویپوئیدی در درد حاد و مزمن ناشی از تست فرمالین در حضور و عدم حضور فعالیت بدنی نشان داد که یکی از کاندیداهای واسطه گر در پیشگیری و تسکین دردهای مزمن، این سیستم می باشد. زیرا همچنانکه در نتایج نشان داده شد، تزریق نالوکسان بعنوان آنتاگونیست سیستم اویپوئیدی با جلوگیری از اثر تسکینی اویپوئیدها، باعث افزایش قابل ملاحظه ای در دوره پاسخگویی به درد مزمن می گردد در حالیکه در پاسخگویی

نادیده گرفت. قطعا جهت روشن شدن دخالت سایر پارامترها به بررسی و تحقیق بیشتری نیاز می باشد.

نوروشیمیایی و عصبی مانند سیستم سمپاتیکی [۲۱] را که به نوعی می تواند در تغییر درک درد مؤثر باشد را نمی توان

منابع

- [1] Crombie, I.K., Davies, H.T.O., Macrae, W.A., The epidemiology of chronic pain: Time for new directions, *Pain.*, 57 (1994) 1-3.
- [2] Henry, J.L., Yaspal, K., Pictcher, G.M., Coderre, T.J., Physiological evidence that the interphase in the formalin test is due to active inhibition. *Pain*, 82: 1 (1999) 57 – 63.
- [3] Protas, E. J., Physical activity and low back pain. *Pain An Updated Review*, (1999) 145-151.
- [4] Gannon, G.A., Rhind, S.G., Suzui, M., β -endorphin and natural killer cell cytolytic activity during prolonged exercise. is there a connection? *Am. J. Physiol.*, 275 (1998) (6 pt 2) R 1725- 34.
- [5] Silverthorn, D. U., *Human Physiology An Integrated Approach*. Chapt 23. Prentice Hall, (1998).
- [6] Heyer, G.R., Hornstein, O.P., Recent studies of cutaneous nociception in atopic and non-atopic subjects, *J. Dermatol.*, 26: 2 (1999) 77- 86.
- [7] Marquet, P., Lac, G., Chassain, A.P., Habrioux, G., Galen, F.X., Dexamethasone in resting and exercising men. I. Effect on bioenergetics, minerals, and related hormones. *J. Appl. Physiol.*, 87 (1999) 175-182.
- [8] Goldfarb, A. H. and Jamurtas, A. Z., β -endorphin response to exercise, An Update, *Sports Med.*, 24:1 (1997) 8-16.
- [9] Liste I., Rogdriguez-Pallares J., Carunco H.J., Labandeira- Garcia J.L. Locomotor-activity-induced changes in striatal levels of preprotachykinin and preproenkephalin mRNA. Regulation by the dopaminergic and glutamatergic systems, *Mol. Brain. Res.*, 70 (1999) 74-83.
- [10] Nakagawasai, T., Tadano, T., Tan-No, K., Nijjima, F., Sakurada, S., Endo, Y., Kisara, K., Changes β -endorphin and stress-induced analgesia in mice after exposure to forced walking stress, *Exp. Clin. Pharmacol.*, 21 (1999) 471-476.
- [11] Jolsen, A., Geir Berge, O., Hunskaar, S., Rosland, J.H., and Hole, K., The formalin test: an evaluation of the method. *Pain.*, 51 (1992) 5-17.
- [12] Zarrindast, M.R., Pazouki, M. and Nassiri-Rad, S. Involvement of cholinergic and opioid receptor mechanisms in nicotine induced antinociception, *Pharmacol. & Toxicol.*, 81 (1997) 209 – 213.
- [13] Armand, A.S., Launay, T. Effect of eccentric treadmill running on mouse soleus: degeneration/regeneration studied with Myf-5 and Myo D probes, *Acta. Physiol. Scand.*, 179: 1 (2003) 75-84.
- [14] Landberg, T., Mailhot, J.D., Brainerd, E.L., Lung ventilation during treadmill locomotion in a terrestrial turtle, *J. Exp. Biol.*, 1: 206 (2003) 391-404.
- [15] Song, W.H., Sung, I.Y., Kim, Y.J., Yoo, J.y., Treadmill training with partial body weight support in children with cerebral palsy, *Arch. Phy. Med. Rehabil.*, 84 (9) (2003) E2.
- [16] Yang, Y.R., Wang, R.Y., Wang, P.S., Yu, S.M. Treadmill training effects on neurological outcome after middle cerebral artery occlusion in rats, *Can. J. Neurol. Sci.*, 30: 3 (2003) 252-8.
- [17] Brain, S.D., Williams, T.J., Inflammatory oedema induced by synergism. *Br. J. Pharmacol.*, 86 (1985) 855-860.
- [18] Inase, M.H., Nakahama, T., Otsjik, and Fang, J., Analgesic effect of serotonin

- microinjection in to nucleus raphe magnus and nucleus raphe dorsalis evaluated by the monosodium urate (MSU) a tonic pain model in rat. *Brain Res.*, 426(1987) 205 – 211.
- [19] McMurray, R.G., Forsythe, W.A., Mar, M.H., Hardy, C.J., Exercise intensity related responses of β -endorphin and catecholamines. *Med. Sci. Sport Exerc.*, 19 (1987) 570-574.
- [20] Brownridge, P., *Pain relief and anaesthesia in childbirth*, Ashwood Medical Library., (1994) 78-89.
- [21] Athanasios, Z., Jamurtas, A.H., Goldfarb, S.C.C., Sudhir H., Chris M., β -endorphin infusion during exercise in rats: blood metabolic effects, *Med. & Sci. in Sport & Exerc.*, (1999) 1570-1575.
- [22] Cheng, Z.F., Fields, H.L., and Heinricher, M.M., Morphine micro injected in to the Periaqueductal gray has differential effects on 3 classes of medullatory neurons. *Brain Res.*, 375 (1986) 57 – 67.
- [23] Vasko, M.R.I.W., Pang, M., Involvement of 5-Hydroxy tryptamine containing neurons in anti-nociception produced by injection of morphine in to nucleus raphe magnus or on to spinal cord. *Brain. Res.*, 306(1984) 341-48.
- [24] Von Korff, M. Dworkin, S.F. and Resche, L. L., Graded chronic pain status: an epidemiologic evaluation. *Pain.*, 40 (1990) 279-291.