

اثر استرس سروصدا در دوره جنینی بر آستانه درد در موش صحرایی

دکتر علیرضا سرکاکي، اژدر حیدری ۲ و دکتر محمدرضا شهرکی ۳

خلاصه

تحقیقات نشان داده‌اند که مواجهه با انواع استرس‌های فیزیکی - محیطی در دوران جنینی، پاسخ‌های رفتاری موجودات زنده به محرک‌های مختلف محیط زندگی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. به علاوه نقش هورمون‌های جنسی به عنوان عوامل مؤثر در این گونه رفتارها تا حدی به اثبات رسیده است. حس درد هم یکی از رفتارهایی است که شدت احساس آن در اثر اعمال استرس می‌تواند دستخوش تغییر گردد. در این مطالعه استرس متناوب دوره‌ای یک ساعته سر و صدا با شدت ۹۰-۱۲۰ دسی‌بل و فرکانس پایین از نوع White noise در هنگام استراحت شبانه به موش‌های بارداری نژاد NMRI با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم اعمال شد. در دوره‌های زمانی ۳-۲ دقیقه‌ای شدت و فرکانس صدا در محدوده حداقل و حداکثر تغییر داده می‌شد. به منظور اندازه‌گیری آستانه درد، مقدار ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد به صورت زیر جلدی در کف پنجه راست فرزندان بالغ موش‌های گروه شاهد و استرس دیده نر و ماده تزریق گردید. کل زمان آزمایش شامل دو مرحله درد حاد (۱۵-۰) و دردمزن (۵۰-۲۰) بود. هر ۱۵ ثانیه یک بار بر اساس وضعیت رفتاری امتیاز مناسب برای احساس شدت درد حیوانات منظور گردید. نتایج نشان داد که استرس سر و صدا در دوران جنینی عمدتاً آستانه درد مزمن (تونیک) را تحت تأثیر قرار داده و کمتر روی آستانه درد فازیکی مؤثر می‌باشد. همچنین مقایسه آستانه درد در فرزندان نر و ماده بالغ شده نشان داد که آستانه درد تونیک موش‌های ماده استرس دیده نسبت به موش‌های نر استرس دیده و نیز نسبت به موش‌های نر و ماده شاهد به طور معنی‌داری بالا رفته است. با توجه به یافته‌های این تحقیق می‌توان اظهار نظر کرد که استرس سرو صدا در دوران جنینی می‌تواند آستانه درد تونیک را بالا ببرد که احتمالاً از طریق افزایش آزاد سازی مواد مخدر درون‌زا یا فعال‌تر کردن سیستم عصبی کنترل کننده درد موجب کم‌دردی (هیپوآلژزی) می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: استرس سر و صدا، دوره جنینی، آستانه درد، آزمون فرمالین، موش صحرایی

مقدمه

امروزه مطالعه پیرامون استرس و عوارض ناشی از آن اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است، زیرا استرس‌های حاد و مزمن یکی از مشکلات بهداشت روانی جوامع بشری می‌باشند. استرس خصیصه بارز، طبیعی و غیرقابل اجتناب زندگی است و باعث هیجان می‌گردد (۱۴،۴). تحقیقات نشان داده‌اند که انواع استرس‌های فیزیکی - محیطی اعمال شده در دوران جنینی پاسخ‌های رفتاری بعدی موجودات زنده را تحت تأثیر قرار می‌دهند. بعلاوه نقش هورمون‌های جنسی در این رفتارها توسط برخی تحقیقات تأیید شده است (۲۶،۱۷،۷،۱). برخی عوامل استرس‌زا که در حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل: نور شدید، گرمای سوزاننده، شوک الکتریکی، سر و صدا، شنا در آب سرد، بی‌حرکتی و استرس جنسی هستند (۲۳،۱۸،۱۲). اعمال استرس در دوره بارداری می‌تواند رشد و تکامل فیزیولوژیکی، رفتار و همچنین اعمال تولید مثلی فرزندان را در سنین بلوغ تحت تأثیر قرار دهد. در فرزندان که در دوره جنینی در معرض استرس بوده‌اند علائم کاهش وزن، تضعیف سیستم ایمنی، تغییر در ترشح نوروترانسمیترها نظیر دوپامین، سروتونین، گابا و نوراپی نفرین گزارش شده است. به علاوه مقادیر بتا - اندورفین و متانکفالین هیپوتالاموس هم در این فرزندان افزایش می‌یابد. عمده این اثرات به واسطه آزادسازی گلوکوکورتیکوئیدها و آندروژن‌ها از طریق تحریک محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - آدرنال انجام می‌شود (۱۱،۱۰). برخی مطالعات هم نشان داده‌اند که استرس می‌تواند باعث بی‌دردی شده که میزان و ماهیت آن بستگی به نوع، مدت، سن، جنس و روش اندازه‌گیری آستانه درد دارد (۲۰). یک راه مناسب برای اندازه‌گیری آستانه درد، استفاده از آزمون فرمالین

است. محرک دردزا در این روش گذرا و کوتاه مدت نبوده، بلکه تا ۹۰ دقیقه به طول می‌انجامد. لذا رفلکس‌ها و رفتار ایجاد شده برای تسکین درد، قادر به رهانیدن حیوان از درد نمی‌باشند. این ویژگی بادردهای مزمن و رنج دهنده انسان مشابهت دارد (۲۵،۱۹،۸،۶).

سر و صدا یکی از عوامل استرس‌زای محیطی است که مسیرهای عصبی - هورمونی را فعال می‌سازد (۱۲،۷). سر و صدا صوت ناخواسته‌ای است که شنونده تمایلی به آن ندارد و شکلی از آلودگی است که کیفیت زندگی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. سر و صدا بر روی سیستم شنوایی، خواب و توجه اثر گذاشته و در ایجاد اضطراب، ناتوانی جنسی، بیماری‌های روان‌تنی، اختلالات گوارشی، عوارض قلبی و عروقی، تغییر سرعت یادگیری و همچنین تغییر آستانه درد مؤثر می‌باشد (۱۵،۵). انسان‌ها صوتی با شدت ۷۵ دسی‌بل و فرکانس‌های از ۲۰ تا ۲۰۰۰۰ هرتز را به راحتی می‌شنوند. اصوات بالاتر از ۷۵ دسی‌بل و فرکانس‌های پایین به صورت دوره‌ای حاد و مزمن، به ویژه در زمان استراحت شبانه می‌توانند سیستم‌های فیزیولوژیک بدن را دچار اختلال نمایند، زیرا سلول‌های مویی خارجی اندام کورتی گوش داخلی در معرض صداهای نامطلوب تخریب شده ولی سلول‌های مویی داخلی آن می‌توانند تطابق و سازگاری یابند که موجب از دست رفتن حس شنوایی نیز می‌گردد (۲۴،۱۳،۹،۳). موش‌های صحرائی می‌توانند فرکانس‌های صوتی تا ۸۰ کیلوهرتز در محدوده اولتراسونیک را بشنوند. به نظر می‌رسد حداکثر حساسیت شنوایی موش‌های صحرائی در محدوده ۲۵-۱۵ کیلو هرتز باشد. صداهای با شدت ۵۰ دسی‌بل مشکل‌چندانی برای موش‌ها ایجاد نمی‌کند، ولی سر و صداهای

بالاتر از ۹۰ دسی بل به ویژه بافرکانس پایین به آنها صدمه می زند (۲،۲۱،۹،۲).

از آنجایی که اثرات اعمال سر و صدا با شدت بالا و فرکانس پایین در طول دوره جنینی بر روی آستانه درد در سن بلوغ کاملاً روشن نیست، در این مطالعه آستانه درد فازیک (حاد) و تونیک (مزمن) موش های صحرائی نر و ماده بالغ که در دوره جنینی در معرض استرس سر و صدا بودند مورد تحقیق قرار گرفت.

روش کار

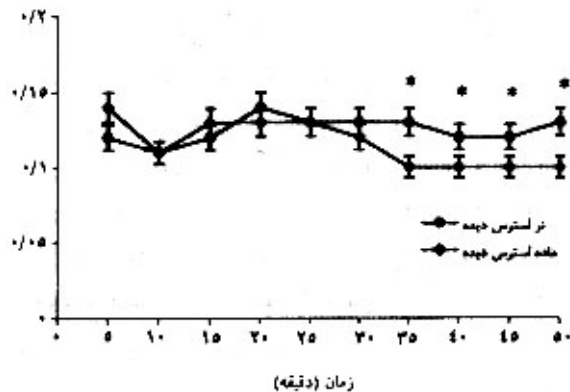
حیوانات: تعداد ۲۱ سر موش صحرائی جوان (۶ سر نر و ۱۵ سر ماده) از نژاد آلبینو با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۲۰ گرم از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور تهران تهیه و برای جفت گیری انتخاب شدند. موش ها به صورت گروه های مختلط دو سر نر و پنج سر ماده در یک قفس استاندارد نگهداری شدند. پس از مشاهده پلاک واژینال در موش های ماده و اطمینان نسبی از باردار شدن آنها، از جفت های نر جدا شده و به دو گروه تقسیم شدند. یک گروه در دوران بارداری تحت استرس سر و صدا قرار گرفتند و گروه دیگر به عنوان شاهد دوران بارداری را بدون استرس سپری کردند. در تمام مدت حیوانات تحت شرایط سیکل ۱۲ ساعته روشنایی - تاریکی، دمای ۲۱ ± ۲ درجه سانتی گراد، دسترسی آسان به آب و غذای فشرده (کنستانتره) و نیز غذای ویتامین دار تازه شامل هفته ای دو بار هویج و سبزی نگهداری شدند.

روش اعمال استرس: برای ایجاد استرس، سر و صدای با شدت ۹۰-۱۲۰ دسی بل و فرکانس ۳۵۰-۳۰۰ هرتز نوع whitenoise از دستگاه مولد صدا تولید و به وسیله بلندگو درون اطای آکوستیک نشده با ابعاد ۳×۴×۳ متر

پخش شد (۱۱). استرس سر و صدا در تمام مدت بارداری به هنگام استراحت شبانه با تناوب زمانی یک ساعته (استرس - آرامش) به موش ها اعمال گردید. به منظور جلوگیری از ایجاد ضایعه شنوایی و همچنین تطابق شنوایی، در دوره های زمانی ۲-۳ دقیقه ای، شدت و فرکانس صدای تولید شده به طور اتوماتیک در محدوده حداقل و حداکثر تعیین شده متغیر بود. پس از زایمان، هر دو گروه موش های مادر (استرس دیده و شاهد) در شرایط آرام و طبیعی قرار گرفتند تا از نوزادان خود مراقبت نمایند و آنها را به سن بلوغ برسانند. آنگاه فرزندان بالغ شده به چهار گروه هشت تایی: گروه نر شاهد، گروه نر استرس دیده، گروه ماده شاهد و گروه ماده استرس دیده، تقسیم و مورد آزمایش قرار گرفتند.

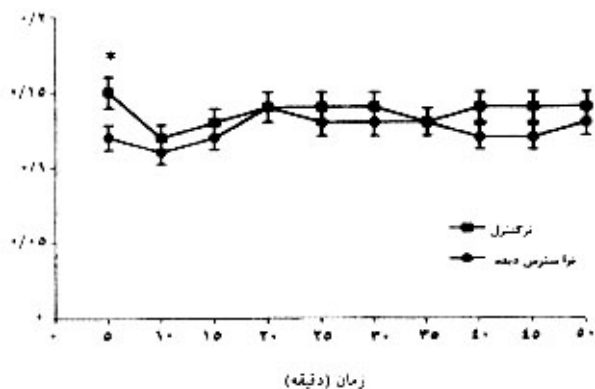
آزمون فرمالین: به منظور سازگاری با شرایط آزمایش، نیم ساعت قبل از انجام تست فرمالین، حیوان درون محفظه آزمایش قرار داده می شد. محفظه آزمایش شامل یک جعبه مکعبی شکل شیشه ای شفاف با ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی متر بود که بر روی یک سطح شیشه ای شفاف قرار داشت و یک آینه مسطح با زاویه ۴۵ درجه در زیر آن تعبیه شده بود که از طریق آن عکس العمل حیوان به شدت درد مشاهده و ثبت می شد. در شروع آزمایش مقدار ۵۰ میکرو لیتر محلول ۲/۵ درصد فرمالین به صورت زیر جلدی در کف پنجه راست حیوان تزریق می شد (۹، ۱۵، ۱۶). تحقیقات نشان داده اند که تزریق زیر جلدی فرمالین موجب بروز پاسخ دردناک دو مرحله ای: شامل یک مرحله اولیه کوتاه مدت در فاصله ۱۵-۰ دقیقه پس از تزریق و یک مرحله دراز مدت بعدی ۵۰-۲۰ دقیقه ای است. به همین دلیل زمان آزمایش به دو مرحله تقسیم شد: مرحله ابتدایی مربوط به درد فازیک یا حاد (دقایق ۱۵-۰) و مرحله

شدت درد در هر دو مرحله حاد و مزمن در موش‌های ماده شاهد کاهش اندکی داشت، اما بین دو جنس تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (نمودار ۱).



نمودار ۱: مقایسه شدت درد ناشی از تست فرمالین در موش‌های صحرایی نر و ماده شاهد (داده‌ها به صورت SE Mean نشان داده شده‌اند).

شدت درد موش‌های نر استرس دیده در بلوک زمانی اول مرحله درد حاد (۵ دقیقه اول) نسبت به موش‌های نر شاهد به طور معنی‌داری کاهش داشت ($P < 0.05$) (نمودار ۲). در سایر بلوک‌های زمانی این مرحله از درد، اگرچه اندکی کاهش وجود داشت اما تفاوت معنی‌داری نداشت. شدت درد در کلیه بلوک‌های زمانی مربوط به درد مزمن در موش‌های نر استرس دیده کاهش اندکی داشت ولی با شدت درد موش‌های نر شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (نمودار ۲). شدت درد در کلیه بلوک‌های زمانی درد حاد در موش‌های ماده استرس دیده نسبت



بعدی مربوط به درد تونیک یا مزمن (دقایق ۵۰-۲۰). بلافاصله پس از تزریق فرمالین و انتقال به محفظه آزمایش، هر ۱۵ ثانیه یکبار متناسب با رفتار دردناک حیوان یکی از امتیازات کمی زیر به آن داده می‌شد:

- تعادل کامل در راه رفتن و توزیع یکسان وزن بدن روی اندام‌های حرکتی چهارگانه = صفر
 - اشکال در راه رفتن و کاستن از وزن بدن روی پای تزریق شده دردناک = یک
 - بالا نگه داشتن پای تزریق شده دردناک و عدم تماس آن با صفحه شیشه‌ای کف = دو
 - تکان دادن، گاز گرفتن و لیسیدن پای دردناک = سه
- میزان شدت درد از تقسیم جمع نمرات هر بلوک پنج دقیقه‌ای به زمان آن (۳۰۰ ثانیه) طبق فرمول زیر محاسبه گردید (۲۵، ۲۰، ۸، ۶):

$$0.0003T_0 + 0.0007T_1 + 0.0014T_2 + 0.0021T_3$$

$$\text{شدت درد} = \frac{\text{مجموع نمرات}}{\text{زمان}}$$

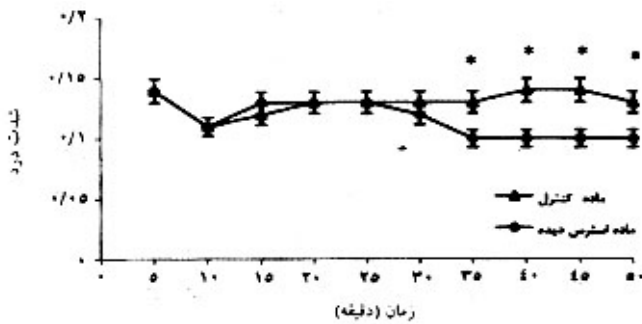
درد احساس شده

۳۰۰ ثانیه

هر کدام از T_0 ، T_1 ، T_2 و T_3 تعداد ۱۵ ثانیه‌هایی است که حیوان در هر بلوک به ترتیب امتیازات ۰، ۱، ۲ و ۳ را دریافت کرده است. داده‌ها به صورت $SE \square Mean$ محاسبه گردید. آن‌گاه یافته‌های تحقیق با روش t-test مورد بررسی آماری قرار گرفته و اختلاف شدت درد در بین گروه‌های مختلف با مقدار $P < 0.05$ (معنی‌دار تلقی گردید).

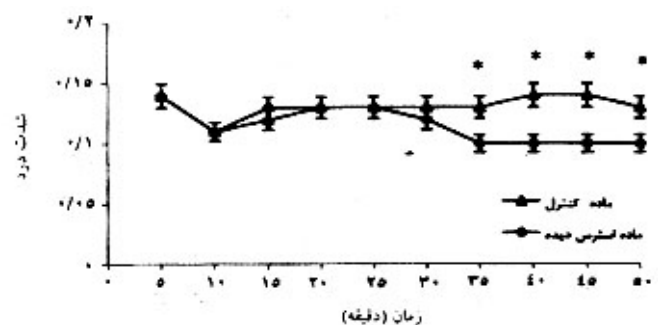
نتایج

شدت درد حاد و مزمن موش‌ها در بلوک‌های (دقایق) ۵ تا ۵۰ بعد از تزریق فرمالین محاسبه شد. اگرچه



نمودار ۲: مقایسه شدت درد ناشی از تست فرمالین در موش‌های صحرایی شاهد و استرس دیده (داده‌ها به صورت Mean SE نشان داده شده‌اند) $P < 0.01$ ×

به موش‌های ماده شاهد اندکی افزایش داشت. اما تفاوت معنی داری وجود نداشت. شدت درد در بلوک‌های زمانی (دقایق) ۳۵، ۴۰، ۴۵ و ۵۰ در موش‌های ماده استرس دیده نسبت به موش‌های ماده شاهد کاهش معنی داری را نشان داد ($P < 0.01$). ولی در سایر بلوک‌های این مرحله تفاوتی نداشت (نمودار ۳). با مقایسه شدت درد در موش‌های نر و ماده استرس دیده مشخص گردید که آستانه درد تونیک در موش‌های ماده در بلوک‌های زمانی ۳۵، ۴۰، ۴۵ و ۵۰ نسبت به موش‌های نر کاهش معنی داری ($P < 0.01$) داشته است. در بقیه بلوک‌های زمانی درد مزمن و در همه بلوک‌های زمانی درد حاد تفاوت معنی داری وجود نداشت (نمودار ۴).



نمودار ۳: مقایسه شدت درد ناشی از تست فرمالین در موش‌های صحرایی ماده شاهد و استرس دیده (داده‌ها به صورت Mean SE نشان داده شده‌اند) $P < 0.01$ ×

نمودار ۴: مقایسه شدت درد ناشی از تست فرمالین در موش‌های صحرایی نر و ماده استرس دیده (داده‌ها به صورت Mean SE نشان داده شده‌اند) $P < 0.01$ ×

بحث

نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهند که استرس سر و صدا در دوران بارداری بیشتر باعث افزایش معنی دار آستانه دردمزمن (یا کاهش شدت درد) در فرزندان ماده شده و کمتر آستانه درد حاد را تحت تأثیر قرار می‌دهد. با مراجعه به نمودارهای ۱ تا ۴ ملاحظه می‌شود که آستانه درد در موش‌های نر استرس دیده نسبت به موش‌های نر شاهد تنها در بلوک زمانی ۵-۰ مرحله درد حاد افزایش معنی داری داشته است ($P < 0.01$) (نمودار ۲). در سایر بلوک‌های زمانی آن اختلاف معنی داری وجود نداشت. آستانه درد موش‌های ماده استرس دیده در مقایسه با موش‌های ماده شاهد و نیز موش‌های نر استرس دیده در بلوک‌های زمانی پایانی مرحله درد مزمن افزایش معنی داری را نشان داد ($P < 0.01$) (نمودارهای ۳ و ۴). اثر استرس سر و صدا در دوران جنینی بر روی شدت درد در طی هر دو مرحله درد فازیک و تونیک در فرزندان نر و ماده یک اثر کاهشی است. در موش‌های نر استرس دیده تنها در اولین بلوک زمانی درد فازیک تأثیر گذاشته، در حالی که در موش‌های ماده استرس دیده در سه بلوک زمانی پایانی

have been shown to be evolved in these behaviors. Nociception can also be affected by stress, but the mechanism(s) are not fully investigated. In this study NMRI pregnant rats (220-250 gr) were exposed to repetitive one hour intermittent noise stress (90-120 db, low frequency, white noise) during night dark cycle. Intensity and frequency of noise varied each 2-3 minutes between minimum and maximum levels. Pain threshold was measured after subcutaneous injection of 50 μ l formalin (2.5%) in right paw. The experiment considered to have two stages: 1) phasic pain, minutes 0-15 and 2) tonic pain minutes 20-50. Pain score was marked every 15 seconds. The results showed that exposing to noise stress during fetal life has mostly affected tonic pain threshold. Pain threshold in stressed female offspring was increased significantly compared to stressed male offspring or compared to control male and female offspring. In conclusion it is suggested that noise stress during fetal life may increase pain threshold (hypoalgesia). Increase in endogenous opioid release may be considered as the mechanism.

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2000; 7(2): 53-59

Key Words: Noise stress, Pain threshold, Fetal life, Formalin test, Offspring rats

منابع

1. ابراهیمی، هادی، خامنه، سعید، محمدی نقده، مصطفی و جلیلی، شیشوان: مطالعه اثر استرس های حاد و مزمن در پاسخ های رفتاری ناشی از استرس (پوستر). خلاصه مقاله ارائه شده در چهاردهمین کنگره فیزیولوژی - فارماکولوژی ایران، تهران، ۳۰-۲۶ اردیبهشت ۱۳۷۸.
2. ریچاردز، ام. و داج، ل.ج: مبانی علم شنوایی. ترجمه: اعتمادیه، حسن. انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه علوم پزشکی ایران، ۱۳۶۶، ص ۵۲-۱۶۳، ۱۰۰-۱۹۸.
3. محمودیان، سعید: وزوز: مبانی، تشخیص، درمان و پیشگیری. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ۱۳۷۴، ص ۵۲۳-۴۶۲.
4. نجاریان، بهمن: استرس چیست؟ مجله دارو و درمان، ۱۳۷۱، سال دهم، شماره ۱۱۰، ص ۶۶-۵۷.

مرحله درد تونیک کاهش معنی دار شدت دردمشاهده گردید. با توجه به این که کم دردی (هیپوآلژی) قابل ملاحظه که تنها در بلوک های زمانی مرحله درد مزمن گروه موش های ماده استرس دیده ایجاد شده است و در گروه موش های نر استرس دیده وجود ندارد، احتمالاً هورمون های جنسی در تعدیل درد موش های ماده نقش داشته اند (۱۷). یکی از مکانیزم های پیشنهادی برای اثر استرس سر و صدا در دوره جنینی بر روی آستانه درد این است که استرس احتمالاً موجب فعال شدن محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - آدرنال و تحریک آزادسازی بتا - اندورفین ها و انکفالین ها در سیستم عصبی مرکزی، بزرگ شدن تخمدان ها و افزایش آزادسازی LH, FSH در فرزندان ماده می شود (۷، ۱۷). افزایش رهاسازی بتا اندورفین ها و انکفالین ها احتمالاً موجب افزایش آستانه درد در نوزاد موش های ماده استرس دیده گردیده است. این یافته در بررسی های رفتاری می تواند مورد توجه قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از کارمندان مرکز تحقیقات و اطلاع رسانی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اهواز، سلطانعلی ایرانپاک، بهرام رفیعی پور، حلیمه خاصری و همچنین عبد... علی نژاد هویزه مسؤول خانه حیوانات دانشکده داروسازی که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و سپاسگزاری می گردد.

Summary

Effects of Noise Stress during Fetal Life on Pain Threshold in Rats

A. Sarkaki, PhD¹, A. Heydari, PhD. student² and M. Shahraki, PhD³.

1. Assistant Professor of Physiology, Ahwaz University of Medical Sciences and Health Services, Ahwaz, Iran 2. PhD. student of Physiology, Baghiatolah University, Tehran, Iran 3. Assistant Professor of Physiology, Zahedan University of Medical Sciences and Health Services, Zahedan, Iran

It has been shown that many types of physical - environmental stresses during fetal life alter behavioral responses to stimuli. Sex hormones

5. Ando Y and Hattori H. Statistical studies on the effects of intense noise during human fetal life. *Journal of Sound & Vibration* 1973; 27(1): 101-110.
6. Cohen S and Weinstein N. Non auditory effects of noise on behavior and health. *Journal of Social Issues* 1981; 37(1):36-63.
7. Cruz Y, Martinez Gomez M, Manzo J, Hudson R and Pacheco P. Changes in pain threshold during the reproductive cycle of the female rat. *Physiol Behav* 1996; 59(3): 543-547.
8. Dallel R, Raboisson P, Clavelou P, Saade M and Woda A. Evidence for a peripheral origin of the tonic nociceptive response to subcutaneous formalin. *Pain* 1995; 61(1): 11-16.
9. Dobie R.A and Rubel E.W. The Auditory System. In: Patton HD, Fuchs AF, Hill B (Eds), Text book of physiology (excitable cells and neurophysiology). Vo. I. 21st ed., Phyladelphia, W.B. Saunders Company, 1989; pp365-385.
10. Grossman ML, Basbaum AL and Fields HL. Afferent and efferent connections of the rat tail flick reflex (a model used to analyse pain control mechanisms). *J Comp Neurol* 1982; 206(1): 916.
11. Helmstetter FJ and Bellgowan PS. Hypoalgesia in response to sensitization during acute noise stress. *Behav Neurosci* 1994; 108(1): 177-185.
12. Kay G, Tracic N, Poltyrev T and Weinstock M. Prenatal stress depresses immune function in rats. *Physiol Behav* 1998; 63(3): 397-402.
13. Kjellberg A. Subjective, behavioral and psychophysiological effects of noise. *Scand J work environ health* 1990; 16(supple): 29-38.
14. Krichagin VJ. Health effects of noise exposure. *Journal of Sound & Vibration* 1978; 59(1): 65-71.
15. Rehm S and Jensen G. Aircraft noise and premature birth. *Journal of Sound & Vibration* 1978; 59(1): 133-135.
16. Sachser N and Kaiser S. Prenatal social stress masculinizes the female's behavior in guinea pigs. *Physiol Behav* 1996; 60(2): 589-594.
17. Smith A and Miles CP. Sex differences in the effects of noise and night work on performance. *Work and Stress* 1987; 1:333-339.
18. Smith MA. Hippocampal vulnerability to stress and aging: possible role of neurotrophic factors. *Behav Brain Res* 1996; 78(1): 25-36.
19. Stirling JR. Problems of noise control. *The Public Health Engineer* 1986; 14(2):9-11.
20. Tjolsen A, Berger OG, Hunskaar S, Rosland JH and Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 1992; 51(1): 5-17.
21. Trevor P: The UFAW handbook on the care & management of laboratory animals. Longman Scientific & Technical, 1987; pp18-57, 107-158, 309-330.
22. Tuffery AA: Laboratory animals: an introduction for new experimenters. London, John Wiley and Sons Ltd., 1990; pp69-116.
23. Van Raaij MT, Oortgiesen M, Timmerman HH, Dobbe CJ and Van Iperen H. Time-dependent differential changes of immune function in rats exposed to chronic intermittent noise. *Physiol Behav* 1996; 60(6): 1527-1533.
24. Waynforth HB and Flecknell PA: Experimental and surgical techniques in the rat. 2nd ed., London, Academic Press Limited, 1992; pp347-354.
25. Wheeler Aceto H, Porreca F and Cowan A. The rat paw formalin test: Comparison of noxious agents. *Pain* 1990; 40(2): 229-238.
26. Williams MT, Hennessy MB and Davis HN. Stress during pregnancy alters rat offspring morphology and ultrasonic vocalizations. *Physiol Behav* 1998; 63(3): 337-343.