

## *The Role of the AMPA Receptors of Paragigantocellularis Lateralis Nucleus in Inflammatory Pain Modulation in Ovariectomized Female Rat*

Roghaieh Khakpay<sup>1</sup>,  
Hanieh Feyzi<sup>2</sup>,  
Farzam Sheikhzadeh Hesari<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>2</sup> MSc Student in Animal physiology, Department of Animal Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

(Received June 6, 2017 ; Accepted October 8, 2017)

### **Abstract**

**Background and purpose:** The paragigantocellularis lateralis nucleus (LPGi) is one of the important nuclei involved in the noradrenergic descending pain modulation.  $17\beta$ -Estradiol modulates nociception by binding to the estrogen receptors and also by allosteric interaction with other membrane-bound receptors like the glutamate receptors. In this study, the role of AMPA receptors of the LPGi nucleus was investigated in the  $17\beta$ -estradiol-induced pain modulation in ovariectomized rats.

**Materials and methods:** In this study, female Wistar rats weighing 200-270 gr were used. To investigate the role of the AMPA receptors of the LPGi nucleus, in both acute and persistent pain modulation, cannulation of the LPGi nucleus was performed. Primarily, drugs were injected and 15 minutes later 50  $\mu$ l of 5% formalin was injected into the rat's hind paw. Then, the paw jerking behavior was recorded for 60 min.

**Results:** The results showed that intra-LPGi injection of  $17\beta$ -estradiol significantly reduced the paw jerking behavior in both phases of formalin test ( $P < 0.01$ ). Pretreatment of LPGi nucleus by AMPA receptor antagonist (CNQX) neutralized the antinociceptive effect of  $17\beta$ -estradiol on paw jerking frequency in both phases of formalin test ( $P < 0.001$ ), and even, the CNQX induced hyperalgesia in both phases of paw jerking behavior.

**Conclusion:** According to this study, intra-LPGi  $17\beta$ -estradiol produces modest analgesia on formalin-induced pain in ovariectomized female rats, which is probably mediated via the AMPA receptors of this nucleus.

**Keywords:**  $17\beta$ -Estradiol, AMPA receptor, analgesia, ovariectomy

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28 (159): 23-37 (Persian).

# نقش گیرنده‌های AMPA هسته پارازیگانتوسولاریس کناری در تعدیل درد التهابی در موش صحرایی اوارکتومی‌شده

رقیه خاکپای<sup>۱</sup>هانیه فیضی<sup>۲</sup>فرزام شیخ زاده حساری<sup>۱</sup>

## چکیده

**سابقه و هدف:** هسته‌ی پارازیگانتوسولاریس کناری (LPGi) یکی از هسته‌های مهم درگیر در تعدیل پایین‌روی نورآدرنژیک درد می‌باشد. ۱۷بتا-استرادیول درک درد را از طریق اتصال به گیرنده‌های استروژنی یا گیرنده‌های غشایی دیگر مثل گیرنده‌های گلوتاماتی تعدیل می‌نماید. در این مطالعه، نقش گیرنده‌های AMPA ی هسته‌ی LPGi در تعدیل درد ناشی از ۱۷بتا-استرادیول در موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده بررسی شده است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه از موش‌های صحرایی ماده‌ی نژاد Wistar در محدوده‌ی وزنی ۲۰۰ تا ۲۷۰ گرم استفاده شد. برای بررسی نقش گیرنده‌های AMPA ی هسته‌ی LPGi در تعدیل درد حاد و پایدار، کانول‌گذاری هسته‌ی LPGi انجام شد. ابتدا داروها تزریق و پس از ۱۵ دقیقه ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۵ درصد به پنجه‌ی پای حیوان تزریق شد؛ سپس رفتار تکان دادن پای ملتهب (Paw jerking) ناشی از تزریق فرمالین به مدت ۶۰ دقیقه ثبت شد.

**یافته‌ها:** نتایج مطالعه‌ی اخیر نشان داد که تزریق ۱۷بتا-استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi رفتار تکان دادن پای ملتهب را در هر دو فاز آزمون فرمالین کاهش داد ( $p < 0.01$ ). پیش‌تیمار هسته‌ی LPGi با آنتاگونیست گیرنده‌های AMPA (CNQX) اثر ضددردی ۱۷بتا-استرادیول روی فرکانس تکان دادن پای ملتهب را طی هر دو فاز اول و دوم آزمون فرمالین خنثی نمود ( $p < 0.001$ )؛ و حتی CNQX سبب القای پردردی در هر دو فاز رفتار تکان دادن پای ملتهب شد.

**استنتاج:** بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که ۱۷بتا-استرادیول تزریق شده به هسته‌ی LPGi موش‌های صحرایی ماده‌ی اوارکتومی‌شده بی‌دردی متوسطی روی درد القاشده با فرمالین ایجاد می‌کند؛ که احتمالاً به‌وسیله‌ی گیرنده‌های AMPA ی این هسته وساطت می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** ۱۷بتا-استرادیول، گیرنده‌ی AMPA، بی‌دردی، اوارکتومی

## مقدمه

دردی توسط این نورون‌ها به مراکز بالاتر می‌شود (۲). اما مکانیسم‌های مرکزی اثر خود را از طریق تعدیل مراکز مغزی و نخاعی درگیر در احساس درد اعمال می‌کنند (۳). مکانیسم‌های مرکزی و محیطی روندهای

التهاب بافت‌های محیطی از طریق تحریک پایانه‌های عصبی به‌وسیله واسطه‌های التهابی می‌تواند سبب احساس درد شود (۱). مکانیسم‌های محیطی تعدیل درد سبب کاهش فعالیت گیرنده‌های درد و ارسال اطلاعات

E-mail: rkhakpai@gmail.com

**مؤلف مسئول:** رقیه خاکپای - تبریز: دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، گروه علوم جانوری

۱. دانشیار، گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۳/۱۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۶/۵/۲۳ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۷/۱۶

عمده از گیرنده‌های یونوتروپیک گلو تامات وجود دارد: گیرنده‌های NMDA، گیرنده‌های AMPA (AMPA) و گیرنده‌های Kainate (۱۳). گیرنده‌های AMPA نقش مهمی در شکل‌پذیری سیناپس‌های مرکزی ایفا می‌کنند؛ همچنین از عوامل تعیین‌کننده ضروری شکل‌پذیری درد و درد التهابی نیز می‌باشند (۱۴). AMPARs در تعدادی از مناطق کلیدی مسیر حسی - پیکری مرتبط با تعدیل درد، از جمله سلول‌های عصبی درد محیطی، شاخ خلفی نخاع، شاخ قدامی و چندین ناحیه مغز از جمله هسته‌ی LPGi بیان می‌شوند (۱۵). مطالعات متعددی مشارکت گیرنده‌های نخاعی AMPA در تولید و گسترش درد حاد و مزمن را نشان داده‌اند (۱۶، ۱۷). گیرنده‌های AMPA به صورت انتخابی توسط آنتاگونیست این گیرنده‌ها به نام CNQX مسدود می‌شوند. تزریق داخل نخاعی مسدودکننده‌ی انتخابی گیرنده‌های AMPA نفوذپذیر به کلسیم، حساسیت مکانیکی ناشی از مورفین را قطع می‌کند (۱۸). هم‌چنین مسدود کردن گیرنده‌های AMPA نفوذپذیر به کلسیم در طناب نخاعی موش صحرایی، توسعه‌ی درد و آلودینای مرتبط با آسیب‌های محیطی را کاهش می‌دهد (۱۹). در موش صحرایی، تزریق موضعی آگونیست‌های گلو تامات آرژیک به پوست صاف موجب رفتارهای ناشی از درد می‌شود (۲۰) که این اثر به اندازه‌ی فرمالین و/یا پردردی القاشده با التهاب مؤثر است؛ و تجویز محیطی آنتاگونیست‌های گیرنده‌های گلو تامات می‌تواند از این اثر جلوگیری کند (۲۱).

در دوره‌ی پیش از بلوغ موش‌های صحرایی ماده (Prepubertal rats)، اثرات AMPA به وسیله‌ی هورمون‌های تخمدانی تعدیل می‌شود (۲۲). تزریق هورمون‌های جنسی به مراکز مختلفی در سیستم عصبی مرکزی سبب تغییر واکنش حیوان به محرک‌های دردناک می‌شود (۲۳)؛ که در این مورد هورمون‌های جنسی همچون استروئیدهای نورواکتیو عمل می‌کنند (۲۴). ۱۷بتا- استرادیول به عنوان یک استروئید نورواکتیو و

پایه‌ای احساس و تعدیل درد در جنس نر و ماده متفاوت می‌باشد (۴). هورمون‌های جنسی متفاوت یکی از عوامل درگیر در مکانیسم‌های متفاوت احساس و تعدیل درد می‌باشد؛ بنابراین، موش صحرایی ماده‌ی اوارکتومی شده به عنوان یک مدل حیوانی برای ارزیابی اثرات هورمونی روی درد و بی‌دردی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵). تفاوت‌های جنسی در پاسخ‌های رفتاری به فرمالین در موش‌های صحرایی و موش سوری نشان داده شده است و مشاهدات حاکی از آنند که ماده‌ها به تزریق فرمالین به درون پنجه‌ی پای عقبی، پاسخ قوی‌تری نشان می‌دهند (۶، ۷).

هسته‌ی پاراژینگانوسلولاریس کناری (LPGi)، واقع در ناحیه‌ی سری- شکمی - کناری بصل النخاع (RVLm)، یکی از مناطق مهم مغز می‌باشد که در تعدیل درد درگیر است. هسته‌ی LPGi آوران‌هایی را از هسته‌ی دهلیزی، هسته‌های منزوی، lemniscus و هیپوتالاموس کناری دریافت می‌کند (۸). نورون‌های LPGi استاله‌های و ابران خود را به هسته‌های مهمی همچون نگمنتوم شکمی، هسته‌ی قوسی، هسته‌ی رافه‌دمی و لوکوس سرولئوس ارسال می‌کنند (۹). هسته‌ی LPGi علاوه بر تعدیل درد در اعمال مختلفی همچون رفتار جنسی، تنظیم دستگاه قلب و عروق، کنترل تنفس، تنظیم فشار خون، بیداری و هوشیاری نقش دارد (۱۰). نورون‌های هسته‌ی LPGi به محرک‌های دردناک پاسخ داده و یکی از مراکز مهم ارائه‌کننده‌ی پیام‌های درد و اطلاعات حسی - پیکری به هسته‌ی LC می‌باشد. هشاد درصد نورون‌های موجود در هسته‌ی LPGi گلو تامات آرژیک هستند (۱۰) که ورودی‌های تحریکی و گلو تامات آرژیک هسته‌ی LC را تشکیل می‌دهند (۱۱). بنابراین، هسته‌ی LPGi به عنوان یکی از اجزای سیستم نورآدرنژیک پایین‌روی تعدیل درد، نقشی کلیدی در پردازش اطلاعات درد بازی می‌کند (۱۱).

گلو تامات مهم‌ترین و اصلی‌ترین انتقال‌دهنده‌ی عصبی تحریکی در CNS می‌باشد (۱۲). سه زیرگروه

هورمون جنسی اصلی ماده‌ها تحریک‌پذیری سیناپسی را افزایش می‌دهد؛ که از طریق افزایش میزان پاسخ‌های وساطت‌شده با گیرنده‌ی AMPA اثر خود را اعمال می‌کند (۲۵). ۱۷-بتا-استرادیول با اتصال به گیرنده‌های داخل سلولی کلاسیک خود و همچنین از طریق واکنش آلوستریک با گیرنده‌های غشایی نوروترانسمیترهای دیگر مانند گیرنده‌های گلوتاماتی پاسخ به درد را تعدیل می‌کند (۲۶).

بررسی‌های مختلفی در مورد نقش هسته‌های مغزی در گیر در تعدیل درد و نیز مکانیسم‌های تعدیل درد انجام شده است که در این بررسی‌ها از مدل‌های مختلف سنجش درد و همچنین داروهای موثر در تسکین درد استفاده شده است. اما تاکنون مطالعه‌ی جامعی درباره نقش هسته‌ی LPGi در تعدیل درد انجام نشده است. همچنین، با آن‌که بخش زیادی از مطالعات اخیر نقش استروئیدهای جنسی در پاسخ به دردهای حاد را بررسی کرده‌اند، ولی نتایج دوگانه‌ای را گزارش کرده‌اند (۲۷).

مطالعات مختلفی که اثر دست‌کاری هورمون‌های جنسی روی آستانه‌ی درک درد در جوندگان ماده‌ی بیدار را بررسی کرده بودند نتایج مبهمی را به دست آورده‌اند. برخی افزایش القاشده با استرادیول در آستانه‌ی درک درد را گزارش کرده‌اند، برخی کاهش و گروهی دیگر نیز عدم تغییر آن را نشان داده‌اند (۲۷-۳۱). همچنین، گزارش شده است که استرادیول آستانه‌ی پاسخ به آزمون صفحه‌ی داغ و مدت‌زمان تاخیر آزمون پس کشیدن دم را هم افزایش و هم کاهش می‌دهد (۲۷، ۳۲، ۳۳). مطالعاتی که نقش استروئیدهای جنسی را در پاسخ به درد پایدار و مداوم بررسی کرده‌اند اندک بوده و نتایج بحث‌برانگیزی را گزارش کرده‌اند. از سوی دیگر، با آن‌که استروئیدهای نورواکتیو از جمله ۱۷-بتا-استرادیول تا حد زیادی مورد توجه بوده و مطالعه شده‌اند ولی نقش آن‌ها در تعدیل درد بررسی نشده است. بنابراین در این مطالعه نقش ۱۷-بتا-استرادیول تزریق شده به هسته‌ی LPGi در تعدیل درد با استفاده از آزمون فرمالین - که برای سنجش درد حاد (فاز اول) و درد پایدار (فاز دوم) به

کار می‌رود - بررسی شده است. مطالعات پیشین که در آنها نقش و مکانیسم اثر استروئید نورواکتیو ۱۷-بتا-استرادیول در تعدیل درد بررسی شده است، نشان دادند که بی‌دردی القا شده با تزریق ۱۷-بتا-استرادیول به داخل هسته‌ی LC در موش‌های صحرایی نر به وسیله‌ی گیرنده‌های AMPA میانجی‌گری نمی‌شود (۳۴)؛ ولی تعدیل درد ناشی از تزریق ۱۷-بتا-استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi در موش‌های صحرایی نر به وسیله‌ی گیرنده‌های AMPA میانجی‌گری می‌شود (۳۵). بنابراین در ادامه‌ی مطالعات پیشین، مطالعه حاضر به منظور بررسی مکانیسم اثر تعدیل‌کنندگی ۱۷-بتا-استرادیول روی درد التهابی در موش‌های صحرایی ماده‌ی اوارکتومی‌شده و نقش گیرنده‌ی غشایی AMPA در این اثر، انجام گرفته است.

## مواد و روش‌ها

### حیوانات

در این مطالعه از موش‌های صحرایی ماده نژاد Wistar، در محدوده‌ی وزنی ۲۰۰ تا ۲۷۰ گرم استفاده شد که از دانشکده‌ی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز خریداری شدند. حیوانات به‌طور تصادفی در گروه‌های شش‌تایی قرار می‌گرفتند و دسترسی کاملی به آب و غذا داشتند. همچنین حیوانات در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. کلیه‌ی آزمایشات روی حیوانات با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی Institutional Animal Ethics Committee (IAEC) انجام شد.

چهل و دو موش صحرایی ماده در ۷ گروه آزمایشی به‌ترتیب زیر قرار گرفتند:

۱- گروه کنترل که روی حیوانات دست نخورده فقط آزمون فرمالین انجام شد.

۲- گروه شم/CAN که فقط کانول‌گذاری هسته‌ی LPGi روی این حیوانات انجام شد و پس از دوره‌ی

بهبودی آزمون فرمالین انجام شد.

۳- گروه شم/OVX که تخمدان‌های حیوانات طی عمل جراحی اوارکتومی از شکم خارج شده و دوباره در مکان اصلی خود قرار می‌گرفتند و پس از دوره‌ی بهبودی آزمون فرمالین انجام شد.

۴- گروه سالی‌ن که روی حیوانات اعمال جراحی اوارکتومی و کانول‌گذاری انجام شد و پس از دوره‌ی بهبودی سالی‌ن (به عنوان حلال ۱۷بتا- استرادیول) به هسته‌ی LPGi تزریق شد و ۱۵ دقیقه بعد آزمون فرمالین انجام شد.

۵- گروه ۱۷بتا- استرادیول که روی حیوانات اعمال جراحی اوارکتومی و کانول‌گذاری انجام شد و پس از دوره‌ی بهبودی ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا- استرادیول به هسته‌ی LPGi تزریق شد و ۱۵ دقیقه بعد آزمون فرمالین انجام شد.

۶- گروه CNQX که روی حیوانات اعمال جراحی اوارکتومی و کانول‌گذاری انجام شد و پس از دوره‌ی بهبودی ۳۰ نانومول CNQX (آنتاگونیست گیرنده‌های AMPA) به هسته‌ی LPGi تزریق شد و ۱۵ دقیقه بعد آزمون فرمالین انجام شد.

۷- گروه ۱۷بتا- استرادیول که روی حیوانات اعمال جراحی اوارکتومی و کانول‌گذاری انجام شد و پس از دوره‌ی بهبودی ۳۰ نانومول CNQX به هسته‌ی LPGi تزریق شد و پس از ۱۵ دقیقه ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا- استرادیول به هسته‌ی LPGi تزریق شد؛ و پس از گذشتن ۱۵ دقیقه آزمون فرمالین انجام شد.

دورها

۱۷بتا- استرادیول کپسول‌دار شده با سیکلودکستین (۱۷بتا- استرادیول، خریداری شده از شرکت سیگما، آمریکا) به صورت استوک ۲ میلی‌مول در محلول نرمال‌سالی‌ن حل شد. در روز آزمایش نیز بخشی از این استوک به کمک نرمال‌سالی‌ن تا غلظت ۰/۸ میکرومول رقیق شد (۳۶) و مورد استفاده قرار گرفت. CNQX

خریداری شده از شرکت سیگما، آمریکا) نیز به صورت استوک ۰/۳ میلی‌مول در محلول نرمال‌سالی‌ن حل شد. در روز آزمایش نیز بخشی از این استوک به کمک نرمال‌سالی‌ن تا غلظت ۳۰ نانومول (۳۵) رقیق شد و مورد استفاده قرار گرفت. ۱۵ دقیقه پیش از شروع آزمایش، ۵۰۰ نانولیترا داروی مورد نظر با استفاده از سرنگ هاملتون، لوله‌ی پلی‌اتیلن و کانول تزریق در طول یک دقیقه و بدون تکرار مجدد به هسته‌ی LPGi سمت راست حیوان مورد مطالعه تزریق شد؛ و پس از گذشت ۱۵ دقیقه، ۵۰ میکرولیتر محلول فرمالین (خریداری شده از شرکت دکتر مجلی، ایران) ۵ درصد به زیر پوست پنجه‌ی پای چپ حیوان توسط سرنگ انسولین تزریق شد (۳۶) و بلافاصله آزمون رفتاری انجام شد.

#### جراحی اوارکتومی

موش‌های صحرایی ماده‌ی بالغ با چرخه‌ی فعلی طبیعی با مخلوطی از کتامین (۸۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بی‌هوش شدند و جراحی با رعایت شرایط ضد عفونی انجام شد. موش‌های صحرایی بی‌هوش شده به حالت استراحت بر روی سطح کناری قرار داده شدند؛ به نحوی که سطح شکمی در امتداد دم به سمت جراح قرار گیرد. محل جراحی در سطح کناری تراشیده شده، با اسکراب جراحی تمیز شد. برای رسیدن به حفره‌ی شکمی برشی دو سانتی‌متری در انتهای خلفی (دمی) قفسه‌ی سینه که ناحیه‌ی فلائک نام دارد زده شد و بافت چربی و عضلات این ناحیه کنار زده شدند. سپس تخمدان و بافت چربی اطراف آن یافت شده، تخمدان و شاخ‌های رحمی از حفره‌ی شکمی خارج شده و شریان‌بند استریل (لیگاتور) در ابتدای لوله‌های فالوپ قرار داده شد. سپس با برشی کوچک در نزدیکی تخمدان، تخمدان و بخشی از لوله‌های فالوپ برداشته شدند، پس از بستن انتهای بریده‌شده‌ی لوله‌های فالوپ، بافت باقی‌مانده دوباره در داخل حفره‌ی صفاقی قرار گرفت. پس از اطمینان از عدم خونریزی، لیگاتور

برداشته شد و عضلات و پوست ناحیه‌ی برش، بخیه شدند. تخمدان‌های چپ و راست هر دو با روشی مشابه از بدن خارج شدند (۳۷).

#### جراحی کانول گذاری

برای کانول گذاری، حیوان بلافاصله پس از اوارکتومی در دستگاه استریوتاکیسی مستقر و پوست ناحیه‌ی سر به حداقل میزان برش داده شد. پس از کنار زدن بافت‌های پوششی اطراف، نواحی برگما و لامبدا شناسایی شدند و با نگرش به فاصله‌ی آن‌ها و نسبت آن با فاصله‌ی ذکر شده در اطلس پاکسینوس (قدامی - خلفی (AP): ۱۲-؛ طرفی (L):  $\pm 1/6$ ؛ پشتی - شکمی (DV):  $10/4$  میلی‌متر) نواحی سطح جمجمه منطبق با هسته‌ی مورد آزمایش مشخص شد (۳۸). بعد از علامت گذاری مناطق بالا با استفاده از مته‌های دندان پزشکی در محل مذکور منفذی به اندازه‌ی قطر کانول راهنما، که معمولاً از سرسوزن نمره‌ی ۲۳ است، ایجاد شده و کانول راهنما به اندازه‌ی مشخص که برای هر هسته متفاوت است در درون مغز مستقر شده و قسمت رویی آن بر روی جمجمه به وسیله‌ی سیمان دندان پزشکی ثابت شد. دو پیچ کوچک در استخوان جمجمه تعبیه و در درون سیمان دندان پزشکی فرو می‌رفت. این دو پیچ در حکم مسلح‌سازی سیمان بوده و از جدا شدن آن از سطح جمجمه جلوگیری می‌کند. منفذ کانول راهنما در بیرون جمجمه به وسیله‌ی استایلت مسدود بوده و فقط در زمان تزریق دارو برداشته می‌شود. یک کانول نازک‌تر که معمولاً از سرسوزن شماره‌ی ۳۰ می‌باشد، به طول حدود دو میلی‌متر بلندتر (۳۴،۹) از کانول راهنما تهیه شده و به‌عنوان کانول تزریق استفاده شد؛ که از یک طرف به یک لوله‌ی نازک پلی‌اتیلن وصل می‌گردید و سر دیگر لوله‌ی پلی‌اتیلن به سرنگ هاملتون وصل شده و ۵۰۰ نانولیترا از داروی مورد نظر تزریق شد. بعد از اتمام جراحی موش صحرائی باید به مدت یک هفته دوره‌ی بهبودی را طی می‌کرد تا برای آزمون رفتاری آماده گردد.

برای اطمینان از تزریق صحیح دارو به هسته‌ی Pontamine sky، پس از خاتمه‌ی آزمون، رنگ blue به هسته‌ی LPGi تزریق شد و حیوان با دوز بالای اتر قربانی شد. سپس مغز حیوان خارج شده و محل تزریق رنگ بررسی شد؛ فقط داده‌های مربوط به حیواناتی که تزریق دارو به درستی انجام شده بود برای آنالیز داده‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفت.

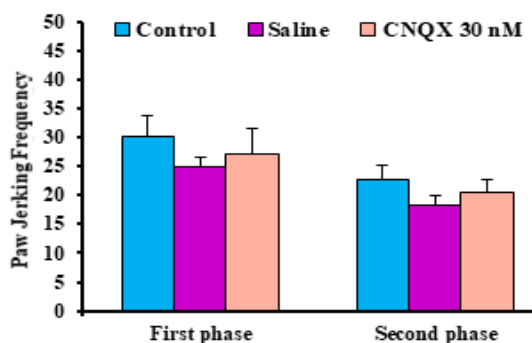
#### ارزیابی رفتاری

برای بررسی اثر استرادیول روی تعدیل پایین‌رویی درد از آزمون فرمالین استفاده شد (۲۳). آزمون فرمالین باعث ایجاد یک درد دو مرحله‌ای می‌شود که فاز اول آن در اثر فعال شدن حاد گیرنده‌های درد و فاز دوم آن در اثر پاسخ‌های التهابی یا حساسیت بخش‌های مرکزی و تغییرات سیناسی ایجاد می‌شود. آزمون فرمالین مدل رایجی برای بررسی درد در مدل‌های درد حاد، درد تونیک و درد التهابی و گاهی اوقات درد مزمن و/یا پردردی می‌باشد. بنابراین آزمون فرمالین هم نشانگر درد حاد و هم درد پایدار می‌باشد (۳۹، ۴۰). در این آزمون به منظور مشاهده و بررسی رفتارهای حیوان، از یک محفظه‌ی شفاف با کف مسطح، به ابعاد  $30 \times 30 \times 30$  سانتی‌متر و از جنس پلکسی‌گلاس استفاده شد. برای مشاهده‌ی پنجه‌ی پای حیوان، در زیر این محفظه‌ی شفاف آینه‌ای تعبیه شده است تا مطالعه‌ی رفتار درد امکان پذیر شود. در این آزمون، ۵۰ میکرولیتر محلول فرمالین ۵ درصد به زیر پوست پنجه‌ی پای چپ حیوان توسط سرنگ انسولین تزریق شد (۳۶). به دنبال تزریق فرمالین حیوان مجموعه‌ای از رفتارهای القاشده با فرمالین را نشان می‌داد؛ که در این مطالعه فرکانس رفتار تکان دادن پای ملتهب (تعداد دفعاتی که حیوان پنجه‌ی پای را که فرمالین به آن تزریق شده است، را به طور فزاینده تکان می‌دهد) به مدت ۶۰ دقیقه ثبت شد. رفتار پردردی در آزمون فرمالین از دو مرحله تشکیل شده است: فاز اول میانگین فرکانس رفتار تکان دادن پای ملتهب از زمان تزریق تا

می‌باشد. تعداد حیوانات آزمایشگاهی در هر گروه ۶ سر بود و داده‌ها به صورت Mean±SEM نشان داده شده‌اند.

تزریق دوز ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا-استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi، فاز اول فرکانس تکان دادن پای ملتبه را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل ( $p < 0/01$ ) و گروه شام/شام OVX ( $p < 0/05$ ) کاهش داد (نمودار شماره ۱). همچنین، ۱۷بتا-استرادیول فاز دوم فرکانس تکان دادن پای ملتبه را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل ( $p < 0/01$ )، سالیین و شام/شام OVX ( $p < 0/05$ ) کاهش داد (نمودار شماره ۱).

در این مطالعه تزریق ۳۰ نانومول CNQX (آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های AMPA) اثر معنی‌داری روی فرکانس تکان دادن پای ملتبه طی فازهای اول و دوم آزمون فرمالین نداشت (نمودار شماره ۲). از آنجایی که برای ادامه‌ی مطالعه، دوزی از آنتاگونیست موردنیاز بود که علی‌رغم داشتن اثر آنتاگونیستی، تعدیل درد را تحت‌تأثیر قرار ندهد؛ براساس نتایج به‌دست آمده، غلظت ۳۰ نانومول CNQX برای ادامه‌ی مطالعه انتخاب شد.



**نمودار شماره ۲:** اثر تزریق ۳۰ نانومول CNQX (آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های AMPA) به داخل هسته‌ی LPGi روی فاز اول و دوم فرکانس تکان دادن پای ملتبه ناشی از تزریق ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۵ درصد به سطح داخلی پنجه‌ی پای چپ. فاز اول میانگین پاسخ رفتاری ۷ دقیقه‌ی اول آزمون و فاز دوم میانگین پاسخ رفتاری بین دقیقه‌های ۱۶ تا ۶۰ می‌باشد. در هر گروه ۶ سر موش صحرائی ماده‌ی اوارکتومی شده استفاده شده است. داده‌ها به‌صورت Mean±SEM نشان داده شده‌اند.

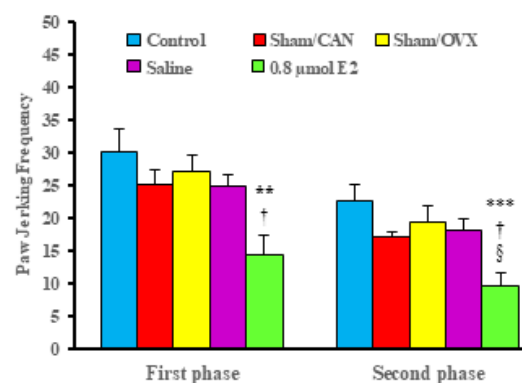
دقیقه‌ی ۷ و فاز دوم میانگین فرکانس رفتار تکان دادن پای ملتبه از دقیقه‌ی ۱۶ تا دقیقه‌ی ۶۰ می‌باشد (۴۱،۳۶).

#### اکتساب و آنالیز داده‌ها

آنالیز آماری داده‌ها با کمک آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار SPSS و ترسیم نمودارها با برنامه Excel صورت گرفت. داده‌ها به‌صورت Mean±SEM برای ۶ سر موش صحرائی در هر گروه بیان شد و ( $p < 0/05$ ) به‌عنوان سطح معنی‌دار بودن داده‌ها در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

در مطالعه حاضر فازهای اول و دوم فرکانس تکان دادن پای ملتبه گروه‌های کنترل، جراحی و کانول‌گذاری هسته‌ی LPGi (گروه شام/CAN)، شبیه‌سازی اوارکتومی (گروه شام/OVX) و تزریق nl ۵۰۰ سالیین به عنوان حلال ۱۷بتا-استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi تغییر معنی‌داری را نسبت به یکدیگر نشان ندادند (نمودار شماره ۱).



**نمودار شماره ۱:** اثر تزریق ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا-استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi روی فرکانس تکان دادن پای ملتبه به‌دنبال تزریق ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۵ درصد به سطح داخلی پنجه‌ی پای چپ. \* نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل، † با گروه شام/شام OVX و § با گروه نرمال سالیین می‌باشد. \* نشان‌دهنده‌ی احتمال ( $p < 0/05$ )، \*\* نشان‌دهنده‌ی احتمال ( $p < 0/01$ ) و \*\*\* نشان‌دهنده‌ی احتمال ( $p < 0/001$ ) می‌باشد. فاز اول میانگین پاسخ رفتاری ۷ دقیقه‌ی اول آزمون و فاز دوم میانگین پاسخ رفتاری بین دقیقه‌های ۱۶ تا ۶۰

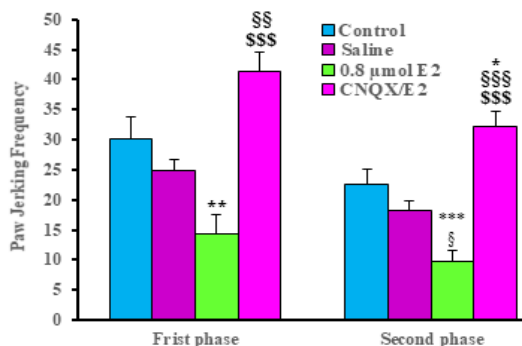
## بحث

در مطالعه‌ی حاضر تزریق ۱۷بتا-استرادیول به هسته‌ی LPGi به‌منظور بررسی نقش این استروئید نورواکتیو در تعدیل پایین‌روی درد مورد استفاده قرار گرفت. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تیمار ۱۷بتا-استرادیول هر دو فاز اول و دوم رفتار تکان‌دادن پای ملتهب را کاهش می‌دهد که با پیش‌تیمار آنتاگونیست گیرنده‌های AMPA (CNQX) کاملاً این اثر معکوس می‌گردد. از آنجایی که اثر ضد‌دردی ۱۷بتا-استرادیول توسط پیش‌تیمار CNQX خنثی می‌شود؛ احتمالاً بی‌دردی القا شده توسط ۱۷بتا-استرادیول توسط گیرنده‌های AMPA غشایی میانجی‌گری می‌شود.

هورمون‌های استروئیدی جنسی همچون استرادیول و تستوسترون حساسیت به درد و القایی‌دردی را تعدیل می‌کنند (۴۲)؛ و اعمال نورونی مختلف را با تغییر میدان دریافت نورون‌ها و واکنش‌های بین‌نورونی در نواحی مغزی مختلف تنظیم می‌نمایند. نقش ۱۷بتا-استرادیول در تعدیل درد به خوبی نشان داده شده است (۴۲). در موش‌های صحرایی نر و ماده، تحریک‌پذیری فیبرهای آوران اولیه پس از اعمال محرک دردناک متفاوت می‌باشد؛ که این تفاوت جنسی در پاسخ به محرک به وسیله‌ی رهایش ماده‌ی P (SP) برانگیخته‌شده با محرک دردناک وساطت می‌شود؛ و این اختلاف رهایش SP به‌وسیله‌ی استرادیول میانجی‌گری می‌شود. بنابراین استرادیول در تکوین متمایز حساسیت مرکزی و رفتارهای درد موش‌های صحرایی نر و ماده نقش دارد (۴۳). بررسی هورمون‌های جنسی ماده‌ی درگیر در پاسخ به محرک دردزای فرمالین، نشان داد که این هورمون‌ها پاسخ‌های نورونی و رفتاری به تحریک دردزای مکرر را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند. این مطلب نشان‌دهنده‌ی نقش احتمالی هورمون‌های تخمدانی در تفاوت‌های جنسیتی مربوط به درد است (۴۴).

در مطالعه‌ی اخیر تزریق ۱۷بتا-استرادیول به هسته‌ی LPGi فاز اول رفتار تکان‌دادن پای ملتهب را

برای بررسی نقش گیرنده‌های AMPA در اثر بی‌دردی ناشی از تزریق ۱۷بتا-استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi، آنتاگونیست گیرنده‌های AMPA (CNQX)، ۱۵ دقیقه پیش از تزریق ۱۷بتا-استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi تزریق شد و ۱۵ دقیقه پس از تزریق ۱۷بتا-استرادیول، فرمالین تزریق و بلافاصله رفتار تکان‌دادن پای ملتهب ناشی از فرمالین به مدت ۶۰ دقیقه بررسی شد. پیش‌تیمار هسته‌ی LPGi با ۳۰ نانومول CNQX، بی‌دردی استرادیولی مربوط به فاز اول رفتار تکان‌دادن پای ملتهب را خنثی نمود ( $p < 0.001$ ) و همچنین سبب پردردی شد [ $p < 0.001$ ] (نمودار شماره ۳). CNQX در طی فاز دوم آزمون فرمالین نیز نه‌تنها بی‌دردی ناشی از ۱۷بتا-استرادیول را خنثی نمود ( $p < 0.001$ )، بلکه سبب پردردی نیز شد که افزایش رفتار دردنی تفاوت معنی‌داری با گروه‌های کنترل ( $p < 0.05$ ) و سالیین داشت [ $p < 0.001$ ] (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳: مقایسه‌ی رفتار دردنی ناشی از تزریق فرمالین میان گروه کنترل، سالیین، ۱۷بتا-استرادیول و گروهی که ۱۵ دقیقه پیش از تزریق ۱۷بتا-استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi، ۳۰ نانومول CNQX دریافت کرده بودند. نمودار نشان‌دهنده‌ی فاز اول و فاز دوم آزمون فرمالین برای پاسخ تکان‌دادن پای ملتهب می‌باشد. فاز اول میانگین پاسخ رفتاری ۷ دقیقه‌ی اول آزمون و فاز دوم میانگین پاسخ رفتاری بین دقیقه‌های ۱۶ تا ۶۰ می‌باشد. \* نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل، § با گروه سالیین و \$ با گروه ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا-استرادیول می‌باشد. \* نشان‌دهنده‌ی احتمال ( $p < 0.05$ )، \*\* نشان‌دهنده‌ی احتمال ( $p < 0.01$ ) و \*\*\* نشان‌دهنده‌ی احتمال ( $p < 0.001$ ) می‌باشد. تعداد حیوانات آزمایشگاهی در هر گروه ۶ سر بود و داده‌ها به‌صورت Mean±SEM نشان داده شده‌اند.

Amandusson و همکاران گزارش کردند که در موش‌های صحرایی اوارکتومی شده، حساسیت دردی در آزمون صفحه‌ی داغ به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد و پس از تجویز استرادیول مدت‌زمان تأخیر در آزمون عقب کشیدن دم کاهش می‌یابد (۵۳). اما غلظت و نحوه‌ی تزریق استرادیول، روش‌های سنجش درد و جنس حیوانات مورد استفاده در مطالعات ذکر شده متفاوت بوده است.

در این پژوهش تزریق داخل هسته‌ی ۱۷بتا- استرادیول فاز دوم رفتار تکان دادن پای ملتهب را کاهش داد، که نشان‌دهنده‌ی القای بی‌دردی در فاز دوم آزمون و کاهش درد پایدار می‌باشد. Kuba و همکاران نشان دادند که در موش‌های صحرایی ماده‌ی اوارکتومی شده، استرادیول سبب کاهش پاسخ‌های رفتاری درد طی فاز دوم آزمون فرمالین می‌شود (۴۵)، که با یافته‌های این مطالعه مطابقت دارد. هم‌سو با نتایج این مطالعه، Mannino و همکارانش نیز نشان دادند که تزریق دوزهای تدریجی ۱۷بتا- استرادیول به موش‌های صحرایی ماده، رفتارهای دردی القاشده با فرمالین را فقط طی فاز دوم آزمون کاهش می‌دهد (۴۶). همچنین تزریق دوزهای مدرج‌شده‌ی استرادیول به موش‌های صحرایی اوارکتومی شده، فاز دوم رفتارهای القاشده با فرمالین را ۳۵ الی ۴۹ درصد کاهش داد ولی اثری روی فاز اول آزمون نداشت (۴۷). در این راستا، خاکپای و همکاران نیز نشان دادند که تزریق ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LC سبب کاهش فاز دوم رفتارهای القاشده با فرمالین در حیوانات نر می‌شود (۳۴). علاوه بر این، خاکپای و همکاران گزارش کردند که تزریق ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi اثر ضدردی روی فاز دوم رفتار تکان دادن پای ملتهب در حیوانات نر دارد (۵۰، ۴۹، ۳۶، ۳۵).

استرادیول اثراتش را از طریق گیرنده‌های داخل سلولی و همچنین اتصال به گیرنده‌های غشایی سایر نوروترانسمیترها و کانال‌های یونی از جمله

کاهش داد، که نشان‌دهنده‌ی اثر ضدردی آن روی درد حاد می‌باشد. برخلاف نتایج مطالعه‌ی حاضر مبنی بر اثر ضدردی ۱۷بتا- استرادیول در فاز اول آزمون فرمالین، مطالعات متعددی وجود دارد که ۱۷بتا- استرادیول فاز اول این آزمون را تحت تاثیر قرار ندهاده است. Kuba و همکاران نشان دادند که در موش‌های صحرایی ماده‌ی اوارکتومی شده، استرادیول اثری روی فاز اول آزمون فرمالین ندارد (۴۵). مغایر با نتایج این مطالعه، Mannino و همکارانش نیز نشان دادند که تزریق دوزهای مدرج شده‌ی ۱۷بتا- استرادیول به موش‌های صحرایی ماده‌ی اوارکتومی شده پاسخ‌های رفتاری ناشی از تزریق فرمالین را طی فاز اول آزمون تغییر نمی‌دهد (۴۶). خاکپای و همکاران نیز نشان دادند که تزریق ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LC اثری روی فاز اول رفتارهای القاشده با فرمالین در حیوانات نر ندارد (۳۴)، که با یافته‌های این مطالعه هم‌خوانی ندارد. همچنین تزریق دوزهای مدرج‌شده‌ی استرادیول به موش‌های صحرایی اوارکتومی شده، اثری روی فاز اول آزمون فرمالین نداشت (۴۷)، که با یافته‌های مطالعه‌ی اخیر مطابقت ندارد. در موش‌های صحرایی ماده نسبت به موش‌های صحرایی نر تحریک‌پذیری فیبرهای آوران اولیه در فاز دوم آزمون فرمالین بالاتر است که به دلیل افزایش رهایش SP در آنها می‌باشد؛ این تفاوت‌ها فقط به فاز دوم آزمون اختصاص دارد و توسط استرادیول القا می‌گردد (۴۸)، که با نتایج مطالعه‌ی اخیر مغایرت دارد. ولی مطالعات مختلفی وجود دارد که یافته‌های این مطالعه را تایید می‌کنند؛ به عنوان مثال خاکپای و همکاران گزارش کردند که در حیوانات نر، تزریق ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi روی فاز اول رفتار تکان دادن پای ملتهب اثر ضدردی دارد (۵۰، ۴۹، ۳۶، ۳۵). همچنین گزارش شده است که استرادیول آستانه‌ی درد در موش‌های صحرایی اوارکتومی شده را در آزمون‌های رفتاری درد متداول همچون Hot plate و Tail flick افزایش می‌دهد (۵۲، ۵۱). مطابق با یافته‌های این مطالعه،

گیرنده‌های AMPA، NMDA و GABA<sub>A</sub> اعمال می‌کند (۲۴). Wong و Moss پیشنهاد کرده‌اند که تزریق ۱۷-بتا-استرادیول به منطقه‌ی CA1 هیپوکامپ، با افزایش میزان پاسخ‌های وساطت‌شده توسط گیرنده‌ی AMPA، تحریک پذیری سیناپسی را افزایش می‌دهد (۲۵). همچنین، تراکم گیرنده‌های AMPAی موش‌های صحرایی ماده در فاز دی‌استروس نسبت به فاز استروس به طور قابل توجهی بالاتر است (۵۴). بنابراین، به‌منظور برطرف کردن نوسانات هورمونی فاز استروس هم بر روی پاسخ‌های دردزا و هم بر روی تراکم گیرنده‌ی AMPA، موش‌های صحرایی ماده‌ی اوارکتومی‌شده به‌عنوان یک مدل حیوانی مورد استفاده قرار گرفت. در موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده، سطوح نورواستروئیدهایی همچون ۱۷-بتا-استرادیول می‌تواند دستخوش تغییر گردد. این تغییر می‌تواند بیان گیرنده‌ی نوروترانسمیتر و/یا آزادسازی نوروترانسمیتر را تحت تاثیر خود قرار دهد (۵۵، ۵۶). جایگزینی هورمونی در موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده به شکلی غیرطبیعی سبب بالا بردن و پایدار ماندن سطوح استرادیول می‌گردد، این موضوع می‌تواند اثرات معکوس و قابل توجه جایگزینی هورمونی در موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده را توضیح دهد (۵۴).

بدیهی است که نتایج اثرات هورمون‌های جنسی در طول چرخه‌ی فعلی طبیعی و بعد از اوارکتومی با هم متناقض است (۵۳) و برخی از مطالعات حاکی از آن است که اوارکتومی سبب کاهش آستانه‌ی درد می‌شود (۲۹، ۳۰). با این وجود برخی از محققان گزارش کرده‌اند که آستانه‌ی درد در رفلکس‌های دردی در همه‌ی فازهای چرخه‌ی فعلی و/یا بعد از اوارکتومی تغییر نمی‌کند (۵۷). برخلاف یافته‌های این مطالعه، Ceccarelli و همکارانش گزارش کردند که رفتار Paw jerking القا شده توسط فرمالین در موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده در مقایسه با ماده‌های دست‌نخورده شدیدتر بوده است (۵۸). مغایر با نتایج

مطالعه اخیر، Christy و همکاران نشان دادند که اوارکتومی فاز اول رفتارهای القا شده با فرمالین را افزایش می‌دهد (۴۶). یافته‌های متناقض مطالعات مختلف ممکن است به تفاوت‌های مربوط به روش اوارکتومی، اثر تغییر فصل بر اوارکتومی و روش‌های سنجش درد مورد استفاده در مطالعات ذکر شده ناشی شود.

گیرنده‌های AMPA در تمام مناطق مغز که با درد مرتبط هستند بیان می‌شوند (۵۹). این گیرنده‌ها به احتمال زیاد زمینه‌ای را فراهم می‌کنند تا بین گره‌های عصبی درگیر در مسیرهای بالاروی درد - از جمله ورودی‌های نورون‌های حسی به نخاع و سپس به سمت ساقه‌ی مغز و تالاموس، همچنین از نورون‌های تالاموس به قشر حسی - انتقالات سیناپسی تحریکی سریع همراه با سیگنالینگ گلوتامات‌ارژیک انجام شود (۵۹). گیرنده‌های AMPA در شکل‌پذیری سیناپسی مرتبط با سیگنالینگ درد نقش دارند (۵۹). Tong و Macdermott با استفاده از ثبت الکتروفیزیولوژی نشان دادند که نورون‌های بیان‌کننده‌ی گیرنده‌های AMPA در نخاع، ورودی‌های آوران اولیه‌ای را از منشأ درد دریافت می‌کنند (۱۹). گیرنده‌های AMPA نه تنها توسط نورون‌های نخاعی بیان می‌شوند، بلکه احتمالاً نقش‌های فعالی را در انتقال سیناپسی بین نورون‌های درد محیطی و نورون‌های نخاعی بازی می‌کنند (۶۰). Miyamoto و همکاران گزارش کردند که بیان زیرواحدهای GluR2 و GluR3 گیرنده‌ی AMPA در طی درد التهابی آزمون فرمالین صورت، افزایش می‌یابد که این امر سبب افزایش احساس درد در فاز دوم آزمون فرمالین (۶۰-۱۶ دقیقه) می‌شود (۶۱)، که با نتایج این مطالعه مغایرت دارد. همچنین، Ambriz- Tututi و همکاران با تزریق آنتاگونیست انتخابی گیرنده‌های AMPA/KA، CNQX، به هسته‌ی مشبک پستی موش نشان دادند که CNQX باعث کاهش چشمگیر تعداد تکان‌های پای ملتهب طی هر دو فاز آزمون فرمالین شد (۶۲). بر خلاف نتایج مطالعه‌ی اخیر، Gordon و Soliman گزارش کردند که

تزریق داخل نخاعی CNQX مانع از توسعه‌ی پردردی حرارتی می‌شود (۳۲). همچنین، کاربرد موضعی و پوستی CNQX فاز تاخیری رفتارهای درد در آزمون فرمالین را در موش صحرایی تضعیف می‌کند (۳۲)، که با نتایج این مطالعه مطابقت ندارد.

در دهه‌های اخیر، به منظور شناسایی مکانیسم اثرات تعدیلی استروئیدهای نورواکتیو، عملکرد گیرنده‌ی AMPA مورد توجه بوده است. از این رو، این مطالعه برای ارزیابی این که آیا گیرنده‌های AMPA در تعدیل درد با واسطه‌ی ۱۷-بتا-استرادیول در هسته‌ی LPGi موش‌های صحرایی ماده‌ی اواریکتومی شده درگیر هستند، هدف گذاری شده است. نتایج این مطالعه نشان داده است که تزریق ۰/۸ میکرومول ۱۷-بتا-استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi، اثر بی‌دردی قابل توجهی روی فاز دوم رفتار Paw jerking ناشی از فرمالین اعمال کرد؛ که اثر ضد درد ۱۷-بتا-استرادیول روی درد التهابی در هسته‌ی LPGi به وسیله‌ی پیش‌تیمار این هسته با CNQX خنثی شد و نه تنها پاسخ به درد التهابی به شرایط پایه‌ای برگشت حتی سبب پردردی نیز شد. مطابق با نتایج این مطالعه، Cabañero و همکارانش پیشنهاد کردند که پس از خاتمه درمان با مورفین، تزریق داخل نخاعی مسدودکننده‌ی انتخابی گیرنده‌های AMPA می‌تواند که به یون کلسیم نفوذپذیر هستند، سبب افزایش حساسیت و درد مکانیکی می‌شود (۱۸). همچنین Chi-Kun و

Amy گزارش کردند که مسدود کردن گیرنده‌های AMPA نفوذپذیر به کلسیم در طناب نخاعی موش صحرایی، توسعه‌ی درد و آلودینای مرتبط با آسیب‌های

محیطی را کاهش می‌دهد (۱۹) که با نتایج مطالعه اخیر سازگار است. همچنین خاکپای و همکاران نشان دادند که تعدیل درد ناشی از تزریق ۱۷-بتا-استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi در موش‌های صحرایی نر به وسیله‌ی گیرنده‌های AMPA میانجی‌گری می‌شود (۳۵). مغایر با یافته‌های این مطالعه، خاکپای و همکارانش نشان دادند که تزریق CNQX به داخل هسته‌ی لوکوس سرولئوس اثری روی رفتارهای القاشده با فرمالین ندارد (۳۴). در موش صحرایی، تزریق موضعی آگونیست‌های گلو تامات ارژیک به پوست صاف موجب رفتارهای ناشی از درد می‌شود (۲۰، ۶۳، ۶۴) که این اثر به اندازه‌ی فرمالین و/یا پردردی القاشده با التهاب مؤثر است؛ و تجویز محیطی آنتاگونیست‌های گیرنده‌های گلو تاماتی می‌تواند از این اثر جلوگیری کند (۲۱، ۶۴، ۶۵) که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مغایرت دارد.

بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که تزریق ۱۷-بتا-استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi موش‌های صحرایی اواریکتومی شده موجب القای بی‌دردی نسبتاً قوی می‌شود؛ و به نظر می‌رسد که اثر ضد درد ۱۷-بتا-استرادیول در هسته‌ی LPGi موش‌های صحرایی اواریکتومی شده احتمالاً از طریق گیرنده‌های AMPA غشایی میانجی‌گری می‌شود.

## سپاسگزاری

مقاله‌ی حاضر مستخرج از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد می‌باشد. بدین وسیله از زحمات حوزه‌ی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز قدردانی می‌شود.

## References

1. Renn CL, Lin L, Thomas S, Dorsey SG. Full-length tropomyosin-related kinase B expression in the brainstem in response to persistent inflammatory pain. *NeuroReport*. 2006; 17(11): 1175-1179.
2. Woolf CJ. Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. *Ann Intern Med* 2004; 140(6): 441-451.
3. Soleiman-Nejad E, Fathollahi Y, Semnani S. Formalin as a peripheral noxious stimulus causes a biphasic response in nucleus

- paragigantocellularis neurons. *Med J Islam Repub Iran* 2002; 15(4): 231-236 (Persian).
4. Loyd DR, Murphy AZ. Sex differences in the anatomical and functional organization of the periaqueductal grayrostral ventromedial medullary pathway in the rat: A potential circuit mediating the sexually dimorphic actions of morphine. *J Comp Neurol* 2006; 496(5): 723-738.
  5. Fillingim RB, Ness T. Sex-related hormonal influences on pain and analgesic responses. *Neurosci Biobehav Rev* 2000; 24(4): 485-501.
  6. Gaumont I, Arsenault P, Marchand S. The role of sex hormones on formalin-induced nociceptive responses. *Brain Res* 2002; 958(1): 139-145.
  7. Chanda ML, Mogil JS. Sex differences in the effects of amiloride on formalin test nociception in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 291(2): R335-R342.
  8. Azhdari-Zarmehri H, Reisi Z, Vaziri A, Haghparast A, Shaigani P, Haghparast A. Involvement of orexin-2 receptors in the ventral tegmental area and nucleus accumbens in the antinociception induced by the lateral hypothalamus stimulation in rats. *Peptides*. 2013; 47: 94-98.
  9. Andrezik JA, Chan-Palay V, Palay SL. The nucleus paragigantocellularis lateralis in the rat. *Anat Embryol (Berl)*. 1981; 161(4): 373-390.
  10. Azhdari ZH, Pakdel F. Responsiveness of paragigantocellularis ttudeus tteurons in morphine dependent rats to forskolin in vivo single unit recording. *Yakhteh* 2005; 6(24): 194-201 (Persian).
  11. Aston-Jones G, Chiang C, Alexinsky T. Discharge of noradrenergic locus coeruleus neurons in behaving rats and monkeys suggests a role in vigilance. *Prog Brain Res* 1991; 88: 501-520.
  12. Cheng W, Rodriguez Alvarez J. Amyloid- $\beta$  oligomers reduces glutamatergic transmission and inhibits synaptic plasticity with underlying mechanisms suggesting akap150 modulates diverse synaptic functions. Tesis Doctoral. Faculty of Medicine, Barcelona University; 2014.
  13. Kandel E. The age of insight: The quest to understand the unconscious in art, mind, and brain, from Vienna 1900 to the present. *Yale J Biol Med* 2012; 85(4): 564-565.
  14. Hartmann B, Ahmadi S, Heppenstall PA, Lewin GR, Schott C, Borchardt T, et al. The AMPA receptor subunits GluR-A and GluR-B reciprocally modulate spinal synaptic plasticity and inflammatory pain. *Neuron* 2004; 44(4): 637-650.
  15. Engelman HS, Allen TB, MacDermott AB. The distribution of neurons expressing calcium-permeable AMPA receptors in the superficial laminae of the spinal cord dorsal horn. *J Neurosci* 1999; 19(6): 2081-2089.
  16. Jin HC, Keller AJ, Jung JK, Subieta A, Brennan TJ. Epidural tezampanel, an AMPA/kainate receptor antagonist, produces postoperative analgesia in rats. *Anesth Analg* 2007; 105(4): 1152-1159.
  17. Wang Y, Wu J, Wu Z, Lin Q, Yue Y, Fang L. Regulation of AMPA receptors in spinal nociception. *Mol Pain* 2010; 6(1): 5.
  18. Cabañero D, Baker A, Zhou S, Hargett GL, Irie T, Xia Y, et al. Pain after discontinuation of morphine treatment is associated with synaptic increase of GluA4-containing AMPAR in the dorsal horn of the spinal cord. *Neuropsychopharmacology* 2013; 38(8): 1472-1484.

19. Tong CK, MacDermott AB. Both Ca<sup>2+</sup> permeable and impermeable AMPA receptors contribute to primary synaptic drive onto rat dorsal horn neurons. *J Physiol* 2006; 575(1): 133-144.
20. Zhou S, Bonasera L, Carlton SM. Peripheral administration of NMDA, AMPA or KA results in pain behaviors in rats. *Neuroreport* 1996; 7(4): 895-900.
21. Davidson EM, Carlton SM. Intraplantar injection of dextrophan, ketamine or memantine attenuates formalin-induced behaviors. *Brain Res* 1998; 785(1): 136-142.
22. Gonzalez L, Pinilla L, Tena-Sempere M, Aguilar E. Role of alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid receptors in the control of prolactin, growth hormone and gonadotropin secretion in prepubertal rats. *J Endocrinol* 1999; 162(3): 417-424.
23. Aloisi A, Ceccarelli I. Role of gonadal hormones in formalin-induced pain responses of male rats: modulation by estradiol and naloxone administration. *Neuroscience* 1999; 95(2):559-566.
24. Foster TC. Interaction of rapid signal transduction cascades and gene expression in mediating estrogen effects on memory over the life span. *Front Neuroendocrinol* 2005; 26(2): 51-64.
25. Wong M, Moss RL. Long-term and short-term electrophysiological effects of estrogen on the synaptic properties of hippocampal CA1 neurons. *J Neurosci* 1992; 12(8): 3217-3225.
26. Potes CS, Neto FL, Castro Lopes JM. Administration of baclofen, a  $\gamma$  aminobutyric acid type B agonist in the thalamic ventrobasal complex, attenuates allodynia in monoarthritic rats subjected to the ankle bend test. *J Neurosci Res* 2006; 83(3): 515-523.
27. Stoffel EC, Ulibarri CM, Craft RM. Gonadal steroid hormone modulation of nociception, morphine antinociception and reproductive indices in male and female rats. *Pain* 2003; 103(3): 285-302.
28. Cicero TJ, Nock B, Meyer ER. Gender-related differences in the antinociceptive properties of morphine. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 279(2): 767-773.
29. Forman L, Tingle V, Estilow S, Cater J. The response to analgesia testing is affected by gonadal steroids in the rat. *Life Sci* 1989; 45(5): 447-454.
30. Kepler KL, Kest B, Kiefel JM, Cooper ML, Bodnar RJ. Roles of gender, gonadectomy and estrous phase in the analgesic effects of intracerebroventricular morphine in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1989; 34(1): 119-127.
31. Nomikos G, Spyraiki C, Kazandjian A, Sfikakis A. Estrogen treatment to ovariectomized rats modifies morphine-induced behavior. *Pharmacol Biochem Behav* 1987; 27(4):611-617.
32. Gordon FT, Soliman MR. The effects of estradiol and progesterone on pain sensitivity and brain opioid receptors in ovariectomized rats. *Horm Behav* 1996; 30(3): 244-250.
33. Tsuruoka M, Willis WD. Bilateral lesions in the area of the nucleus locus coeruleus affect the development of hyperalgesia during carrageenan-induced inflammation. *Brain Res* 1996; 726(1-2): 233-236.
34. Khakpay R, Semnianian S, Javan M, Janahmadi M. The effect of intra-locus coeruleus injection of 17 $\beta$ -estradiol on inflammatory pain modulation in male rat. *Behav Brain Res* 2010; 214(2): 409-416.
35. Khakpay R, Azaddar M. Role of the AMPA receptors of paraventricular nucleus in the inflammatory pain modulation

- in male rat. *Physiol Pharmacol* 2017; 21(2): 147-154.
36. Khakpay R, Barani S, Hatami Nemati H. The antinociceptive effect of 17 $\beta$ -estradiol in the paragigantocellularis lateralis of male rats is mediated by estrogenic receptors. *Physiol Pharmacol* 2014; 18(2): 215-223 (Persian).
  37. Chakraborty TR, Gore AC. Aging-related changes in ovarian hormones, their receptors, and neuroendocrine function. *Exp Biol Med* (Maywood) 2004; 229(10): 977-987.
  38. Paxinos G, Watson P. *The Rat Nervous Coordinates*. 6<sup>th</sup> ed. Cambridge: Academic Press; 2004.
  39. Tjølsen A, Berge O-G, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 1992; 51(1): 5-17.
  40. Watson GS, Sufka KJ, Coderre TJ. Optimal scoring strategies and weights for the formalin test in rats. *Pain* 1997; 70(1): 53-58.
  41. Mahmoudi M, Zarrindast M-R. Effect of intracerebroventricular injection of GABA receptor agents on morphine-induced antinociception in the formalin test. *J Psychopharmacol* 2002; 16(1): 85-91.
  42. Craft RM, Mogil JS, Aloisi AM. Sex differences in pain and analgesia: the role of gonadal hormones. *Eur J Pain* 2004; 8(5): 397-411.
  43. Nazarian A, Tenayuca J, Almasarweh F, Armendariz A, Are D. Sex differences in formalin evoked primary afferent release of substance P. *Eur J Pain* 2014; 18(1): 39-46.
  44. Ceccarelli I, Fiorenzani P, Massafra C, Aloisi AM. Repeated nociceptive stimulation induces different behavioral and neuronal responses in intact and gonadectomized female rats. *Brain Res* 2006; 1106(1): 142-149.
  45. Kuba T, Kemen LM, Quinones-Jenab V. Estradiol administration mediates the inflammatory response to formalin in female rats. *Brain Res* 2005; 1047(1): 119-122.
  46. Mannino CA, South SM, Quinones-Jenab V, Inturrisi CE. Estradiol replacement in ovariectomized rats is antihyperalgesic in the formalin test. *J Pain* 2007; 8(4): 334-342.
  47. Palmeira CCdA, Ashmawi HA, Posso IdP. Sex and pain perception and analgesia. *Rev Bras Anesthesiol* 2011; 61(6): 820-828.
  48. Österlund M, Kuiper GG, Gustafsson J-Å, Hurd YL. Differential distribution and regulation of estrogen receptor- $\alpha$  and- $\beta$  mRNA within the female rat brain. *Brain Res Mol Brain Res* 1998; 54(1): 175-180.
  49. Khakpay R, Barani S, Hatami Nemati H. The antinociceptive effect of 17 $\beta$ -estradiol in the paragigantocellularis lateralis of male rats is mediated by estrogenic receptors. *Physiol Pharmacol* 2015; 18(4): 455-465 (Persian).
  50. Khakpay R, Azaddar M, Khakpai F. The antinociceptive effect of 17 $\beta$ -estradiol in the nucleus paragigantocellularis lateralis of male rats may be mediated by the NMDA receptors. *Physiol Pharmacol* 2016; 20(2): 122-129 (Persian).
  51. Stoffel EC, Ulibarri CM, Folk JE, Rice KC, Craft RM. Gonadal hormone modulation of mu, kappa, and delta opioid antinociception in male and female rats. *J Pain* 2005; 6(4): 261-274.
  52. Craft RM, Ulibarri C, Leitel MD, Sumner JE. Dose- and time-dependent estradiol modulation of morphine antinociception in adult female rats. *Eur J Pain* 2008; 12(4): 472-429.
  53. Amandusson Å, Blomqvist A. Estrogenic influences in pain processing. *Front Neuroendocrinol* 2013; 34(4): 329-349.
  54. Palomero Gallagher N, Bidmon HJ, Zilles K. AMPA, kainate, and NMDA receptor densities in the hippocampus of untreated

- male rats and females in estrus and diestrus. *J Comp Neurol* 2003; 459(4): 468-474.
55. Partridge LD, Valenzuela CF. Neurosteroid-induced enhancement of glutamate transmission in rat hippocampal slices. *Neurosci Lett* 2001; 301(2): 103-106.
56. Meyer DA, Carta M, Partridge LD, Covey DF, Valenzuela CF. Neurosteroids Enhance Spontaneous Glutamate Release in Hippocampal Neurons POSSIBLE role of metabotropic Sigma1-like Receptors. *J Biological Chem* 2002; 277(32): 28725- 28732.
57. Vincler M, Maixner W, Vierck CJ, Light AR. Estrous cycle modulation of nociceptive behaviors elicited by electrical stimulation and formalin. *Pharmacol Biochem Behav* 2001; 69(3): 315-324.
58. Multon S, Pardutz A, Mosen J, Hua MT, Defays C, Honda S-I, et al. Lack of estrogen increases pain in the trigeminal formalin model: a behavioural and immunocytochemical study of transgenic ArKO mice. *Pain* 2005; 114(1):257-265.
59. Bleakman D, Alt A, Nisenbaum ES, editors. Glutamate receptors and pain. *Sem Cancer Biol* 2006; 17(5): 592-604.
60. Wang J, Goffer Y. AMPA receptors and pain—A future therapeutic intervention? *Tech Reg Anesth Pain Manag* 2010; 14(2): 59-64.
61. Miyamoto M, Tsuboi Y, Honda K, Kobayashi M, Takamiya K, Huganir RL, et al. Involvement of AMPA receptor GluR2 and GluR3 trafficking in trigeminal spinal subnucleus caudalis and C1/C2 neurons in acute-facial inflammatory pain. *PloS one* 2012; 7(8): e44055.
62. Ambriz Tututi M, Palomero Rivero M, Ramirez López F, Millán Aldaco D. Role of glutamate receptors in the dorsal reticular nucleus in formalin induced secondary allodynia. *Eur J Neurosci* 2013; 38(7): 3008-3017.
63. Carlton SM, Hargett GL. Treatment with the NMDA antagonist memantine attenuates nociceptive responses to mechanical stimulation in neuropathic rats. *Neurosci Lett* 1995; 198(2): 115-118.
64. Jackson DL, Graff CB, Richardson JD, Hargreaves KM. Glutamate participates in the peripheral modulation of thermal hyperalgesia in rats. *Eur J Pharmacol* 1995; 284(3): 321-325.
65. Carlton SM, Zhou S, Coggeshall RE. Evidence for the interaction of glutamate and NK1 receptors in the periphery. *Brain Res* 1998; 790(1): 160-169.