**مقاله پژوهشی**
**مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان**
**دوره ۱۷، مهر ۱۳۹۷، ۶۱۰-۵۹۷**

# نقش گیرنده‌های استروژنی هسته پاراژیگانتوسلولاریس جانبی در تعدیل درد القاء شده با فرمالین در موش‌های صحرایی ماده

**رقیه خاکپای[۱]، زهرا حیدرزاده[۲]، فاطمه خاکپای[۳]**

**دریافت مقاله: ۹۶/۳/۲۰ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۶/۸/۶ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۷/۲/۱۱ پذیرش مقاله: ۹۷/۳/۳۰**

**چکیده**

**زمینه و هدف:** از آنجایی‌که تزریق ۱۷ بتا-استرادیول به هسته پاراژیگانتوسلولاریس جانبی (LPGi) موجب بی‌دردی می‌شود و احتمال دارد که این بی‌دردی به وسیله گیرنده‌های استروژنی وساطت شود، لذا در این پژوهش نقش گیرنده‌های استروژنی (هنگام تحریک توسط داروی ۱۷بتا-استرادیول) این هسته در تعدیل درد القاء شده توسط فرمالین، در طی فاز استروس در موش‌های صحرایی ماده بررسی شده است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۴۸ سر موش‌های صحرایی ماده نژاد ویستار (۲۷۰-۲۰۰ گرم) به طور تصادفی به ۸ گروه تقسیم شدند که شامل گروه کنترل، Sham، نرمال سالین (حلال ۱۷ بتا-استرادیول)، DMSO (حلال ICI182,780)، ۱۷ بتا-استرادیول، آنتاگونیست گیرنده‌های استروژنی (ICI182,780, 15&50 nmol) و ۱۷/ICI182,780 بتا-استرادیول بود. با ورود حیوان به فاز استروس، داروها به هسته پاراژیگانتوسلولاریس جانبی (LPGi) تزریق شد؛ پس از ۱۵ دقیقه، ۵۰ میکرولیتر از محلول فرمالین ٪۵ به پنجه پای چپ حیوان تزریق شد و سپس رفتار تکان دادن پای ملتهب ناشی از تزریق فرمالین به مدت یک‌ساعت بررسی شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که طی فاز استروس، تیمار هسته LPGi با ۱۷بتا-استرادیول، رفتار تکان دادن پای ملتهب را در هر دو فاز آزمون فرمالین به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد ($p<۰/۰۰۱$). پیش‌تیمار هسته LPGi با ICI182,780 از اثر ضددردی ناشی از ۱۷بتا-استرادیول جلوگیری کرد ($p<۰/۰۰۱$).

**نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج این مطالعه، می‌توان پیشنهاد کرد که تزریق ۱۷بتا-استرادیول به هسته LPGi در فاز استروس بی‌دردی قوی در موش‌های ماده القاء می‌کند که ممکن است به وسیله گیرنده‌های استروژنی میانجی‌گری شود.

**واژه‌های کلیدی:** ۱۷بتا-استرادیول، فاز استروس، ICI182,780، تعدیل درد، هسته پاراژیگانتوسلولاریس جانبی، موش صحرایی ماده

۱- (نویسنده مسئول) استادیار گروه آموزشی علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
تلفن: ۳۳۳۹۲۷۴۵-۰۴۱، دورنگار: ۳۳۳۵۶۰۲۷-۰۴۱، پست الکترونیکی: rkhakpai@gmail.com
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۳- استادیار مرکز علوم اعصاب و شناخت، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-06-10 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.7.1.2 ]

## مقدمه

درد فرآیندی حفاظتی است که از واکنش بدن به آسیب بافتی بالفعل، بالقوه و/یا تخریب بافتی ناشی می‌شود [۱]. چندین سیستم تعدیل درد در سیستم اعصاب مرکزی (Central Nervous system, CNS) پاسخ به تحریک دردزا را تعدیل می‌کنند. یکی از سیستم‌های درگیر در تعدیل درد، مسیر پایین‌روی نورآدرنرژیک است که هسته پاراژیگانتوسلولاریس جانبی (Paragigantocellularis lateralis; LPGi) یکی از ساختارهای مهم این مسیر می‌باشد [۲].

هسته LPGi یکی از هسته‌های مهم درگیر در تعدیل درد می‌باشد که در ناحیه‌ی سری-شکمی-کناری بصل‌النخاع (RVLM) قرار گرفته است. این هسته ورودی‌های خود را از مناطق مختلف درگیر در درک درد هم‌چون هسته لوکوس سرولئوس، ماده خاکستری دورقناتی و هسته رافه دریافت می‌کند. نورون‌های LPGi فیبرهای خروجی خود را به هسته‌های مهمی هم‌چون هسته رافه دمی و لوکوس‌سرولئوس ارسال می‌کنند [۳]. نورون‌های هسته LPGi به محرک‌های دردناک پاسخ می‌دهند و در پردازش اطلاعات درد، ارسال سیگنال های درد و نیز تعدیل درد اهمیت زیادی دارند [۴].

از آغاز بلوغ جنسی تا دوازده ماهگی، چرخه فحلی موش‌های صحرایی ماده چهار روز طول می‌کشد. این چرخه دارای چهار فاز می‌باشد که به ترتیب زمانی عبارتند از: فازهای پرواستروس، استروس، متاستروس و دی‌استروس. سطح سرمی هورمون‌های جنسی موش‌های صحرایی در هر فاز با بقیه فازها تفاوت دارد [۵]. افزایش سطح سرمی هورمون استرادیول از فاز متاستروس شروع می‌شود و طی فاز پرواستروس به بالاترین سطح خود می‌رسد. سطح سرمی استرادیول طی فاز استروس دوباره به سطح پایه‌ای خود برمی‌گردد [۶].

در حیوانات ماده، چرخه تولید مثلی و تغییرات ترشح هورمون‌های جنسی طی فازهای مختلف این چرخه عملکردهای مختلف سیستم عصبی از جمله درک درد را تحت تأثیر قرار می‌دهند. مکانیسم‌های مرکزی و محیطی روندهای پایه‌ای احساس و تعدیل درد در جنس نر و ماده متفاوت می‌باشد [۷]، که ممکن است به دلیل تفاوت هورمون‌های جنسی در حیوانات نر و ماده باشد [۸].

در مغز، ۱۷بتا-استرادیول از تستوسترون موجود در گردش خون سنتز می‌شود و ممکن است در تعدیل درد نقش داشته باشد [۹]. تفاوت‌های جنسی در پاسخ‌های رفتاری به فرمالین در موش‌های صحرایی [۱۰] و موش سوری [۱۱] نشان داده شده است و مشاهدات نشان داده‌اند که موش‌های ماده به تزریق فرمالین به درون پنجه پای عقبی، پاسخ شدیدتری نسبت به موش‌های نر نشان می‌دهند [۱۱]. مطالعاتی که آستانه درد را در مدل‌های درد حاد در موش‌های صحرایی بررسی کرده‌اند، نشان داده است که آستانه درد در فازهای پرواستروس و استروس نسبت به فازهای متاستروس و دی‌استروس پایین‌تر است [۱۳-۱۲]. هم‌چنین مشاهده شده است که آستانه درد موش‌های صحرایی نر با آستانه درد موش‌های صحرایی ماده طی فازهای مختلف چرخه فحلی تفاوتی ندارد، اما در موش‌های صحرایی ماده، آستانه درد در طی فازهای



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-06-10 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.7.1.2 ]

پرواستروس و دی‌استروس به صورت معنی‌داری از آستانه درد در طی فاز استروس پایین‌تر است [۱۴].

طی مطالعات پیشین مشخص شده است که تزریق ۱۷بتا-استرادیول به داخل هسته LPGi موش‌های صحرایی نر و موش‌های صحرایی ماده اوارکتومی شده، در مدل دردالتهابی آزمون فرمالین سبب القاء بی‌دردی می‌شود و ممکن است این اثر بی‌دردی از طریق گیرنده‌های استروژنی میانجی‌گری شود [۱۶-۱۵]. بنابراین پژوهش حاضر به‌منظور بررسی نقش گیرنده‌های استروژنی هسته LPGi در اثر تعدیل‌کنندگی ۱۷بتا-استرادیول بر روی درد التهابی در موش‌های صحرایی ماده طی فاز استروس چرخه فحلی حیوانات ماده، انجام گرفته است.

## مواد و روش‌ها

### حیوانات

در این مطالعه تجربی همه آزمایشات طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۵ در آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری گروه علوم جانوری دانشگاه تبریز انجام شده است. در این پژوهش تجربی از موش‌های صحرایی ماده نژاد Wistar، در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۷۰ گرم استفاده شد که از دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه خریداری شدند. آب و غذا به طور کامل و آزادنه در دسترس حیوانات قرار داشت. هم‌چنین حیوانات در دمای استاندارد ۱±۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۱۵±۵۰ درصد و سیکل روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته نگه‌داری می‌شدند. کلیه آزمایشات براساس دستورالعمل‌های اخلاقی انجمن بین‌المللی مطالعه درد در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام شد [۱۷]. هم‌چنین این مطالعه دارای کد اخلاق به شماره ۳۰۳۵۲ از دانشگاه علوم پزشکی تبریز می‌باشد.

در این مطالعه، ۴۲ موش صحرایی ماده که در فاز استروس قرار داشتند به طور تصادفی به ۷ گروه آزمایشی تقسیم شدند که شامل گروه کنترل (آزمون فرمالین در حیوانات دست نخورده)، گروه Sham (فقط کانول‌گذاری هسته LPGi)، گروه سالین (تزریق نرمال‌سالین به عنوان حلال ۱۷بتااسترادیول به هسته‌LPGi موش صحرایی ماده)، گروه DMSO (تزریق DMSO به‌عنوان حلال آنتاگونیست گیرنده‌های استروژنی (ICI 182,780 15) به هسته LPGi موش صحرایی ماده)، گروه ۱۷بتا-استرادیول (تزریق ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا-استرادیول به هسته LPGi موش صحرایی ماده)، گروه ICI 50 nmol (تزریق ۵۰ نانومول ۱۵ ICI ۷۸۰,۱۸۲ به هسته LPGi موش صحرایی ماده)، گروه ICI 15 nmol (تزریق ۱۵ نانومول ۱۵ ICI ۷۸۰,۱۸۲ به هسته LPGi موش صحرایی ماده) و گروه ICI/۱۷بتا-استرادیول (۱۵ دقیقه قبل از تیمار هسته LPGi با ۰/۸ میکرومول ۱۷بتااسترادیول، نانومول ۱۵ ICI ۷۸۰,۱۸۲ به داخل هسته LPGi، موش صحرایی ماده تزریق شد) بود [۱۶]. پیش از شروع آزمایشات مربوط به این پژوهش، هم‌سیکل کردن موش‌های صحرایی ماده انجام شد.

برای بررسی پاسخ‌های رفتاری القاء شده با فرمالین طی فاز استروس چرخه فحلی، بایستی تمامی موش‌های صحرایی مورد آزمایش در فاز استروس قرار داشته باشند. مطالعات نشان داده است که اگر حیوانات ماده به مدت دو هفته در کنار هم و در یک قفس نگه‌داری شوند، چرخه



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-06-10 ]
[ DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.7.1.2 ]

فحلی آن‌ها باهم هم‌زمان می‌شود [۱۸]. پس از گذشت دو هفته، از واژن آن‌ها اسمیرگیری واژنی انجام شده و نمونه به‌دست‌آمده به لام منتقل شده و فاز استروس چرخه فحلی براساس وجود تعداد زیاد سلول‌های شاخی‌شده تشخیص داده شد [۶]. پس از تأیید هم سیکل بودن موش‌های صحرایی مورد مطالعه در هر گروه، آزمون فرمالین در فاز استروس انجام شد. برای تزریق داروها، ابتدا کانول‌گذاری هسته LPGi انجام شد. بدین منظور ابتدا حیوان با مخلوطی از کتامین (۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بی‌هوش شد.

سپس حیوان در دستگاه استرئوتاکسی ( Stoelting, USA) مستقر شده و پوست سر در حدود ۲ سانتی‌متر برش داده شد. پس از زدودن بافت‌های پوششی سطح جمجمه، نواحی برگما و لامبدا شناسایی شده و براساس مختصات هسته LPGi در اطلس پاکسینوس، سطح جمجمه علامت‌گذاری شد به طوری‌که مختصات جلویی - عقبی (AP): ۱۲/۲- میلی‌متر؛ طرفی (L): ۱/۶± میلی‌متر و پشتی - شکمی (DV): ۱۰/۵ میلی‌متر بود [۱۹] .

محل مشخص شده بر روی جمجمه براساس مختصات هسته LPGi به وسیله مته دندانپزشکی به اندازه قطر کانول راهنما، سرسرنگ شماره ۲۳، سوراخ شد و کانول راهنما براساس عمق ذکر شده در اطلس پاکسینوس برای این هسته، در درون مغز قرار گرفت و انتهای خارجی کانول راهنما روی جمجمه به‌وسیله سیمان دندانپزشکی ثابت - گردید. پیچ کوچکی نیز به صورت وارونه در استخوان جمجمه قرار داده شده و در درون سیمان دندانپزشکی ثابت گردید. این پیچ به منظور استحکام سیمان استفاده شده است تا از جدا شدن آن از سطح جمجمه جلوگیری کند. از استایلت برای بستن منفذ کانول راهنما استفاده شد که فقط در زمان تزریق دارو برداشته شد [۲۰].

کانول تزریق از سرسوزن شماره ۳۰ و حدود دو میلی‌متر بلندتر [۲۰، ۳] از کانول راهنما تهیه شد. در هنگام تزریق دارو، قسمت خارجی کانول تزریق به یک لوله نازک پلی‌اتیلن وصل شد و سر دیگر لوله پلی‌اتیلن نیز به سرنگ هامیلتون وصل شد و ۵۰۰ نانولیتر از داروی مورد نظر به هسته LPGi تزریق شد. یک هفته بعد از اتمام جراحی، آزمون رفتاری روی موش‌ها انجام شد [۲۰].

داروهای مورد نیاز این مطالعه ۱۷بتا-استرادیول، اگونیست گیرنده‌های استروژن و ICI ۷۸۰,۱۸۲ به آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های استروژن از شرکت سیگما خریداری شدند که به ترتیب در نرمال سالین و DMSO حل شدند. در روز آزمایش ۵۰۰ نانولیتر از داروهای مورد مطالعه به وسیله سرنگ هامیلتون به صورت یک طرفه به هسته LPGi راست تزریق شدند و ۱۵ دقیقه بعد از تزریق دارو آزمون فرمالین انجام شد [۲۰].

برای بررسی اثر استرادیول بر روی تعدیل درد از آزمون فرمالین استفاده شد. در آزمون فرمالین به منظور مشاهده و بررسی رفتارهای حیوان، از یک محفظه شفاف با کف مسطح، به ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر مکعب و از جنس پلکسی‌گلس استفاده شد. برای مشاهده پنجه پای حیوان، در زیر این محفظه شفاف، آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه تعبیه شده است.

در این آزمون، ۵۰ میکرولیتر محلول فرمالین ۵ درصد به کمک سرنگ انسولین به زیر پوست پنجه پای چپ



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-06-10 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.7.1.2 ]

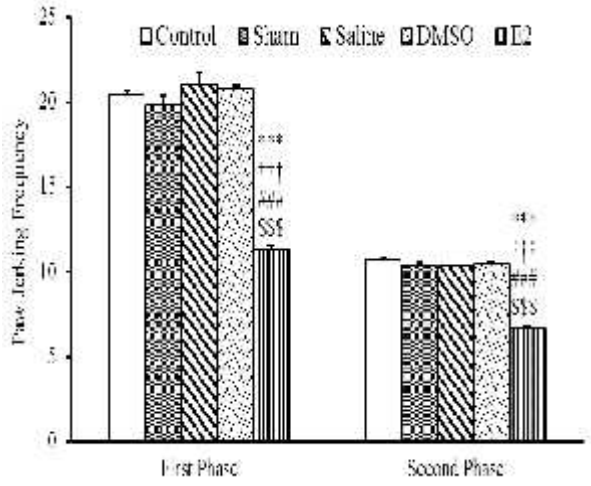
حیوان تزریق شد. پس از تزریق فرمالین حیوان رفتارهای دردی ناشی از التهاب القاء شده با فرمالین را نشان می‌داد که در این مطالعه رفتار تکان دادن پای ملتهب ( Paw Jerking Frequency) به مدت یک ساعت ثبت شد. فرکانس تکان دادن پای ملتهب ثبت شده از زمان تزریق تا دقیقه ۷ به عنوان فاز اول و فرکانس ثبت شده از دقیقه ۱۶ تا دقیقه ۶۰ به عنوان فاز دوم در نظر گرفته شد [۲۰].

پس از خاتمه آزمون، رنگ Pontamine sky blue به هسته LPGi تزریق شد تا از تزریق صحیح دارو به این هسته اطمینان حاصل شود. سپس حیوان با دوز بالای اتر کشته شده مغز حیوان خارج شده و ساقه مغز برش‌گیری شده و محل تزریق رنگ با مختصات هسته LPGi در اطلس پاکسینوس تطبیق داده شد [۱۹]، فقط داده‌های مربوط به حیواناتی که برش مغزی آنها مطابق با مختصات هسته LPGi در اطلس پاکسینوس بود برای آنالیز داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت [۲۰].

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نسخه ۱۶ نرم‌افزار SPSS و ترسیم نمودارها با کمک نسخه ۲۰۱۶ نرافزار Excel انجام شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها به وسیله آزمون آماری Shapiro-Wilk بررسی شد ($p>۰/۰۵$). همگن بودن واریانس داده‌ها با کمک آزمون Levene انجام شد ($p>۰/۰۵$). نتایج آزمایشگاهی به صورت انحراف معیار±میانگین (برای ۶ سر موش صحرایی) گزارش شد. از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) و آزمون تعقیبی Tukey برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

## نتایج

فازهای اول و دوم فرکانس تکان دادن پای ملتهب، گروه‌های کنترل، جراحی و کانول‌گذاری هسته LPGi (گروه Sham)، تزریق ۵۰۰ نانولیتر سالین به‌عنوان حلال ۱۷بتا-استرادیول و تزریق DMSO به‌عنوان حلال ICI ۷۸۰,۱۸۲ به داخل هسته LPGi تغییر معنی‌داری را نسبت به یکدیگر نشان ندادند [(نمودار ۱)، فاز اول ($p=۰/۳۱۶$) و فاز اول ($p=۰/۱۶۴$)].




***نمودار ۱. اثر ضددردی ناشی از تزریق ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا-استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi روی فرکانس تکان‌دادن پای ملتهب طی آزمون فرمالین. ***($p<۰/۰۰۱$) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل، †††($p<۰/۰۰۱$) با گروه نرمال‌سالین، ### ($p<۰/۰۰۱$) با گروه Sham و $$$($p<۰/۰۰۱$) با گروه DMSO می‌باشد. میانگین پاسخ رفتاری دقیقه اول تا دقیقه ۷ آزمون به عنوان فاز اول و میانگین پاسخ رفتاری بین دقیقه‌های ۱۶ تا ۶۰ به عنوان فاز دوم در نظر گرفته شد. ۶ سر موش صحرایی به صورت تصادفی در هر گروه قرار گرفت و داده‌ها به‌صورت Mean±SEM نشان داده شده‌اند. Control: حیوانات دست‌نخورده، Sham: فقط کانول‌گذاری هسته‌ی LPGi، Saline: تزریق نرمال‌سالین به هسته‌ی LPGi، DMSO: تزریق DMSO به هسته‌ی LPGi و E2: تزریق ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا-استرادیول به هسته‌ی LPGi.***

تزریق ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا-استرادیول به داخل هسته LPGi تعداد دفعات تکان دادن پای ملتهب را در طی فاز



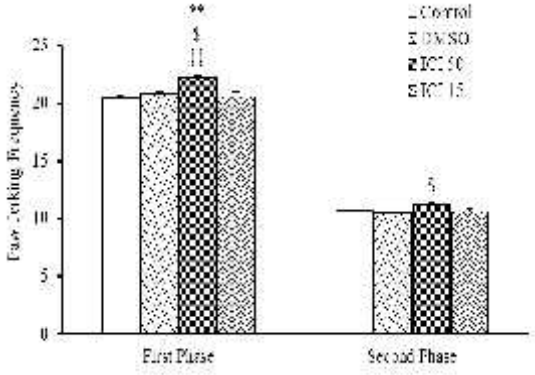
[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-06-10 ]
[ DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.7.1.2 ]

اول آزمون فرمالین نسبت به گروه‌های کنترل (p<۰/۰۰۱)، Sham (p<۰/۰۰۱)، سالین (p<۰/۰۰۱) و DMSO (p<۰/۰۵) به طور معنی‌داری کاهش داد (نمودار ۱). هم‌چنین، تزریق ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا-استرادیول در طی فاز دوم تعداد دفعات تکان دادن پای ملتهب را نسبت به گروهای کنترل، سالین، Sham و DMSO (p<۰/۰۰۱) به طور معنی‌داری کاهش داد (نمودار ۱).

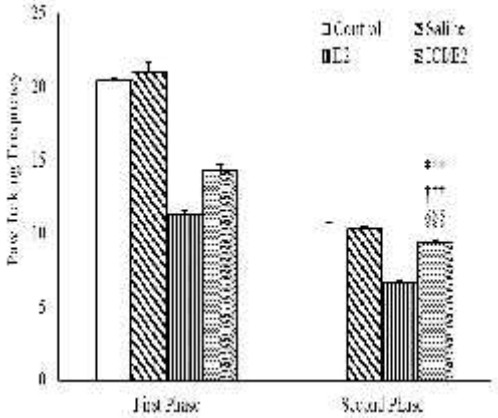
تزریق ۵۰ نانومول ۷۸۰,۱۸۲ ICI فاز اول رفتار تکان دادن پای ملتهب را نسبت به گروه‌های کنترل (p<۰/۰۱)، DMSO (p<۰/۰۵) و دوز ۱۵ نانومول ۷۸۰,۱۸۲ ICI (p<۰/۰۰۱) به طور معنی‌داری افزایش داد (نمودار ۲). ولی تزریق ۱۵ نانومول ۷۸۰,۱۸۲ ICI اثر معنی‌داری روی رفتار تکان دادن پای ملتهب طی فاز اول و دوم آزمون فرمالین نداشت [(نمودار ۲) فاز اول (p=۰/۲۱۸) و فاز اول (p=۰/۴۷۳)].

از آن‌جایی که برای ادامه مطالعه دوزی از آنتاگونیست مورد نیاز بود که علی رغم داشتن اثر آنتاگونیستی تعدیل درد را تحت تأثیر قرار ندهد. براساس نتایج به دست آمده از همین مطالعه و براساس نتایج نمودار ۲ غلظت ۱۵ نانومول ۷۸۰,۱۸۲ ICI برای ادامه مطالعه انتخاب شد.

پیش‌تیمار هسته LPGi با ۱۵ نانومول ۷۸۰,۱۸۲ ICI ، بی‌دردی استرادیولی مربوط به فاز اول و دوم رفتار تکان دادن پای ملتهب را خنثی نمود [(p<۰/۰۰۱) و (نمودار ۳)]؛ ولی به طور کامل به شرایط کنترل برنگشت و هنوز تفاوت معنی‌داری با گروهای کنترل، سالین و استرادیول داشت [(p<۰/۰۰۱) و (نمودار ۳)].




***نمودار ۲. تعدیل درد ناشی از تزریق ۱۵ و ۵۰ نانومول ۱۸۲،۷۸۰ ICI (آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های استروژنی) به داخل هسته‌ی LPGi روی فاز اول و دوم فرکانس تکان‌دادن پای ملتهب در آزمون فرمالین. **(p<۰/۰۱) نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل، $(p<۰/۰۵) با گروه DMSO و ##(p<۰/۰۱) با گروه ICI 15nmol می‌باشد. میانگین پاسخ رفتاری دقیقه اول تا دقیقه ۷ آزمون به عنوان فاز اول و میانگین پاسخ رفتاری بین دقیقه‌های ۱۶ تا ۶۰ به عنوان فاز دوم در نظر گرفته شد. ۶ سر موش صحرایی به صورت تصادفی در هر گروه قرار گرفت و داده‌ها به‌صورت Mean±SEM نشان داده شده‌اند. Control: حیوانات دست‌نخورده، DMSO: تزریق DMSO به هسته LPGi، ICI 50 nmol: تزریق ۵۰ نانومول ۱۸۲،۷۸۰ ICI به هسته LPGi و ICI 15 nmol: تزریق ۱۵ نانومول ۱۸۲،۷۸۰ ICI به هسته LPGi.***




***نمودار ۳. اثر پیش‌تیمار هسته‌ی LPGi با ۱۵ نانومول ICI 182,780 روی تعدیل دردر ناشی از تزریق ۱۷بتا-استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi در آزمون درد التهابی ناشی از فرمالین. میانگین پاسخ رفتاری دقیقه اول تا دقیقه ۷ آزمون به عنوان فاز اول و میانگین پاسخ رفتاری بین دقیقه‌های ۱۶ تا ۶۰ به عنوان فاز دوم در نظر گرفته شد. ۶ سر موش صحرایی به صورت تصادفی در هر گروه قرار گرفت و داده‌ها به‌صورت Mean±SEM نشان داده شده‌اند. ***(p<۰/۰۰۱) نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل، †††(p<۰/۰۰۱) با گروه سالین و §§§(p<۰/۰۰۱) با گروه ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا-استرادیول می‌باشد. Control: حیوانات دست‌نخورده، Saline: تزریق نرمال‌سالین به هسته‌ی LPGi، E2: تزریق ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا-استرادیول به هسته‌ی LPGi و ICI/E2: تزریق ۱۵ نانومول ۱۸۲،۷۸۰ ICI به داخل هسته LPGi، ۱۵ دقیقه پیش از تزریق ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا-استرادیول.***



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-06-10 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.7.1.2 ]

## بحث

نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر نشان داد که تزریق دوز ۰/۸ میکرومول ۱۷ بتا-استرادیول طی فاز استروس چرخه فحلی به هسته LPGi موش‌های صحرایی ماده سبب القاء بی‌دردی شده است، به طوری‌که رفتار تکان دادن پای ملتهب ناشی از تزریق فرمالین را در مقایسه با گروه کنترل کاهش داده است. پیش‌تیمار این هسته با آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های استروژن (ICI ۷۸۰,۱۸۲) از القاء اثر بی‌دردی جلوگیری کرده است ولی احساس درد هنوز به شرایط پایه برنگشته است. بنابراین احتمال دارد که گیرنده‌های استروژنی در القاء بخشی از اثر بی‌دردی ناشی از ۱۷بتا-استرادیول درگیر باشند. استرادیول در تعدیل درد نقش دارد [۱۳] و تزریق آن پاسخ‌های رفتاری به دردزاهای حاد و پایدار را هم در حیوانات ماده [۲۲] و هم در حیوانات نر [۲۳] تغییر می‌دهد. بسیاری از مطالعات اخیر نیز نقش استروئیدهای جنسی را در پاسخ به درد زا حاد بررسی کرده‌اند ولی نتایج گزارش شده بحث برانگیز هستند. به عنوان مثال هم افزایش و هم کاهش آستانه پاسخ به آزمون صفحه داغ و مدت زمان تأخیر آزمون پس کشیدن دم به وسیله استرادیول گزارش شده است [۲۵-۲۴]. در پژوهش اخیر نیز ۱۷ بتا-استرادیول به داخل هسته LPGi موش‌های صحرایی ماده طی فاز استروس چرخه فحلی تزریق شد تا اثرات مرکزی این نورواستروئید در پردازش پاسخ‌های رفتاری به درد التهابی ناشی از تزریق فرمالین طی فاز اول (فاز حاد درد) و فاز دوم (فاز درد مداوم) آزمون فرمالین بررسی شود. در این پژوهش نیز در ادامه مطالعات پیشین، غلظت ۰/۸ میکرومول ۱۷ بتا-استرادیول که در مطالعات پیشین اثر ضددردی موٴثرتری را بر روی رفتار تکان دادن پای ملتهب اعمال می‌کرد، برای ادامه آزمایشات انتخاب شد. تزریق ۰/۸ میکرومول ۱۷ بتا-استرادیول به داخل هسته LPGi موش‌های صحرایی ماده در طی فاز استروس، فرکانس رفتار تکان دادن پای ملتهب را در هر دو فاز اول و دوم آزمون فرمالین کاهش داد که نشان دهنده اثر ضددردی آن روی درد حاد و پایدار می‌باشد. به دلیل آن که رفتار تکان دادن پای ملتهب یک رفلکس فازیک است، بنابراین کاهش فرکانس این رفتار نشان‌دهنده افزایش آستانه درد است. چرخه فحلی حیوانات ماده و چرخه ترشح هورمون‌های جنسی، اعمال مختلف سیستم عصبی از جمله درک درد را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۵]. آستانه درد در موش‌های صحرایی ماده در فازهای مختلف چرخه فحلی متفاوت می‌باشد به گونه‌ای که در مدل دردی تحریک دردزا پای عقبی، آستانه درد در فاز پرواستروس و استروس نسبت به سایر فازهای چرخه فحلی پایین‌تر است [۲۶، ۶]، که نتایج این مطالعه مغایرت دارد. با این حال نشان داده شده است که در مدل درد حرارتی آزمون پس کشیدن دم، موش‌های صحرایی ماده طی فاز استروس دارای بالاترین قدرت تحمل هستند که فقط یک درجه پایین‌تر از جنس نر می‌باشد [۲۷، ۱۳]، که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق ۱۷ بتا-استرادیول به هسته LPGi، طی هر دو فاز اول و دوم آزمون فرمالین دارای اثر ضد دردی بوده است. Kuba و همکاران نشان دادند که در موش‌های صحرایی



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-06-10 ]
[ DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.7.1.2 ]

اوارکتومی شده، استرادیول اثری روی فاز حاد آزمون فرمالین ندارد [۲۷]، که با نتایج ما مغایرت دارد. Mannino و همکاران نیز نشان دادند که تزریق دوزهای مختلف ۱۷بتا-استرادیول به موش‌های صحرایی ماده پاسخ‌های رفتاری ناشی از تزریق فرمالین را طی فاز حاد آزمون فرمالین تغییر نمی‌دهد و این رفتارها فقط طی فاز مزمن آزمون کاهش می‌یابد [۲۸]. Khakpay و همکاران نیز نشان دادند که تزریق ۱۷بتا-استرادیول به داخل هسته لوکوس سرلئوس اثری بر فاز حاد رفتارهای القاء شده با فرمالین ندارد، ولی فاز دوم این رفتارها را کاهش می‌دهد [۲۰].

اما غلظت و نحوه تزریق استرادیول، روش‌های سنجش درد و جنس حیوانات مورد استفاده در مطالعات ذکر شده متفاوت بوده است. استرادیول فاز دوم آزمون فرمالین را در موش‌های صحرایی اوارکتومی شده، از طریق تغییر سطوح پروستاگلاندین E2 و کورتیزول تعدیل می‌نماید [۲۷]، که در پژوهش حاضر نیز استرادیول در پاسخ به درد التهابی القاء شده با فرمالین نقش داشته و باعث کاهش احساس درد گردید. تزریق داخل بطنی استرادیول به موش‌های صحرایی نر رفتارهای تکان دادن، لیسیدن و خم کردن پای ملتهب را کاهش می‌دهد [۲۳]، که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. هم‌چنین Khakpay و همکاران گزارش دادند که تزریق ۱۷ بتا-استرادیول به هسته LPGi، رفتارهای ناشی از فرمالین را در فاز دوم آزمون فرمالین کاهش می‌دهد [۲۹].

در موش‌های صحرایی ماده در مقایسه با موش‌های صحرایی نر تحریک‌پذیری فیبرهای آوران اولیه در فاز دوم آزمون فرمالین بالاتر است که توسط استرادیول القاء می‌گردد [۳۰]، که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد. استرادیول در مدل درد التهابی ناشی از فرمالین سبب کاهش رفتارهای ناشی از درد می‌شود [۲۸]، که با یافته‌های مطالعه حاضر سازگار است. برخلاف یافته‌های این مطالعه، Gaumond و همکارانش نشان دادند که در طی اینترفاز آزمون فرمالین، هورمون‌های تخمدانی نقش بارزتری را در کنترل و تعدیل درد ایفاء می‌کنند و اثر تعدیلی ۱۷بتا-استرادیول نسبت به سایر مشتقات هورمون‌های جنسی ماده بیشتر می‌باشد [۳۱]. با این حال، کارایی هورمون‌های جنسی مردانه، و به طور عمده تستوسترون، در کاهش احساس درد در فاز حاد و مزمن آزمون فرمالین بسیار بیشتر است بدون آن‌که اثری بر فاز میانی داشته باشند [۳۱]، ولی غلظت و نحوه تزریق استرادیول در مطالعات ذکر شده متفاوت بوده است. برخلاف این یافته‌ها و مطابق با نتایج پژوهش حاضر، Ceccarelli و همکارانش نشان دادند که انجام عمل گنادکتومی در حیوانات نر اثری بر نتایج آزمون فرمالین ندارد و در این حیوانات نتایج آزمون فرمالین مشابه حیوانات سالم می‌باشد [۳۲]، که این امر نشان دهنده اثرات متفاوت هورمون‌های جنسی در تعدیل فازهای مختلف درد می‌باشد [۳۳]. تزریق دوز بالاتر آنتاگونیست گیرنده ۱۷بتا-استرادیول (ICI ۷۸۰,۱۸۲) به داخل هسته LPGiسبب ایجاد پر دردی شد که با اثر آنتاگونیستی این دارو بر روی گیرنده‌های استروژنی قابل توجیه است، ولی دوز ۱۵ نانومول ICI ۷۸۰,۱۸۲ تعدیل درد را تحت تأثیر قرار نداد، و به همین دلیل برای ادامه مطالعه انتخاب شد.



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-06-10 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.7.1.2 ]

در این مطالعه پیش‌تیمار هسته LPGi با ۷۸۰,۱۸۲ ICI اثر ضددردی ۱۷بتا-استرادیول روی رفتار تکان دادن پای ملتهب طی فاز استروس چرخه فحلی را خنثی نمود ولی این اثر چندان قوی نبود و نتوانست آن را به شرایط پایه‌ای و کنترل برگرداند. مطابق با این مطالعه Khakpay و همکاران گزارش کردند که بخشی از بی‌دردی ناشی از ۱۷ بتا-استرادیول روی رفتار تکان دادن پای ملتهب در موش‌های صحرایی نر به وسیله گیرنده‌های استروژنی وساطت می‌شود [۲۹].

تزریق آنتاکونیست گیرنده ۱۷ بتااسترادیول به داخل هسته لوکوس سرلئوس نتوانست اثرات ضد دردی ۱۷بتا-استرادیول روی رفتارهای التهابی ناشی از فرمالین را در موش‌های صحرایی نر خنثی نماید [۲۰، ۳]، که با نتایج حاضر مغایرت دارد، اما غلظت و محل تزریق استرادیول و جنس حیوانات مورد استفاده در مطالعات ذکر شده متفاوت بوده است. با این‌حال، به دلیل عوارض جانبی هورمون‌درمانی، مطالعات تکمیلی درباره مکانیسم اثر ۱۷بتا-استرادیول و نقش گیرنده‌های غشایی سایر نوروترانسمیترها مانند گیرنده‌های NMDA، AMPA/Kainate و GABAA پیشنهاد می‌شود.

## نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تزریق ۱۷ بتا-استرادیول به داخل هسته LPGi طی فاز استروس چرخه فحلی باعث القاء بی‌دردی قوی می‌شود. از آن‌جایی که کاهش فرکانس رفتار تکان دادن پای ملتهب نشان‌دهنده افزایش آستانه درد است، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که در سطح رفتاری، ممکن است گیرنده‌های استروژنی هسته LPGi در اثر ضددردی استرادیول درگیر باشند. اثر ضددردی ۱۷بتا-استرادیول احتمالا" با فعال‌سازی گیرنده‌های استروژنی هسته LPGi، هسته لوکوس سرولئوس و مسیر پایین‌روی نورآدرنرژیک تعدیل درد را فعال نموده و فعالیت نورونی مدارهای نخاعی تحریک شده با محرک‌های دردی را تحت تأثیر قرار داده و سبب القاء بی‌دردی می‌گردد. بنابراین جایگزینی استرادیول در بانوان و به ویژه بانوان یائسه ممکن است به عنوان یکی از راه-کارهای درمانی احتمالی برای تسکین دردهای پایدار و مداوم تا حدودی مفید واقع شود.

## تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی و تامین بودجه اجرای پروژه توسط دانشگاه تبریز به انجام رسیده است. بدین وسیله از این دانشگاه تشکر و قدردانی می‌شود.

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-06-10 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.7.1.2 ]

## References


[1] Tracey I, Mantyh PW. The cerebral signature for pain perception and its modulation. *Neuron* 2007; 55(3): 377-91 .

[2] Aston-Jones G, Shipley MT, Chouvet G, Ennis M, van Bockstaele E, Pieribone V, et al. Afferent regulation of locus coeruleus neurons: anatomy, physiology and pharmacology. *Prog brain res* 1991; 88: 47-75.

[3] Andrezik JA, Chan-Palay V, Palay SL. The nucleus paragigantocellularis lateralis in the rat. Conformation and cytology. *Anat Embryol* 1981; 161(4): 355-71.

[4] Shen F, Yu W. Study of cytochemical properties in the nucleus paragigantocellularis lateralis of rats. *J West China Uni Med Sci* 1994; 25(3): 271-4.

[5] Long JA, Evans HM. The oestrous cycle in the rat and its associated phenomena. *University of California Press*; 1922.

[6] Marcondes FK, Bianchi FJ, Tanno AP. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Brazil J Biol* 2002; 62(4A): 609-14.

[7] Normandin JJ, Murphy AZ. Nucleus paragigantocellularis afferents in male and female rats: organization, gonadal steroid receptor expression, and activation during sexual behavior. *J Comp Neurol* 2008; 508(5): 771-94.

[8] Fillingim RB, Ness T. Sex-related hormonal influences on pain and analgesic responses. *Neurosci Biobehav Rev* 2000; 24(4): 485-501.

[9] Chen Y, Cui Y, Lin JW, Xiang QL, Liu WF, Wang TH. Modulatory role of estradiol in nicotinic antinociception in adult female rats. *Life Sci* 2009; 85(1-2): 91-6.

[10] Gaumond I, Arsenault P, Marchand S. The role of sex hormones on formalin-induced nociceptive responses. *Brain res* 2002; 958(1): 139-45.

[11] Chanda ML, Mogil JS. Sex differences in the effects of amiloride on formalin test nociception in mice. *American J Physiol-Regul* 2006; 291(2): R335-R42.

[12] Gulinello M, Smith SS. Anxiogenic effects of neurosteroid exposure: sex differences and altered GABAA receptor pharmacology in




[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-06-10 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.7.1.2 ]

adult rats. *J pharmacol Exper Ther* 2003; 305(2): 541-8.

[13] 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.

[14] Jahangiri L, Kesmati M, Najafzadeh H. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory effect of nanoparticles of magnesium oxide in mice with and without ketamine. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013; 17(20): 2706-10.

[15] Khakpay R, Ansari S, Khakpai F. The antinociceptive effect of 17 β-estradiol in the paragigantocellularis lateralis nucleus of ovariectomized female rats mediated by estrogen Receptors. *Arak Med Uni J* 2017; 20(125): 29-38.

[16] Khakpay R, Barani S, Hatami Nemati H. Assessing the effect of intra-paragigantocellularis lateralis injection of 17β-estradiol on the acute and persistent pain in the male rat. *Physiol Pharmacol* 2015; 18(4): 455-65.

[17] Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1983; 16(2): 109-10.

[18] Heidarifar R, Mehran N, Heidari A, Tehran HA, Koohbor M, Mansourabad MK. Effect of Dill (Anethum graveolens) on the severity of primary dysmenorrhea in compared with mefenamic acid: A randomized, double-blind trial. *J Res Med Sci* 2014; 19(4): 326-30.

[19] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates (6rd ed.). *Academic PressLondonUK* 2007.

[20] Khakpay R, Semnanian S, Javan M, Janahmadi M. The effect of intra-locus coeruleus injection of 17beta-estradiol on inflammatory pain modulation in male rat. *Behav Brain Res* 2010; 214(2): 409-16.

[21] Khakpay R, Azaddar M, Khakpay F, Hatami Nemati H. Analgesic Effect of 17beta-Estradiol on Nucleus Paragigantocellularis Lateralis of Male Rats Mediated Via GABAA Receptors. *Basic Clin Neurosci* 2017; 8(1): 51-60.

[22] Stoffel EC, Ulibarri CM, Craft RM. Gonadal steroid hormone modulation of nociception, morphine antinociception and reproductive



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-06-10 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.7.1.2 ]

indices in male and female rats. *Pain* 2003; 103(3): 285-302.

[23] Aloisi AM, Ceccarelli I. Role of gonadal hormones in formalin-induced pain responses of male rats: modulation by estradiol and naloxone administration. *Neurosci* 2000; 95(2): 559-66.

[24] McEwen BS, Coirini H, Westlind-Danielsson A, Frankfurt M, Gould E, Schumacher M, et al. Steroid hormones as mediators of neural plasticity. *J Steroid Biochem Molecul Biol* 1991; 39(2): 223-32.

[25] Tsuruoka M, Willis WD, JR. 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): 233-6.

[26] Longhurst PA, Levendusky M. Influence of gender and the oestrous cycle on in vitro contractile responses of the rat urinary bladder to cholinergic stimulation. *Br J Pharmacol* 2000; 131(2): 177-84.

[27] Kuba T, Kemen LM, Quinones-Jenab V. Estradiol administration mediates the inflammatory response to formalin in female rats. *Brain Res* 2005; 1047(1): 119-22.

[28] 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): 334-42.

[29] Khakpay R, Barani S, Hatami Nemati H. Assessing the effect of intra-paragigantocellularis lateralis injection of 17β-estradiol on the acute and persistent pain in the male rat. *Physiol Pharmacol* 2015; 18(4): 455-65.

[30] Zhang H, Xie M, Schools GP, Feustel PF, Wang W, Lei T, et al. Tamoxifen mediated estrogen receptor activation protects against early impairment of hippocampal neuron excitability in an oxygen/glucose deprivation brain slice ischemia model. *Brain Res* 2009;1247: 196-211.

[31] Gaumond I, Spooner MF, Marchand S. Sex differences in opioid-mediated pain inhibitory mechanisms during the interphase in the formalin test. *Neurosci* 2007; 146(1): 366-74.

[32] Ceccarelli I, Scaramuzzino A, Massafra C, Aloisi AM. The behavioral and neuronal



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-06-10 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.7.1.2 ]

modulate G protein-coupled receptors via activation of protein kinase A and protein kinase C pathways. *Steroids* 1999; 64(1-2): 64-75.

effects induced by repetitive nociceptive stimulation are affected by gonadal hormones in male rats. *Pain* 2003; 104(1-2): 35-47.

[32] Kelly MJ, Lagrange AH, Wagner EJ, Ronnekleiv OK. Rapid effects of estrogen to

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-06-10 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.7.1.2 ]

# The Role of Estrogen Receptors of Paragigantocellularis Lateralis Nucleus in the Formalin-Induced Pain Modulation in Female Rats

**R. Khakpay[1], Z. Heidarzadeh[2], F. Khakpai[3]**

**Received: 10/06/2017 Sent for Revision: 28/10/2017 Received Revised Manuscript: 01/05/2018 Accepted: 20/06/2018**

**Background and Objectives:** Since intra-paragigantocellularis lateralis (LPGi) injection of 17β-estradiol induces strong analgesia in male rats which might be mediated via estrogen receptors, this study investigated the role of estrogen receptors of LPGi nucleus in the modulation of formalin-induced pain (while being stimulated by 17β-estradiol) during estrus phase in female rats.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 48 female Wistar rats (200-270 gr) were randomly divided into 8 groups including control, sham, normal saline (17β-estradiol solvent), DMSO (ICI182,780 solvent), 17β-estradiol, estrogen receptor antagonist (ICI182,780; 15&50 nmol) and ICI182,780/17β-estradiol. After entrance into the estrus phase, drugs were injected into the LPGi nucleus; 15 minutes later, formalin injection (5%, 50 µl) was done into the left rat's hind paw and formalin-induced paw jerking behavior was recorded for 1 hr. Data were analyzed using one-way ANOVA analysis followed by Tukey multiple comparison test.

**Results:** The results of this research showed that during estrus phase, the treatment of LPGi nucleus with 17β-estradiol significantly attenuated paw jerking behavior in the both phases of formalin test ($p<0.001$). Pretreatment of the LPGi nucleus with ICI182,780 prevented the 17β-estradiol-induced antinociception ($p<0.001$).

**Conclusion:** Based on these results, it can be suggested that intra-LPGi injection of 17β-estradiol induces robust analgesia during the estrus phase in female rats; and this effect may be mediated via estrogen receptors.

**Key words:** 17β-Estradiol, Estrus phase, ICI182,780, Pain modulation, Paragigantocellularis lateralis nucleus, Female rat

**Funding:** This research was funded by University of Tabriz.

**Conflict of interest:** None declared.

**Ethical approval:** The Ethics Committee of University of Tabriz approved the study (303/52).

**How to cite this article:** Khakpay R, Heidarzadeh Z, Khakpai F. The Role of Estrogen Receptors of Paragigantocellularis Lateralis Nucleus in the Formalin-Induced Pain Modulation in Female Rats. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2018; 17 (7): 597-610. [Farsi]

*1- Assistant Prof., Dept. of Animal Science, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran, ORCID: 0000-0002-8845-8045*
*(Corresponding Author) Tel: (041)33392745, Fax: (041)33356027, Email: rkhakpai@gmail.com*
*2- MSc Student of Animal Physiology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran, ORCID: 0000-0002-9788-3844*
*3- Assistant Prof., Cognitive and Neuroscience Research Center (CNRC), Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences Branch, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0001-7395-9974*



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-06-10 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1397.17.7.1.2 ]