Arak Medical University Journal (AMUJ)
2017; 20(124): 23-33

Original Article

The Role of NMDA Receptors of the Paragigantocellularis Lateralis Nucleus in the Antinociceptive Effect of 17β-estradiol in Ovariectomized Female Rats

Roghaieh Khakpay[1*], Hanieh Feizy[2], Farzam Sheikhzadeh Hesari[3]

1. Assistant Professor of Physiology, Department of Animal Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2. M.Sc. Student of Animal Physiology, Department of Animal Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
3. Associate Professor of Physiology, Department of Animal Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Received: 17 Jul 2017, Accepted: 3 Sep 2017

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 7:14 +0330 on Tuesday September 26th 2017

Abstract

Background: 17β-Estradiol modulates nociception by binding to the estrogen receptors and also by allosteric interaction with other membrane-bound receptors like the NMDA receptors. The paragigantocellularis lateralis nucleus (LPGi) is also involved in the pain modulation. In this study, the role of NMDA receptors of the LPGi nucleus has been investigated in the 17β-estradiol-induced pain modulation in the ovariectomized rats.

Materials and Methods: In this study, the female Wistar rats in the range of 200-270 gr were used. In order to study the role of the NMDA receptors in the 17β-estradiol-induced pain modulation in the ovariectomized rats, primarily, rats were bilaterally ovariectomized and immediately cannulation of the LPGi nucleus was performed. Then, drugs were injected and 15 minutes later 50 µl of 5% formalin was injected into the rat's hind paw; and formalin-induced paw jerking behaviour was recorded for 60 min.

Results: The results of the present study showed that the intra-LPGi injection of 17β-estradiol significantly reduced the paw jerking behavior both in the first and in the second phases of formalin test. Pretreatment of the LPGi nucleus by NMDA receptor antagonist (AP5) neutralized the antinociceptive effect of 17β-estradiol on the paw jerking frequency in the both phases of formalin test; and induced hyperalgesia in the both phases of this behavior.

Conclusion: These results indicated that the intra-LPGi injection of 17β-estradiol produces modest analgesia on the formalin-induced inflammatory pain. Therefore, it can be concluded that the NMDA receptors of the paragigantocellularis lateralis nucleus are probably involved in the antinociceptive effect of 17β-estradiol in the ovariectomized rats.

Keywords: Analgesia, Formalin test, NMDA receptor, Ovariectomy.

*Corresponding Author:
Address: Department of Animal Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
E-mail: rkhakpai@gmail.com

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۲۰، شماره ۷ (شماره پیاپی ۱۲۴)، مهر ۱۳۹۶، ۳۳-۲۳

نقش گیرنده‌های NMDA هسته‌ی پاراژیگانتوسلولاریس کناری در اثر ضددردی ۱۷بتا- استرادیول در موش‌های صحرایی ماده‌ی اوارکتومی‌شده

رقیه خاکپای[1*]، هانیه فیضی[2]، فرزام شیخ‌زاده حصاری[3]

۱. استادیار فیزیولوژی، گروه علوم‌جانوری، دانشکده‌ی علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه علوم‌جانوری، دانشکده‌ی علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۳. دانشیار فیزیولوژی، گروه علوم‌جانوری، دانشکده‌ی علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۴/۲۶، تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۱۲

چکیده

زمینه و هدف: ۱۷بتا-استرادیول درک درد را از طریق اتصال به گیرنده‌های استروژنی یا گیرنده‌های غشایی سایر نوروترانسمیترها مثل گیرنده‌های NMDA تعدیل می‌نماید. هسته‌ی پاراژیگانتوسلولاریس کناری (LPGi) نیز در تعدیل درد نیز نقش دارد. در این پژوهش، نقش گیرنده‌های NMDAی این هسته 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 ویستار در محدوده‌ی وزنی ۲۰۰ تا ۲۷۰ گرم استفاده شد. برای بررسی نقش گیرنده‌های NMDA در تعدیل درد ناشی از ۱۷بتا- استرادیول در موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده، ابتدا موش‌های صحرایی به صورت دوطرفه اوارکتومی شده و بلافاصله کانول‌گذاری هسته‌ی LPGi انجام شد. سپس داروها تزریق و پس از ۱۵ دقیقه ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۵ درصد به پنجه‌ی پای حیوان تزریق شد و رفتار تکان‌های ناگهانی پای ملتهب ناشی از تزریق فرمالین به مدت ۶۰ دقیقه ثبت گردید.

یافته‌ها: نتایج مطالعه‌ی اخیر نشان داد که تزریق ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi تکان دادن پا را هم در فاز اول و هم در فاز دوم آزمون فرمالین کاهش داد. پیش‌تیمار هسته‌ی LPGi با آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA (AP5) اثر ضددردی ۱۷بتا- استرادیول روی فرکانس تکان دادن پای ملتهب را طی هر دو فاز آزمون فرمالین خنثی نموده و سبب القای پردردی در هر دو فاز این رفتار شد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهند که تزریق ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi، بی‌دردی متوسطی روی درد التهابی القاشده با فرمالین ایجاد می‌کند. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً گیرنده‌های NMDA هسته‌ی LPGi در اثر ضددردی ۱۷بتا- استرادیول در موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده درگیر هستند.

واژگان کلیدی: بی‌دردی، آزمون فرمالین، گیرنده‌ی NMDA، اوارکتومی

* **نویسنده مسئول:** ایران، تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده‌ی علوم‌طبیعی،گروه علوم‌جانوری

E-mail: rkhakpai@gmail.com

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 7:14 +0330 on Tuesday September 26th 2017

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 7:14 +0330 on Tuesday September 26th 2017

مقدمه

پاسخ‌های رفتاری، هورمونی و عصبی حیوانات ماده به محرک‌های دردناک به مراتب شدیدتر از حیوانات نر می‌باشد. شواهدی وجود دارد که استروژن سبب پردردی و تستوسترون سبب بی‌دردی می‌گردد (۱). بنابراین، کیفیت و کمیت تعدیل درد توسط نورواستروئیدها در جنس‌های نر و ماده متفاوت است (۱). استرادیول استروئیدی است که از تخمدان‌های جنس ماده ترشح می‌شود، در حالی‌که در جنس نر استرادیول توسط آنزیم آروماتاز از تستوسترون سنتز می‌شود. بنابراین تعجب‌آور نیست که استرادیول اثرات متفاوتی را روی مغز نر و ماده اعمال نماید (۲). نقش ۱۷بتا- استرادیول در تعدیل درد به خوبی نشان داده شده است (۳). ۱۷بتا- استرادیول با اتصال به گیرنده‌های داخل‌سلولی و کلاسیک خود و همچنین از طریق واکنش آلوستریک با گیرنده‌های غشایی نوروترانسمیترها مثل گیرنده‌های گلوتاماتی و GABA درد را تعدیل می‌کند (۳). تزریق ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi موش‌های صحرایی نر سبب القای اثر ضددردی روی درد التهابی القاشده با فرمالین می‌شود. این اثر ضددردی ۱۷بتا- استرادیول احتمالا از طریق واکنش با گیرنده‌های NMDA هسته‌ی LPGi موش‌های صحرایی نر میانجی‌گری می‌شود (۳). گیرنده‌های NMDA در روند پردازش درد نقش اساسی دارند؛ به طوری‌که شواهد زیادی مبنی بر نقش گیرنده‌های NMDA (NMDAR) در القا و حفظ پردردی وجود دارد (۴). گیرنده‌های NMDA در پاسخ به درد ناشی از فرمالین توسط گلوتامات فعال می‌شوند؛ هم-چنین، تزریق فرمالین به پنجه‌ی پای حیوان موجب آزادشدن گلوتامات و آسپارتات در شاخ‌خلفی نخاع (DRG) می گردد (۵). شکل‌پذیری مدار عصبی تعدیل‌کننده‌ی درد به - طور وابسته به زمان تغییر می‌کند؛ و تغییرات شکل‌پذیری از طریق تغییرات ساختاری گیرنده‌های NMDA، تغییرات بیان ژن گیرنده‌های NMDA و تغییرات فنوتیپی سلول‌های عصبی ناحیه‌ی سری‌شکمی- میانی بصل‌النخاع (RVM) صورت می‌گیرد (۶). تفاوت‌های جنسی پاسخ زنان به درد که به وسیله‌ی گلوتامات وساطت می‌شود با افزایش بیان ژن NMDAR در سلول‌های عصبی آنان همراه است (۷). تزریق زیرجلدی استرادیول به موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده فعالیت و بیان گیرنده‌های NMDA نخاعی را در پاسخ به درد احشایی افزایش می‌دهد (۸). گیرنده‌های گلوتاماتی NMDA به صورت انتخابی توسط آنتاگونیست این گیرنده‌ها به نام AP5 مسدود می‌شوند (۳).

هسته‌ی پاراژیگانتوسلولاریس بخش وسیعی از تشکیلات مشبک بوده و به دو قسمت پشتی و کناری تقسیم می‌شود. قسمت کناری آن به نام پاراژیگانتوسلولاریس کناری یا LPGi یک هسته‌ی مشبک واقع در قسمت سری بصل‌النخاع است (۳). این ناحیه به عنوان حس‌گر شیمیایی بصل‌النخاع شناخته شده، و اعمال قلبی- عروقی، تنفس، پاداش، رفتارهای جنسی، تعدیل درد و وابستگی به مورفین را تحت‌تاثیر قرار می‌دهد (۹). هسته‌ی LPGi ورودی‌هایی را از هسته‌ی لوکوس‌سرلئوس (LC)، تشکیلات مشبک بصل‌النخاعی، هسته‌ی دستجات منزوی، هسته‌ی PAG و هسته‌ی رافه دریافت می‌کند (۱۰)، که نشان‌دهنده‌ی نقش این هسته در تعدیل درد می‌باشد. مهم‌ترین و واضح‌ترین خروجی عصبی از هسته‌ی LPGi به هسته‌ی LC می‌باشد (۱۰). بیشترین نوروترانسمیتر رشته‌های وابران هسته‌ی LPGi در هسته‌ی LC، اسیدآمینه‌ی تحریکی گلوتامات می‌باشد (۱۱). نورون‌های هسته‌ی LPGi به عنوان بخشی از سیستم کنترل پایین‌روی درد معرفی شده‌اند (۱۱) و استطاله-های عصبی مستقیمی را به نخاع می‌فرستند.

مطالعات قبلی آزمایشگاه ما مشخص کرده‌اند که ممکن است اثر بی‌دردی تزریق ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi روی درد التهابی موش‌های صحرایی نر، از طریق گیرنده‌های NMDA میانجی‌گری شود (۳). بنابراین مطالعه‌ی حاضر به منظور بررسی مشارکت احتمالی گیرنده-های NMDA غشای سلول در اثر تعدیل‌کننده‌ی درد ناشی از تزریق ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi در موش‌های صحرایی ماده‌ی اوارکتومی‌شده انجام گرفته است.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 7:14 +0330 on Tuesday September 26th 2017

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از موش‌های صحرایی نژاد ویستار ماده، در محدوده‌ی وزنی ۲۰۰ تا ۲۷۰ گرم استفاده می‌شد که از دانشکده‌ی داروسازی دانشگاه علوم‌پزشکی تبریز خریداری می‌شدند. حیوانات به طور 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 می‌شدند. کلیه‌ی آزمایشات روی حیوانات با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی Institutional Animal Ethics Committee (IAEC) که توسط دانشگاه تبریز پذیرفته و امضا شده است، انجام شد.

چهل و دو موش صحرایی ماده در ۷ گروه آزمایشی به این ترتیب قرار گرفتند: گروه کنترل (آزمون فرمالین در حیوانات دست‌نخورده)، گروه شم/CAN (فقط کانول‌گذاری هسته‌ی LPGi)، گروه شم/OVX (فقط خروج ظاهری تخمدان‌ها)، گروه سالین (تزریق نرمال‌سالین به عنوان حلال ۱۷بتا- استرادیول به هسته‌ی LPGi موش صحرایی ماده‌ی اوارکتومی‌شده)، گروه ۱۷بتا- استرادیول (تزریق ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا- استرادیول به هسته‌ی LPGi موش صحرایی ماده‌ی اوارکتومی‌شده)، گروه AP5 (تزریق ۰/۵ نانومول AP5 به هسته‌ی LPGi موش صحرایی ماده‌ی اوارکتومی‌شده) و گروه ۱۷/AP5بتا- استرادیول (تزریق ۰/۵ نانومول AP5 به داخل هسته‌ی LPGi، ۱۵ دقیقه پیش از تزریق ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi موش صحرایی ماده‌ی اوارکتومی‌شده).

برای بررسی اثر استرادیول روی تعدیل پایین‌روی درد از آزمون فرمالین استفاده شد (۱۲). آزمون فرمالین باعث ایجاد یک درد دو مرحله‌ای می‌شود که فاز اول آن در اثر فعال‌شدن حاد گیرنده‌های درد و فاز دوم آن در اثر پاسخ‌های التهابی یا حساسیت بخش‌های مرکزی و تغییرات سیناپسی ایجاد می‌شود. آزمون فرمالین مدل رایجی برای بررسی درد در مدل‌های درد حاد، درد تونیک و درد التهابی و گاهی‌اوقات درد مزمن و/یا پردردی می‌باشد. بنابراین آزمون فرمالین هم نشانگر درد حاد و هم درد پایدار می‌باشد (۱). در این آزمون، ۵۰ میکرولیتر محلول فرمالین (خریداری‌شده از شرکت دکتر مجللی) ۵ درصد به زیر پوست پنجه‌ی پای چپ حیوان توسط سرنگ انسولین تزریق می‌شد. به دنبال تزریق فرمالین حیوان مجموعه‌ای از رفتارهای القاشده با فرمالین را نشان می‌داد؛ که در این مطالعه فرکانس رفتار تکان دادن پای ملتهب به مدت ۶۰ دقیقه طی دو مرحله- فاز اول از زمان تزریق تا دقیقه‌ی ۷ و فاز دوم از دقیقه‌ی ۱۶ تا دقیقه‌ی ۶۰ - ثبت می‌گردید.

موش‌های صحرایی ماده‌ی بالغ با چرخه‌ی فحلی نرمال با مخلوطی از کتامین (۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰میلی گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شده و جراحی با رعایت شرایط ضدعفونی انجام می‌شد. موش‌های صحرایی بی‌هوش‌شده به حالت استراحت بر روی سطح کناری قرار داده می‌شدند؛ به نحوی که سطح شکمی در امتداد دم به سمت جراح قرار گیرد. محل جراحی در سطح کناری تراشیده شده، با اسکراب جراحی تمیز می‌شد. برای رسیدن به حفره‌ی شکمی برشی دو سانتی‌متری در انتهای خلفی (دمی) قفسه‌ی سینه که ناحیه‌ی فلانک نام دارد زده شده و بافت چربی و عضلات این ناحیه کنار زده می‌شد. 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 می‌شد. سپس با برشی کوچک در نزدیکی تخمدان، تخمدان و بخشی از لوله‌های فالوپ برداشته شده، پس از بستن انتهای بریده‌شده‌ی لوله‌های فالوپ، بافت باقی‌مانده به داخل حفره-ی صفاقی برگردانده می‌شد. پس از اطمینان از عدم خونریزی، لیگاتور برداشته شده و عضلات و پوست ناحیه‌ی برش، بخیه زده می‌شد. تخمدان‌های چپ و راست هر دو با روشی مشابه از بدن خارج شده و حذف می‌گردیدند (۱۳). برای کانول‌گذاری، حیوان پس از اوارکتومی در دستگاه استریوتاکسی مستقر می‌گردید و پوست ناحیه‌ی سر به حداقل میزان برش داده می‌شد. پس از کنار زدن بافت‌های پوششی اطراف، نواحی برگما و لامبدا شناسایی شده و با

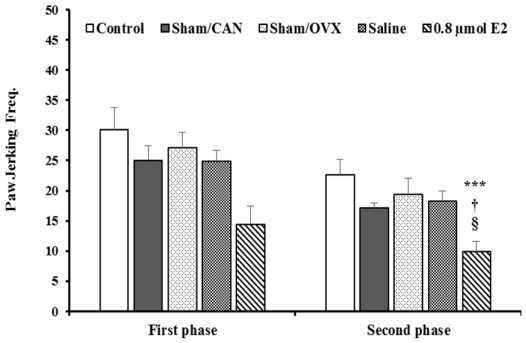
Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 7:14 +0330 on Tuesday September 26th 2017

نگرش به فاصله‌ی آن‌ها و نسبت آن با فاصله‌ی ذکر شده در اطلس پاکسینوس (قدامی- خلفی (AP): ۱۲-؛ طرفی (L): ۱/۶± و پشتی- شکمی (DV): ۱۰/۴ میلی‌متر) نواحی سطح جمجمه منطبق با هسته‌ی موردآزمایش مشخص می‌گردید (۱۴). بعد از علامت‌گذاری مناطق بالا با استفاده از مته‌های دندان‌پزشکی در محل مذکور منفذی به اندازه‌ی قطر کانول راهنما، که معمولا از سرسوزن نمره‌ی ۲۳ است، ایجاد شده و کانول راهنما به اندازه‌ای مشخص که برای هر هسته متفاوت است در درون مغز مستقر شده و قسمت رویی آن بر روی جمجمه به وسیله‌ی سیمان دندان‌پزشکی ثابت می‌شد. دو پیچ کوچک در استخوان جمجمه تعبیه و در درون سیمان دندان‌پزشکی فرو می‌رفت. این دو پیچ در حکم مسلح‌سازی سیمان بوده و از جداشدن آن از سطح جمجمه جلوگیری می‌کند. منفذ کانول راهنما در بیرون جمجمه به وسیله‌ی استایلت مسدود بوده و فقط در زمان‌های تزریق دارو برداشته می‌شد. یک کانول نازکتر که معمولا از سرسوزن شماره‌ی ۳۰ می‌باشد، به طول حدود دو میلیمیتر بلندتر (۱) از کانول راهنما تهیه شده و به عنوان کانول تزریق استفاده می‌شد؛ که از یک طرف به یک لوله‌ی نازک پلی‌اتیلن وصل می‌گردید و سر دیگر لوله‌ی پلی‌اتیلن به سرنگ هامیلتون وصل شده و ۵۰۰ نانولیتر از داروی موردنظر تزریق می‌شد. بعد از اتمام جراحی موش صحرایی باید به مدت یک هفته دوره‌ی بهبودی را طی می‌کرد تا برای آزمون رفتاری آماده گردد. برای اطمینان از تزریق صحیح دارو به هسته‌ی LPGi، پس از خاتمه‌ی آزمون، رنگ Pontamine sky blue به هسته‌ی LPGi تزریق می‌شد و حیوان با دوز بالای اتر قربانی می‌شد. سپس مغز حیوان خارج شده و محل تزریق رنگ بررسی می‌شد؛ فقط داده‌های مربوط به حیواناتی که تزریق دارو به درستی انجام شده بود برای آنالیز داده‌ها مورداستفاده قرار می‌گرفت.

آنالیز آماری داده‌ها با کمک آزمون آنووای یک‌طرفه وتست تعقیبی توکی با استفاده از نرم‌افزار SPSS و ترسیم نمودارها با برنامه Excel صورت گرفت. داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار برای ۶ سر موش صحرایی در هر گروه بیان شده و ($p<۰/۰۵$) به عنوان سطح معنی‌دار بودن داده‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

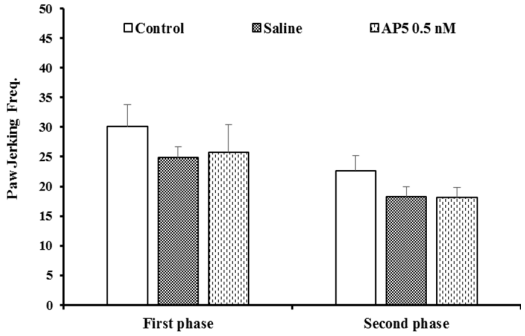
در پژوهش حاضر فازهای اول و دوم فرکانس تکان دادن پای ملتهب با گروه‌های کنترل، جراحی و کانول‌گذاری هسته‌ی LPGi (گروه شم/CAN)، اوارکتومی (گروه شم/OVX) و تزریق ۵۰۰ نانولیترسالین به عنوان حلال ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi تغییر معنی‌داری را نسبت به یکدیگر نشان ندادند (شکل ۱). تزریق دوز ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi، فاز اول فرکانس تکان دادن پای ملتهب را به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل ($p<۰/۰۱$) و گروه شم/OVX ($p<۰/۰۵$) کاهش داد (شکل۱). ۱۷بتا- استرادیول فاز دوم فرکانس تکان دادن پای ملتهب را به طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل ($p<۰/۰۰۱$)، سالین و شم/OVX ($p<۰/۰۵$) کاهش داد (شکل ۱).



شکل۱. اثر تزریق ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi روی فرکانس تکان دادن پای ملتهب به دنبال تزریق ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۵ درصد به سطح داخلی پنجه‌ی پای چپ. نمودار نشان‌دهنده‌ی القای بی‌دردی توسط تزریق ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi می‌باشد. * نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل، † با گروه شم/ OVX و § با گروه نرمال‌سالین می‌باشد. * نشان‌دهنده‌ی احتمال ($p<۰/۰۵$)، ** نشان‌دهنده‌ی احتمال ($p<۰/۰۱$) و * نشان‌دهنده‌ی احتمال ($p<۰/۰۰۱$) می‌باشد. فاز اول میانگین پاسخ رفتاری ۷ دقیقه‌ی اول آزمون و فاز دوم میانگین پاسخ رفتاری بین دقیقه‌های ۱۶ تا ۶۰ می‌باشد. تعداد حیوانات آزمایشگاهی در هر گروه ۶ سر بود و داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده‌اند.**

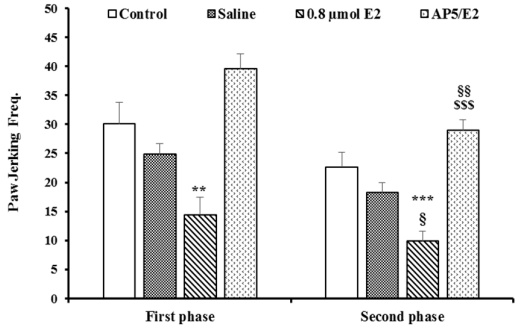
Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 7:14 +0330 on Tuesday September 26th 2017

در این مطالعه تزریق ۰/۵ نانومول AP5 (آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های NMDA) اثر معنی‌داری روی فرکانس تکان دادن پای ملتهب طی هر دو فاز آزمون فرمالین نداشت (شکل۲). از آن‌جایی‌که برای ادامه‌ی مطالعه، دوزی از آنتاگونیست موردنیاز بود که علی‌رغم داشتن اثر آنتاگونیستی، تعدیل درد را تحت‌تأثیر قرار ندهد؛ براساس نتایج به‌دست‌آمده، غلظت ۰/۵ نانومول AP5 برای ادامه‌ی مطالعه انتخاب شد.



شکل۲. اثر تزریق ۰/۵ نانومول AP5 (آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های NMDA) به داخل هسته‌ی LPGi روی فاز اول و دوم فرکانس تکان دادن پای ملتهب ناشی از تزریق ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۵٪ به سطح داخلی پنجه‌ی پای چپ. براساس نتایج بالا، تزریق ۰/۵ نانومول AP5 تعدیل درد را تحت‌تاثیر قرار نمی‌دهد. 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 صحرایی ماده‌ی اوارکتومی‌شده استفاده شده است. داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده‌اند.

برای بررسی نقش گیرنده‌های NMDA در اثر بی‌دردی ناشی از تزریق ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA، 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 رفتارهای دردی ناشی از فرمالین به مدت ۶۰ دقیقه بررسی شد. پیش‌تیمار هسته‌ی LPGi با ۰/۵ نانومول AP5، نه‌تنها اثر بی‌دردی ناشی از تزریق داخل هسته‌ی LPGi ۱۷بتا- استرادیول روی تکان دادن پای ملتهب را طی فاز اول و دوم آزمون فرمالین خنثی نمود ($p<۰/۰۰۱$)، بلکه باعث القای پردردی نیز شد ($p<۰/۰۱$) (شکل۳).



شکل۳. مقایسه‌ی رفتار ناشی از تزریق فرمالین میان گروه کنترل، سالین، ۱۷بتا- استرادیول و گروهی که ۱۵ دقیقه پیش از تزریق ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi، ۰/۵ نانومول AP5 دریافت کرده بودند. نمودار نشان‌دهنده‌ی فاز اول و فاز دوم آزمون فرمالین برای پاسخ تکان دادن پای ملتهب می‌باشد. به نظر می‌رسد اثر ضددردی ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا- استرادیول از طریق گیرنده‌های NMDA اعمال شده است. 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 سالین $ با گروه ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا- استرادیول می‌باشد. * نشان‌دهنده‌ی احتمال ($p<۰/۰۵$)، ** نشان‌دهنده‌ی احتمال ($p<۰/۰۱$)و * نشان‌دهنده‌ی احتمال ($p<۰/۰۰۱$)می‌باشد. تعداد حیوانات آزمایشگاهی در هر گروه ۶ سر بود و داده‌ها به - صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده‌اند.**

بحث

در مطالعه‌ی حاضر تزریق ۱۷بتا- استرادیول به هسته‌ی LPGi به منظور بررسی نقش این نورواستروئید در تعدیل پایین‌روی درد مورداستفاده قرار گرفت. نتایج ما نشان دادند که تیمار ۱۷بتا- استرادیول هر دو فاز اول و دوم رفتار تکان دادن پا را کاهش می‌دهد که با پیش‌تیمار آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA (AP5) کاملا این اثر معکوس می- گردد. از آن‌جایی که اثر ضددردی ۱۷بتا- استرادیول توسط پیش‌تیمار AP5 خنثی می‌شود؛ احتمالا بی‌دردی القاشده توسط ۱۷بتا- استرادیول در موش‌های صحرایی ماده

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 7:14 +0330 on Tuesday September 26th 2017

اوارکتومی‌شده توسط گیرنده‌های NMDA غشایی میانجی‌گری می‌شود.

هورمون‌های استروئیدی جنسی نقش چشمگیری را در ایجاد و کمیت ادراک درد در زنان و مردان ایفا می‌کنند (۱۵). شواهدی وجود دارد مبنی بر اینکه رفتار خم کردن پای ملتهب در موش‌های صحرایی جنس ماده نسبت به جنس نر در هر دو فاز آزمون فرمالین شدیدتر است (۱۶). مسئول این تفاوت‌های جنسی در پاسخ‌های درد پایدار و التهابی، هورمون استرادیول است (۱۶). نورواستروئیدها، ترکیبات ساختگی یا طبیعی هستند که به وسیله‌ی برهم‌کنش آلوستریک با گیرنده‌های GABAA و NMDA عملکرد سیستم عصبی مرکزی (CNS) را تحت‌تاثیر قرار می‌دهند (۱۷). سنتز نورواستروئیدها در مغز به طور ویژه‌ای تحت‌تاثیر گیرنده‌های NMDA قرار می‌گیرد (۱، ۱۸). به دلیل نقش تعدیل‌گری که نورواستروئیدها بر روی برانگیختگی مهاری یا تحریکی سیستم عصبی دارند، گمانه‌زنی‌ها برآن است که می‌توان از تعدیل‌گرهای نورواستروئیدی ویژه‌ای به منظور اصلاح نابسامانی‌های هومئوستاز مهاری- تحریکی و درمان طیف گسترده‌ای از اختلالات CNS شامل صرع، اوتیسم، اسکیزوفرنی، افسردگی و درد استفاده کرد (۱۷). ۱۷بتا- استرادیول به عنوان یک نورواستروئید عمل کرده و نقشی کلیدی را در تعدیل درد ایفا می‌نماید (۱، ۱۸). نتایج مطالعات پیشین آزمایشگاه ما نشان داد که تزریق ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi سبب کاهش پاسخ‌های القاشده توسط فرمالین شامل رفتارهای تکان دادن، خم - کردن و لیسیدن پای ملتهب در موش‌های صحرایی نر می‌گردد (۳). از سوی دیگر نشان داده شده است که تراکم گیرنده‌ی NMDA در فاز استروس بیش از دی‌استروس می‌باشد (۱۹)؛ بنابراین، به منظور برطرف کردن نوسانات هورمونی فاز استروس هم بر روی پاسخ‌های دردی و هم بر روی تراکم گیرنده‌های NMDA، موش‌های صحرایی ماده‌ی اوارکتومی‌شده به عنوان یک مدل حیوانی مورداستفاده قرار گرفتند. بنابراین، ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi موش‌های صحرایی ماده‌ی اوارکتومی شده تزریق شد. همچنین، آزمون فرمالین جهت بررسی اثرات بی‌دردی بالقوه‌ی ۱۷بتا- استرادیول و مکانیسم‌های اساسی آن در هسته‌ی LPGi مورد استفاده قرار گرفت.

در این پژوهش انجام اوارکتومی روی موش‌های صحرایی ماده، اثر معنی‌داری روی پاسخ‌های دردی ناشی از فرمالین نداشت. لی و همکارانش نشان دادند که نمره‌ی درد فرمالین در موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده افزایش می‌یابد (۲۰) که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مغایرت دارد. به طور مشابهی، سکارلی و همکارانش نیز گزارش کردند که در موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده، رفتارهای درد القاشده با فرمالین بسیار بیشتر است (۲۱). مغایر با یافته‌های این مطالعه، مانینو و همکارانش نشان دادند که اوارکتومی فازهای اول و دوم رفتارهای القاشده با فرمالین را افزایش می‌دهد و افزایش فاز دوم این رفتارها نسبت به موش‌های صحرایی دست‌نخورده‌ای که در فاز پرواستروس هستند، شدیدتر است (۱۱) که با نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر مغایرت دارد.

یافته‌های ما نشان دادند که تیمار هسته‌ی LPGi با ۱۷بتا- استرادیول هر دو فاز اول و دوم رفتار تکان دادن پا را کاهش می‌دهد. برخلاف نتایج مطالعه‌ی حاضر مبنی بر اثر ضددردی ۱۷بتا- استرادیول در فاز اول رفتار تکان دادن پای ملتهب، مطالعات متعددی وجود دارد که ۱۷بتا- استرادیول فاز اول این آزمون را تحت‌تأثیر قرار نداده است. مانینو و همکارانش نشان دادند که تزریق دوزهای مدرج شده‌ی ۱۷بتا- استرادیول به موش‌های صحرایی ماده پاسخ‌های رفتاری ناشی از تزریق فرمالین را طی فاز اول آزمون تغییر نمی‌دهد (۱۱)، که با نتایج این پژوهش مغایرت دارد. برخلاف نتایج مطالعه‌ی اخیر، کریستی و همکاران نشان دادند که اوارکتومی فاز اول رفتارهای القاشده با فرمالین را افزایش می‌دهد (۱۱). کوبا و همکاران نیز نشان دادند که در موش‌های صحرایی ماده‌ی اوارکتومی‌شده، استرادیول اثری روی فاز اول آزمون فرمالین ندارد (۱۶) که با نتایج این مطالعه ناسازگار است. تزریق داخل بطنی استرادیول به موش‌های صحرایی نر رفتارهای تکان دادن، لیسیدن و خم

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 7:14 +0330 on Tuesday September 26th 2017

کردن پای ملتهب را کاهش می‌دهد (۱۲) که با نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد. هم‌چنین مطابق با یافته‌های این پژوهش، هانتر و همکاران نیز گزارش کردند که تجویز استرادیول به موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده پاسخ‌های دردی ناشی از فرمالین را به شکل معنی‌داری کاهش می‌دهد (۲۲). گاموند و همکاران با بررسی رفتارهای لیسیدن و تکان دادن پای ملتهب در آزمون فرمالین مشاهده کردند که ایمپلنت ۱۷بتا- استرادیول پاسخ‌های فاز دوم را نسبت به موش‌های صحرایی کنترل اوارکتومی‌شده کاهش داده است (۲۳)، که با یافته‌های این مطالعه مطابقت دارد. احمدی و عسگری نیز نشان دادند که پس از اوارکتومی به دلیل کاهش هورمون‌های استرادیول و پروژسترون آستانه‌ی درد حرارتی کاهش می‌یابد و نتیجه گرفتند که استرادیول و پروژسترون نقش کلیدی در تعدیل درد و القای بی‌دردی ایفا می‌کنند (۲۴) که با یافته‌های پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. در مدل درد التهابی آزمون فرمالین، جایگزین‌کردن ۱۷بتا- استرادیول تا سطح فیزیولوژیک استروژن، اثر ضددردی داشته و در مدل درد التهابی ناشی از فرمالین سبب کاهش رفتارهای ناشی از درد می‌شود (۱۱) که با یافته‌های این مطالعه سازگار است. هم‌چنین مطابق با یافته‌های این مطالعه،گاموند و همکارانش نشان دادند که هورمون‌های جنسی ماده نقش مؤثری را در کنترل درد در فاز میانی آزمون فرمالین ایفا می‌کنند و در این بین نقش کنترلی ۱۷بتا- استرادیول نسبت به مشتقات دیگر این هورمون‌ها بیشتر می‌باشد (۲۵). مطابق با یافته‌های این پژوهش، کوبا و همکاران نشان دادند که تیمار حیوانات اوارکتومی‌شده با استرادیول و پروژسترون سبب بی‌دردی می‌شود (۱۶). همچنین نشان داده شده است که تزریق ۱۷بتا- استرادیول به موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده پاسخ آن‌ها به درد را کاهش می‌دهد و موجب افزایش مدت‌زمان تأخیر شروع پاسخ به محرک‌های حرارتی می‌شود (۲۶) که با یافته‌های این مطالعه سازگار است. در موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده، سطوح نورواستروئیدهایی هم‌چون ۱۷بتا- استرادیول می‌تواند دستخوش تغییر گردد. این تغییر می‌تواند بیان گیرنده‌ی نوروترانسمیتر و یا آزادسازی نوروترانسمیتر را تحت‌تاثیر خود قرار دهد (۱۹). برخلاف حیوانات ماده‌ی دست‌نخورده (intact)، در موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده تراکم گیرنده‌های NMDA به سطوح هورمونی نوسان‌کننده حساس است (۱۹). گیرنده‌های NMDA در شکل‌های مختلفی از شکل‌پذیری همانند وابستگی دارویی، اعتیاد، تکامل CNS و درد مزمن نقش اساسی ایفا می‌نمایند (۲۷). گیرنده‌های NMDA در شکل‌پذیری سیناپسی مربوط به پاسخ‌های دردی پایا، نقش کلیدی دارند (۲۷).

در این مطالعه تزریق دوز ۰/۵ نانومول AP5 به هسته‌ی LPGiی موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده تغییر معنی‌داری در پاسخ‌های دردی ناشی از فرمالین ایجاد نکرد. ولی مغایر با یافته‌های این پژوهش، تزریق d-AP5 به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌ی NMDA به داخل هسته‌ی PAG موش‌های صحرایی، سبب تسکین پاسخ‌های رفتاری در مدل آزمون فرمالین شد (۲۸). آمبریز-توتوتی و همکاران نشان دادند که آنتاگونیست انتخابی گیرنده‌های NMDA (MK801) به طور قابل‌توجهی تعداد تکان‌های پای ملتهب را در هر دو فاز آزمون فرمالین کاهش می‌دهد (۲۹) که با نتایج پژوهش اخیر مغایرت دارد. برای ادامه‌ی مطالعه، دوزی از آنتاگونیست گیرنده‌ی NMDA (AP5) موردنیاز بود که علی‌رغم داشتن اثر آنتاگونیستی، تعدیل درد را تحت‌تأثیر قرار ندهد. در مطالعه‌ی حاضر تزریق غلظت ۰/۵ نانومول AP5 اثر معنی‌داری روی پاسخ‌های دردی نداشت، بنابراین برای ادامه‌ی مطالعه انتخاب شد. در دهه‌های اخیر، به منظور اثبات مکانیسم اثرات تعدیلی استروئیدهای نورواکتیو، عملکرد گیرنده‌ی NMDA بیشترین توجه را به خود جلب کرده است. از این رو، این مطالعه برای ارزیابی این‌که آیا گیرنده‌های NMDA در تعدیل درد توسط ۱۷بتا- استرادیول در هسته‌ی LPGi موش‌های صحرایی ماده‌ی اوارکتومی‌شده درگیر هستند، هدف‌گذاری شده است. نتایج ما مشخص کرده‌اند که تزریق ۰/۸ میکرومول ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 7:14 +0330 on Tuesday September 26th 2017

LPGi، اثر بی‌دردی قابل‌توجهی روی فاز دوم رفتار تکان دادن پای ملتهب ناشی از فرمالین داشته است. اثر ضددردی ۱۷بتا- استرادیول روی درد التهابی در هسته‌ی LPGi ممکن است از طریق گیرنده‌های NMDA میانجی‌گری شده باشد. هم‌سو با یافته‌های این پژوهش، خاکپای و همکاران نیز نشان دادند که اثر بی‌دردی ۱۷بتا- استرادیول تزریق‌شده به داخل هسته‌ی لوکوس‌سرولئوس بر روی پاسخ‌های ایجادشده به وسیله‌ی فرمالین در موش‌های صحرایی نر توسط برهم‌کنش آلوستریک با گیرنده‌های NMDA غشایی میانجی‌گری می‌شوند (۱).

هم‌چنین، تزریق ۱۷بتا- استرادیول به داخل LPGi سبب ایجاد بی‌دردی قوی می‌شود که توسط گیرنده‌های NMDA غشایی در داخل هسته‌ی LPGi موش‌های صحرایی نر میانجی‌گری می‌شود (۳)، که با نتایج حاصل از این مطالعه هم‌خوانی دارد. موافق با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، شواهدی وجود دارد که هورمون‌های جنسی زنانه به خصوص استرادیول با میانجی‌گری گیرنده‌ی NMDA، سبب تعدیل شکل‌پذیری مورفولوژیکی و فرآیندهای فیزیولوژیکی مربوط به آن و همچنین فرآیندهای شناختی CNS می‌شوند (۱۹). هم‌راستا با نتایج ما، برخی مطالعات مشخص کرده‌اند که تغییرات ساختاری و عملکردی گیرنده‌های NMDA می‌تواند سبب القای تحریک‌پذیری بیش از حد (Hyperexcitability) نورونی در شاخ‌پشتی نخاع طی درد پایای التهابی و نوروپاتیک گردد (۳۰). با این حال، برخی از مطالعات در شناسایی تمام تنوعات سطوح پروتئینی گیرنده‌ی NMDA پس از تزریق ۱۷بتا- استرادیول ناموفق بودند (۳). بنابراین، با آن‌که نقش گیرنده‌های NMDA در اثر بی‌دردی القا-شده با ۱۷بتا- استرادیول به خوبی نشان داده شده است؛ ولی مکانیسم تعدیل درد ناشی از ۱۷بتا- استرادیول که با واسطه-ی گیرنده‌ی NMDA اعمال می‌شود، هنوز مشخص نشده است (۳).

نتیجه گیری

در پایان، براساس نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که تزریق ۱۷بتا- استرادیول به داخل هسته‌ی LPGi موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده موجب القای بی‌دردی می‌شود. اثر ضددردی ۱۷بتا- استرادیول در هسته‌ی LPGi موش‌های صحرایی اوارکتومی‌شده ممکن است از طریق گیرنده‌های NMDA غشایی میانجی‌گری می‌شود.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر مستخرج از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی‌ارشد می‌باشد. بدین وسیله نویسندگان از دانشگاه تبریز قدردانی می‌نمایند.

منابع

1. Khakpay R, Semnanian S, Javan M, Janahmadi M. The effect of intra-locus coeruleus injection of 17β-estradiol on inflammatory pain modulation in male rat. Behavioural brain research. 2010;214(2):409-16.
2. McEwen BS. Invited review: Estrogens effects on the brain: multiple sites and molecular mechanisms. Journal of applied physiology. 2001;91(6):2785-801.
3. Khakpay R, Azaddar M, Khakpai F. The antinociceptive effect of 17β-estradiol in the nucleus paragigantocellularis lateralis of male rats may be mediated by the NMDA receptors. Physiology and Pharmacology. 2016 May 10;20(2):122-9.
4. Laird J, Mason G, Webb J, Hill R, Hargreaves R. Effects of a partial agonist and a full antagonist acting at the glycine site of the NMDA receptor on inflammation-induced mechanical hyperalgesia in rats. British journal of pharmacology. 1996;117(7):1487-92.
5. Berrino L, Oliva P, Massimo F, Aurilio C, Maione S, Grella A, et al. Antinociceptive effect in mice of intraperitoneal N-methyl-d-aspartate receptor antagonists in the formalin test. European journal of pain. 2003;7(2):131-7.
6. Terayama R, Dubner R, Ren K. The roles of NMDA receptor activation and nucleus reticularis gigantocellularis in the time-

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 7:14 +0330 on Tuesday September 26th 2017

dependent changes in descending inhibition after inflammation. Pain. 2002 May 31;97(1):171-81.
7. Cairns BE, Wang K, Hu JW, Sessle BJ, Arendt-Nielsen L, Svensson P. The effect of glutamate-evoked masseter muscle pain on the human jaw-stretch reflex differs in men and women. Journal of orofacial pain. 2003; 17(4).
8. Tang B, Ji Y, Traub RJ. Estrogen alters spinal NMDA receptor activity via a PKA signaling pathway in a visceral pain model in the rat. PAIN®. 2008; 137(3):540-9.
9. Normandin JJ, Murphy AZ. Excitotoxic lesions of the nucleus paragigantocellularis facilitate male sexual behavior but attenuate female sexual behavior in rats. Neuroscience. 2011; 175:212-23.
10. Aston-Jones G, Shipley M, Chouvet G, Ennis M, Van Bockstaele E, Pieribone V, et al. Afferent regulation of locus coeruleus neurons: anatomy, physiology and pharmacology. Progress in brain research. 1991;88:47-75.
11. Mannino CA, South SM, Quinones-Jenab V, Inturrisi CE. Estradiol replacement in ovariectomized rats is antihyperalgesic in the formalin test. The Journal of Pain. 2007;8(4):334-42.
12. 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):559-66.
13. Chakraborty TR, Gore AC. Aging-related changes in ovarian hormones, their receptors, and neuroendocrine function. Experimental biology and medicine. 2004;229(10):977-87.
14. Paxinos G, Watson P. The Rat Nervous Coordinates, The New Coronal Set. 2004.
15. Sanoja R, Cervero F. Estrogen-dependent abdominal hyperalgesia induced by ovariectomy in adult mice :a model of functional abdominal pain. Pain. 2005;118(1):243-53.
16. Kuba T, Wu H-BK, Nazarian A, Festa ED, Barr GA, Jenab S, et al. Estradiol and progesterone differentially regulate formalin-induced nociception in ovariectomized female rats. Hormones and behavior. 2006; 49(4):441-9.
17. Martinez Botella G, Ackley MA, Salituro FG, Doherty JJ. Natural and synthetic neuroactive steroid modulators of GABAA and NMDA receptors. Annu Rep Med Chem. 2014;49:27-42.
18. Shibuya K, Takata N, Hojo Y, Furukawa A, Yasumatsu N, Kimoto T, et al. Hippocampal cytochrome P450s synthesize brain neurosteroids which are paracrine neuromodulators of synaptic signal transduction. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 2003;1619(3):301-16.
19. 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. Journal of Comparative Neurology. 2003;459(4):468-74.
20. Li L-H, Wang Z-C, Yu J, Zhang Y-Q. Ovariectomy results in variable changes in nociception, mood and depression in adult female rats. PloS one. 2014; 9(4): 94312.
21. Ceccarelli I, Fiorenzani P, Massafra C, Aloisi AM. Long-term ovariectomy changes formalin-induced licking in female rats: the role of estrogens .Reproductive Biology and Endocrinology. 2003;1(1):1.
22. Hunter DA, Barr GA, Amador N, Shivers KY, Kemen L, Kreiter CM, et al. Estradiol-induced antinociceptive responses on formalin-induced nociception is independent of COX and HPA activation. Synapse. 2011 Jul 1;65(7):643-51.
23. Gaumond I, Arsenault P, Marchand S. Specificity of female and male sex hormones on excitatory and inhibitory phases of formalin-induced nociceptive responses. Brain research. 2005;1052(1):105-11.
24. Ahmadi R, Asgary V. Effects of decreased serum estradiol or progesterone level on thermal pain threshold in female rats. Razi Journal of Medical Sciences. 2012; 19(99):25-31.
25. Gaumond I, Arsenault P, Marchand S. The role of sex hormones on formalin-induced nociceptive responses. Brain research. 2002; 958(1):139-45.
26. Lu Y, Li Z, Li H-j, Du D, Wang L-p, Yu L-h, et al. A comparative study of the effect of

17β-estradiol and estriol on peripheral pain behavior in rats. Steroids. 2012;77(3):241-9.
27. Danysz W, Parsons CG. Glycine and N-methyl-D-aspartate receptors: physiological significance and possible therapeutic applications. Pharmacological reviews. 1998;50(4):597-664.
28. Bleakman D, Alt A, Nisenbaum ES. Glutamate receptors and pain. InSeminars in cell & developmental biology 2006 Oct 31 (Vol. 17, No. 5, pp. 592-604). Academic Press.
29. 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. European Journal of Neuroscience. 2013;38(7):3008-17.
30. Ruscheweyh R, Wilder-Smith O, Drdla R, Liu X-G, Sandkühler J. Long-term potentiation in spinal nociceptive pathways as a novel target for pain therapy. Molecular pain. 2011;7(1):20.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 7:14 +0330 on Tuesday September 26th 2017