

# اثرات مرکزی زایلازین و یوهمبین بر حساسیت به درد طی مراحل مختلف سیکل استروس در موش صحرائی

مهناز طاهریان فرد\* نسیم زنگویی

بخش فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز-ایران.

(دریافت مقاله: ۲۴ دی ۱۳۸۷، پذیرش نهایی: ۱۱ آذر ۱۳۸۸)

## چکیده

هورمون‌های جنسی به نظر می‌رسد که حساسیت به درد را تعدیل می‌کنند. از طرفی نقش گیرنده‌های آلفا دو آدرنرژیک بر حساسیت به درد توسط تست فرمالین بررسی شده است. بنابراین هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تزریق داخل بطن مغزی زایلازین و یوهمبین بر حساسیت به درد در مراحل مختلف سیکل استروس در آزمون فرمالین در موش صحرائی می‌باشد. آزمون فرمالین بوسیله تزریق زیر جلدی ۵۰ میکرو لیتر فرمالین ۲/۵ درصد در پای عقبی انجام گرفت. حیوانات به چهار دسته تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل حیوانات دست نخورده، ۲- گروه شاهد (۲ میکرو لیتر مایع مغزی نخاعی مصنوعی را به صورت داخل بطن مغزی دریافت کردند)، ۳- گروه تزریق آگونیست ۲ میکرو لیتر زایلازین در دوزهای ۵ و ۱۰ میکرو گرم به ازای یک موش صحرائی دریافت کردند) و ۴- گروه تزریق آگونیست (۲ میکرو لیتر یوهمبین در دوزهای ۵ و ۱۰ میکرو گرم به ازای یک موش صحرائی دریافت کردند). داده‌ها به وسیله آنالیز واریانس دوطرفه مکرر و آزمون تشخیصی توکی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. سطح معنی داری ( $p < 0.05$ ) بود. داده‌ها نشان داد که زایلازین بطور معنی داری ( $p < 0.05$ ) حساسیت به درد را در تمام مراحل مختلف سیکل استروس کاهش داد، اما این اثر بی‌دردی در مرحله استروس سیکل استروس ماکزیمم و در مرحله مت استروس مینیمم بود. یوهمبین در تمام مراحل مختلف سیکل استروس باعث افزایش معنی داری ( $p < 0.05$ ) در حساسیت به درد شد. اثر پروردی یوهمبین در مرحله مت استروس سیکل استروس ماکزیمم و در مرحله پرو استروس سیکل استروس مینیمم بود. نتایج این تحقیق حاکی از آن است که تداخل سیستم آلفا دو آدرنرژیک با استروئیدهای جنسی داخلی در اصلاح حساسیت به درد اهمیت دارد.

واژه‌های کلیدی: زایلازین، یوهمبین، آزمون فرمالین، موش صحرائی ماده، سیکل استروس.

موش صحرائی نر نسبت به موش صحرائی ماده دارای خاصیت ضد دردی قوی تر است و این اختلاف به تفاوت در هورمون‌های جنسی ارتباط داده شده است (۱). همچنین شواهد حاکی از آن است که حساسیت به درد در جنس ماده در شرایط مختلف نظیر بارداری، شیردهی و مراحل مختلف سیکل استروس متغیر است (۳۰، ۲۸، ۱۳، ۳). استروئیدهای جنسی هم در مسیر محیطی و هم در مسیرهای مرکزی در کنترل درد اهمیت دارند (۳۱). بسیاری از محققین معتقدند که افزایش پروژسترون منجر به کاهش حساسیت به درد می‌گردد، در حالی که مکانیزم دقیق آن هنوز مشخص نشده است. Feri و همکاران گزارش کردند که پروژسترون و متابولیت‌های مختلف آن اثرات متفاوتی بر حس درد دارند. به طوری که بعضی از متابولیت‌های آن از جمله  $5\alpha\text{-THP}$  باعث افزایش حساسیت به درد شدند و بعضی از متابولیت‌ها مثل  $7\alpha\text{-Progesterone}$  تأثیری بر درد نداشتند (۱۰). این احتمال وجود دارد که پروژسترون اثر بی‌دردی خود را از طریق سیستم اوبیوئید داخلی اعمال می‌کند (۱۲).

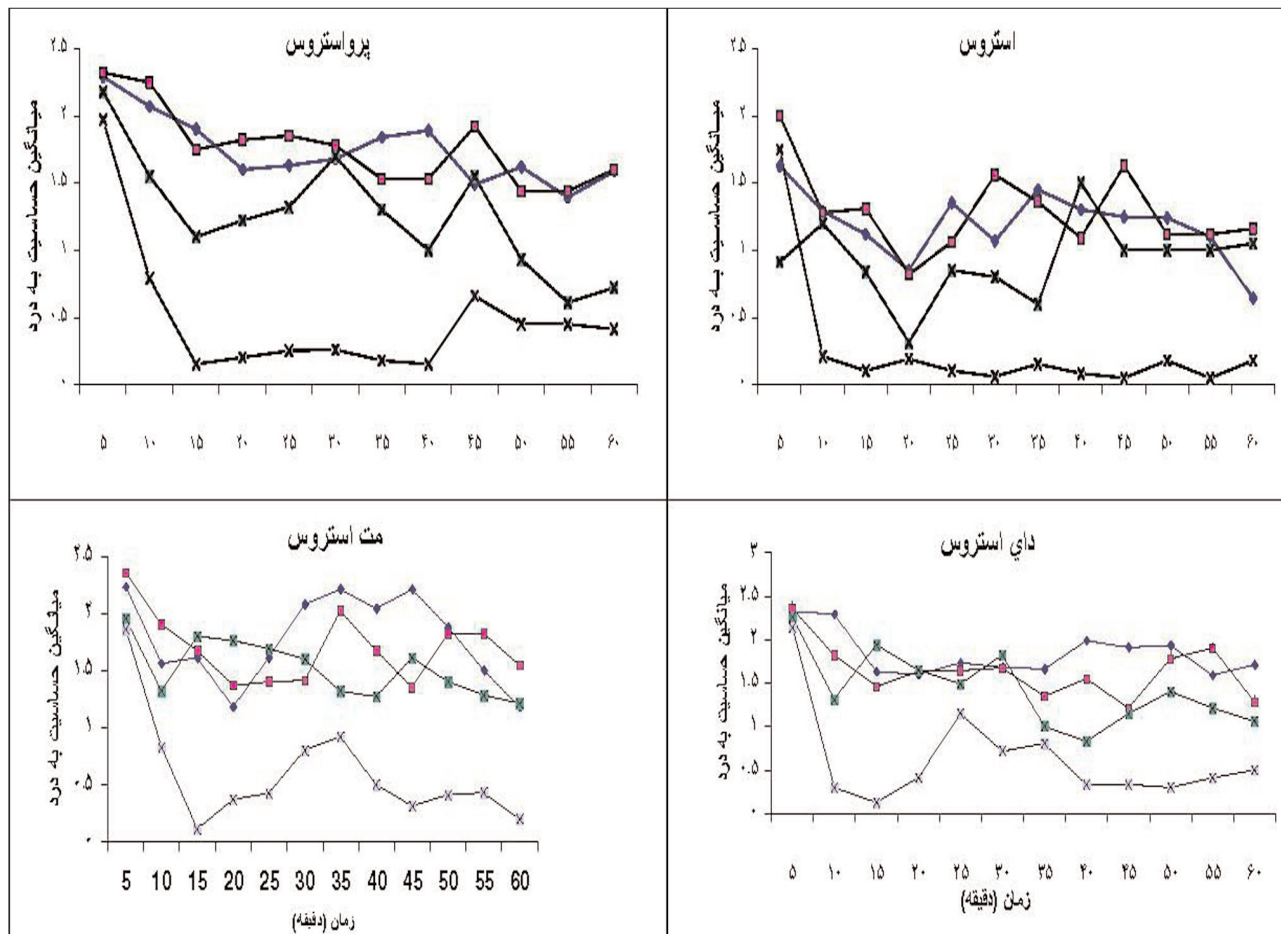
با توجه به موارد ذکر شده فوق اولاً، سیستم نورادرنرژیک از طریق گیرنده آلفا دو در دریافت و تعدیل حس درد اهمیت دارد (۱۵). ثانیاً، اختلاف غلظت هورمون‌های گنادی در طول سیکل استروس در موجود ماده باعث تغییر در حساسیت درد در مراحل مختلف سیکل استروس می‌گردد (۵). لذا هدف تحقیق حاضر بررسی اثر تزریق داخل بطن مغزی زایلازین (آگونیست گیرنده آلفا دو) و یوهمبین (آنتاگونیست گیرنده آلفا

## مقدمه

حس درد پدیده‌ای شگفت‌انگیز و فراتر از یک احساس محض می‌باشد که توسط طیف وسیعی از محرک‌ها ایجاد می‌گردد. درد اصلی‌ترین نشانه بسیاری از بیماری‌ها است (۱۳). تنظیم درد یک فرآیند پیچیده است که به تداخل عمل بسیاری از عوامل فیزیولوژیکی عصبی و هورمونی بستگی دارد (۲۱). برخی از مدارهای عصبی در تخفیف درد مؤثر هستند. این مدارها عمل خود در تخفیف درد را از طریق واسطه‌های شیمیایی مختلف انجام می‌دهند. شناخت عملکرد این واسطه‌های شیمیایی در تسکین درد اهمیت زیادی دارد (۲۲). از جمله این واسطه‌های شیمیایی کاتکل آمین‌هایی نظیر نوراپی نفرین است (۳۴، ۹). مطالعات نشان داده‌اند که نوراپی نفرین از طریق گیرنده‌های آلفا یک و آلفا دو در تنظیم درد دخالت می‌کند (۲). اما گیرنده‌های آلفا دو در این خصوص اهمیت بیشتری دارند، به طوری که گیرنده‌های آلفا دو در مغز و نخاع در تنظیم فیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی درد شرکت دارند (۳۳). از طرفی اثرات پردردی یوهمبین (آنتاگونیست گیرنده آلفا دو آدرنرژیک) بیانگر آن است که در مدل درد تونیک در آزمون فرمالین انتقال درد به سیستم عصبی مرکزی با واسطه آلفا دو آدرنرژیک انجام می‌گردد (۱۵).

تعداد زیادی از تحقیقات تفاوت‌های بین دو جنس نر و ماده را در حساسیت به درد گزارش کرده‌اند (۲۹، ۲۳، ۱۹، ۴). به طور مثال مورفین در





نمودار ۱- اثر زیلازین بر حساسیت به درد در مراحل مختلف سیکل استروس ( شاهد - یوهمبین پنج میکروگرم در موش صحرائی - کنترل - یوهمبین ده میکروگرم در موش صحرائی ).

در این مطالعه از تعداد ۳۶ موش صحرائی ماده سالم از نژاد Dawley Sprague با وزن تقریبی ۲۲۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت  $20 \pm 2$  درجه سانتیگراد نگهداری شدند. آب و غذا آزادانه در اختیار حیوانات بود.

در این مطالعه از دوداروی زیلازین و یوهمبین با دوز ۵ و ۱۰ میکروگرم به ازای یک موش صحرائی استفاده گردید. دوز داروها بر اساس مطالعات قبلی تعیین گردید (۷،۳۵). جهت جراحی از دستگاه استروتاکس ساخت شرکت استولتینگ آمریکا و جهت انجام آزمون فرمالین از ست آزمون فرمالین ساخت شرکت صنایع رازی راد استفاده شد. جهت تعیین سیکل استروس در موش صحرائی ماده به روش سیتولوژی عمل شد: ابتدا قسمت نوک یک پیپت پاستور را در الکل ضد عفونی کرده، سپس با آب مقطر و سالین نرمال شستشوداده و توسط این پیپت از ترشحات واژنی نمونه‌گیری شد. نمونه بدست آمده زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰ مشاهده و سپس با مشاهده سلول‌های مختلف مطابق بار فرانس (۱۴) مراحل مختلف سیکل استروس تشخیص داده شد.

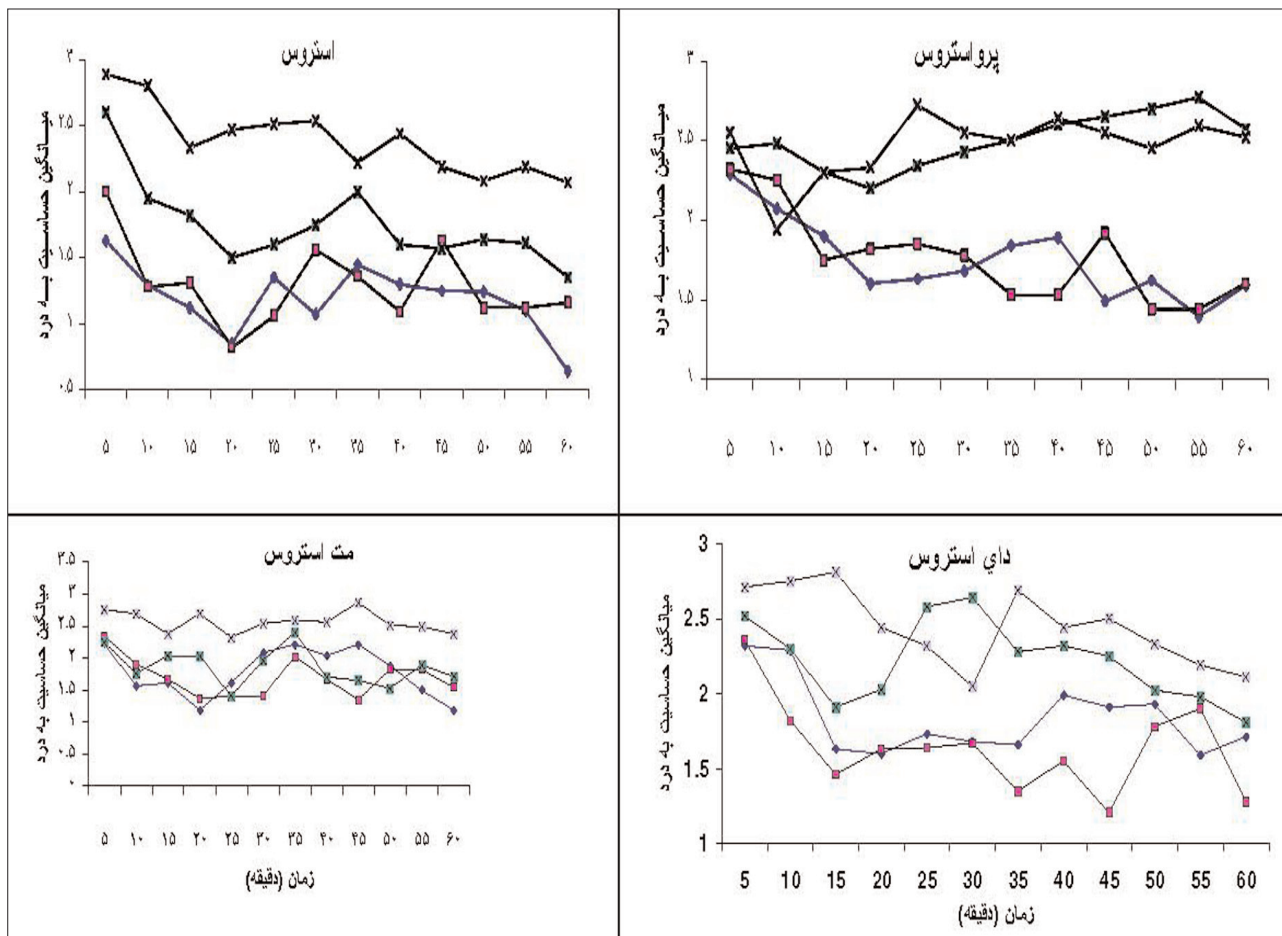


تصویر ۱- برش مغزی از تزریق رنگ کریستال ویولت در محل بطن جانبی.

دو بر حساسیت به درد به روش آزمون فرمالین در مراحل مختلف سیکل استروس موش صحرائی ماده می‌باشد.

### مواد و روش کار





نمودار ۲- اثر یوهیمین بر حساسیت به درد در مراحل مختلف سیکل استروئوس (شاهد:  $\square$  کنترل:  $\blacklozenge$  یوهیمین پنج میکروگرم در موش صحرایی:  $\times$ ).

کشته و مغز جدا شده و در فرمالین ده درصد قرار گرفت. پس از یک هفته برش های نازکی از مغز تهیه گردید و در صورت صحت قرار گرفتن کانولای راهنما در بطن مغزی از نتایج مربوط به حیوان مورد نظر استفاده شد. تصویر ابرش مغزی تزریق شده با رنگ کریستال ویولت را نشان می دهد. برای ایجاد و بررسی درد، ابتدا ۵۰ میکرو لیتر فرمالین ۲/۵ درصد به ناحیه قدامی کف پای خلفی، در فاصله انگشتان کف پا به صورت زیر جلدی تزریق گردید. حیوان در یک قفس به طول، عرض و ارتفاع ۳۰ سانتیمتر قرار گرفت، در زیر قفس یک آینه با زاویه ۴۵ درجه جهت مشاهده رفتار حیوان قرار داشت و رفتارهای حیوان هر ۱۵ ثانیه یک بار به مدت ۶۰ دقیقه مشاهده، ثبت و نمره گذاری شد. رفتارهای دردناک را که عبارت از لیسیدن و گاز گرفتن و تکان دادن پای تزریق شده بود نمره ۳+؛ رفتارهای درد متوسط که عبارت از بالا نگهداشتن پای تزریق شده؛ به نحوی که هیچ گاه با کف قفس تماس پیدا نکنند نمره ۲+، رفتاری که حیوان پا را در تماس مختصری با کف قفس قرار دارد نمره ۱+ و رفتاری که حیوان وضعیت عادی داشت نمره صفر در نظر گرفته شد. تغییرات مشاهده شده در هر ۵ دقیقه میانگین گرفته شد و در بررسی آماری به عنوان اعداد خام مورد استفاده قرار گرفت.

برای کانول گذاری در داخل بطن جانبی مغز ابتدا حیوان توسط داروی نمبوئال با دوز ۴۵ میلیگرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن بیهوش شده، سر حیوان تراشیده شد و در دستگاه استرنوتاکسی قرار گرفت. در قسمت بالای استخوان جمجمه در فاصله بین چشم ها توسط اسکالپل برشی به طول یک سانتیمتر ایجاد کرده و بافت های ناحیه را کنار زده و توسط پنجه خونبندی شد. پس از تشخیص برگما، محل بطن جانبی در سطح جمجمه تعیین و توسط دریل دندانپزشکی سوراخ گردید. مختصات بطن جانبی با توجه به اطلس استرنوتاکس (۲۱) عبارتست از: بطن جانبی یک میلیمتر عقب تر و ۲ میلیمتر جانبی تر از برگما بوده و عمق آن از سطح جمجمه ۳/۵ میلیمتر بود. در محل جمجمه سه نقطه مناسب جهت بستن پیچ انتخاب شده و پیچ های ریز عینک در آن پیچ گردید. سپس کانولای راهنما را که با سر سوزن نمره ۲۳ به ارتفاع ۳/۵ میلیمتر تهیه شده توسط دستگاه استرنوتاکس به داخل بطن جانبی فرستاده و با سیمان دندانپزشکی روی جمجمه ثابت می گردد. برای اطمینان از صحت کانول گذاری، ۲ میکرو لیتر رنگ کریستال ویولت را از طریق کانولای راهنما تزریق شد، سپس حیوان را با دوز بالای اتر



محیطی و از سوی دیگر از اعطاف پذیری سیستم عصبی مرکزی (مثلاً تغییر در تعداد و نحوه ایجاد سیناپس‌ها) در نواحی مختلف سیستم عصبی مرکزی بدنبال ورود مکرر پیام‌های درد حاصل می‌شود (۱۶).

در تحقیق حاضر زایلازین در هر دو دوز باعث کاهش حساسیت به درد در تمام مراحل مختلف سیکل استروس گردید. در این راستا کلونیدین آگونیست انتخابی آلفا دو بی دردی عمیقی را در دردهای تجربی حاد و مزمن در جوندگان ایجاد کردند (۳۲). Daterbernik و همکاران در سال ۱۹۹۰ گزارش کردند که آگونیست‌های آلفا دو ادرنرژیک در موش صحرایی موجب بالا رفتن آستانه درد در آزمون tail flick می‌گردند (۶).

Perzmiki و همکاران در سال ۱۹۹۷ گزارش کردند که تزریق مرکزی کلونیدین با کاهش ترشح واسطه‌های شیمیایی تحریکی مثل گلو تامات و ماده P موجب تسکین درد می‌شود (۲۵). Pakron و همکاران در سال ۲۰۰۳ نشان دادند که تجویز درون نخاعی کلونیدین، آلودینیای لامسه‌ای را در مدل‌های حیوانی درد نروپاتیک کاهش می‌دهد (۲۴). Li و همکاران در سال ۲۰۰۰ گزارش کردند که تجویز درون نخاعی دگم‌تومیدین پیش از جراحی به صورت وابسته به دوز موجب کاهش بیان پروتئین C-fos در سلول‌های شاخ پشتی نخاع می‌شود که کاهش این پروتئین موجب کاهش درد می‌گردد (۲۰). Isnach و Kang در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند که کلونیدین یک ماده مؤثر در درمان دردهای نروپاتیک می‌باشد و موجب افزایش غلظت استیل کولین در مایعات مغزی نخاعی می‌گردد (۱۷).

در تحقیق حاضر زایلازین دارای اثرات بی‌دردی بود که این اثرات بی‌دردی زایلازین در مراحل پرو استروس و استروس سیکل استروس نسبت به مراحل مت استروس و دای استروس سیکل استروس بیشتر بود. بنابراین اثرات بی‌دردی زایلازین در مرحله فولیکولار نسبت به مرحله لوتئال بیشتر بود. اختلاف فاز فولیکولار و لوتئال در این است که در مرحله فولیکولار غلظت استرادیول و پروژسترون نسبت به مرحله لوتئال بیشتر است و این هورمون‌ها اثرات ضد درد زایلازین را تقویت کرده‌اند.

طی تحقیقاتی که انجام شده، آنتاگونیست‌های آلفا دو به دو صورت بر درد اثر گذار می‌باشند، گروهی از آنتاگونیست‌های آلفا دو پس از تزریق باعث افزایش حساسیت به درد می‌گردند. گروه دیگر آنتاگونیست‌های آلفا دو، مستقیماً تأثیری بر درد ندارند و بکار بردن آنها به تنهایی تغییری در حساسیت به درد ایجاد نمی‌کند، اما اگر این گروه از آنتاگونیست‌ها قبل از بکار بردن یک آگونیست به عنوان ضد درد استفاده شوند، اثرات ضد درد آگونیست را از بین می‌برند. در تحقیق حاضر یوهمبین با هر دو دوز باعث افزایش حساسیت به درد در تمام مراحل مختلف سیکل استروس گردید، لذا در تحقیق حاضر یوهمبین مستقیماً باعث افزایش حساسیت به درد شد و مطابق با آنتاگونیست‌های دسته اول عمل کرد. Sajen و همکاران گزارش کردند که تجویز درون نخاعی یوهمبین به صورت وابسته به دوز، موجب افزایش حساسیت به درد می‌شود (۲۶). Daflo و همکاران نشان دادند که اثر آگونیست‌های آلفا دو ادرنرژیک در موش، به وسیله پیش درمانی با یوهمبین خنثی می‌گردد (۸). Sarton و همکاران در سال ۲۰۰۰

در این تحقیق حیوانات در ۴ گروه مورد بررسی قرار گرفتند و در گروه‌های ۱ و ۲ هر گروه ۶ حیوان، و در گروه‌های ۳ و ۴ هر گروه ۱۲ حیوان مورد استفاده قرار گرفت. ۱- گروه کنترل، حیوانات دست نخورده که در مراحل مختلف سیکل استروس آزمون فرمالین در آنها انجام گرفت. ۲- گروه شاهد، پس از تزریق ۲ میکرو لیتر مایع مغزی نخاعی مصنوعی به صورت داخل بطن مغزی در مراحل مختلف سیکل استروس آزمون فرمالین انجام گرفت. ۳- گروه آگونیست، پس از تزریق ۲ میکرو لیتر زایلازین مقادیر ۵ و ۱۰ میکرو گرم به ازای یک موش صحرایی آزمون فرمالین در مراحل مختلف سیکل استروس انجام گرفت. ۴- گروه آنتاگونیست، پس از تزریق ۲ میکرو لیتر یوهمبین مقادیر ۵ و ۱۰ میکرو گرم به ازای یک موش صحرایی آزمون فرمالین در مراحل مختلف سیکل استروس انجام گرفت. برای بررسی حساسیت به درد در مراحل مختلف سیکل استروس و زمان‌های ۱۲ گانه و گروه‌های مختلف از آنالیز واریانس دو طرفه مکرر و آزمون تشخیصی توکی استفاده گردید. مقادیر ذکر شده در نمودارها بر اساس میانگین  $\pm$  خطای معیار آورده شده و سطح معنی داری ( $p < 0.05$ ) در نظر گرفته شد.

## نتایج

در بررسی آنالیز واریانس دو طرفه (زمان  $\times$  گروه) در زمان‌های مختلف در مراحل مختلف سیکل استروس زایلازین در دو دوز ۵ و ۱۰ میکرو گرم به ازای یک موش صحرایی باعث کاهش معنی داری ( $p < 0.05$ ) = ۳۱/۸۷ = F (۵، ۲۴) در حساسیت به درد در فاز یک و دو آزمون فرمالین گردید (نمودار ۱). اثر بی‌دردی زایلازین در هر دو دوز در مراحل استروس و پرو استروس سیکل استروس به طور معنی داری ( $p < 0.05$ ) بیشتر از مراحل مت استروس و دای استروس سیکل استروس بود (نمودار ۳).

در بررسی آنالیز واریانس دو طرفه (زمان  $\times$  گروه) در زمان‌های مختلف و در مراحل مختلف سیکل استروس یوهمبین در دوز ۵ و ۱۰ میکرو گرم به ازای یک موش صحرایی باعث افزایش معنی داری ( $p < 0.01$ ) = ۵/۶۲ = F (۵، ۲۵) در حساسیت به درد در فاز یک و دو آزمون فرمالین گردید (نمودار ۲). اثر پردردی یوهمبین در هر دو دوز در مراحل مت استروس و دای استروس سیکل استروس به طور معنی داری ( $p < 0.05$ ) بیشتر از مراحل استروس و پرو استروس سیکل استروس بود. (نمودار ۴).

## بحث

در این تحقیق برای ارزیابی شدت درد از آزمون فرمالین استفاده شد. آزمون فرمالین دارای دو فاز می‌باشد، فاز اول که از زمان صفر تا ده دقیقه پس از شروع آزمون می‌باشد، بیشتر حاصل اثر مستقیم مواد و عوامل در دوزا بر گیرنده‌های درد پوست بوده و فاز تسکین درد مربوط به فعالیت بی‌دردی و مسدود شدن انتقال پیام درد به خصوص در منطقه شاخ پشتی نخاع می‌باشد. فاز دوم درد از ده دقیقه پس از شروع آزمون تا دقیقه ۶۰ می‌باشد. این فاز از یک سوبه علت ایجاد التهاب بافتی و حساس شدن گیرنده‌های



## References

1. Baamonde, A. I., Hidalgo, A., Andres, Trelles, F. (1989) Sex-related differences in the effects of morphine and stress on visceral pain. *Neuropharmacol.* 28: 967-970.
2. Bie, B., Fields, H. L., Williams, J. T., Pan, Z. Z. (2003) Roles of alpha1- and alpha2-adrenoceptors in the nucleus raphe magnus in opioid analgesia and opioid abstinence-induced hyperalgesia. *J. Neurosci.* 23: 7950-7957.
3. Bradshaw, H., Miller, J., Ling, Q., Malsnee, K., Ruda, M. A. (2000) Sex differences and phases of the estrous cycle alter the response of spinal cord dynorphin neurons to peripheral inflammation and hyperalgesia. *Pain.* 85: 93-99.
4. Chanda, M. L., Mogil, J. S. (2006) Sex differences in the effects of amiloride on formalin test nociception in mice. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 291: R335-342.
5. Cruz, Y., Martinez, Gomez, M., Manzo, J., Hudson, R., Pacheco, P. (1996) Changes in pain threshold during the reproductive cycle of the female rat. *Physiol. Behav.* 59: 543-547.
6. Danzebrink, R. M., Gebhart, G.F. (1990) Antinociceptive effects of intrathecal adrenoceptor agonists in a rat model of visceral nociception. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 253: 698-705.
7. De Kock, M., Meert, T. F. (1997) Alpha 2- adrenoceptor agonists and stress-induced analgesia in rats: influence of stressors and methods of analysis. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 58: 109-117.
8. Duflo, F., Li, X., Bantel, C., Pancaro, C., Vincler, M., Eisenach, J. C. (2002) Peripheral nerve injury alters the alpha2 adrenoceptor subtype activated by clonidine for analgesia. *Anesthesiology.* 97: 636-641.
9. Dumka, V. K., Tandan, S. K., Raviprakash, V., Tripathi, H. C. (1996) Central noradrenergic and cholinergic modulation of formaldehyde-induced pedal inflammation and nociception in rats. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 40: 41-46.
10. Frye, C.A., Duncan, J.E. (1994) Progesterone metabolites, effective at the GABAA receptor complex, attenuate

بیان کردند که تزریق یوهمبین خاصیت بی دردی مرفین را از بین برد که نشان دهنده ارتباط مستقیم بین سیستم ادرنرژیک از طریق گیرنده آلفا دو و سیستم اوپیوئیدی است (۲۷).

در تحقیق حاضر یوهمبین دارای اثرات پر دردی است که این اثرات پر دردی در مراحل مت استروس دای استروس سیکل استروس نسبت به مراحل پرو استروس و استروس سیکل استروس بیشتر بود. بنابراین اثرات پر دردی یوهمبین در مرحله فولیکولار نسبت به مرحله لوتئال کمتر بود. در واقع زمانی که غلظت هورمون های استرادیول و پروژسترون کمتر است، یوهمبین اثرات پر دردی را بیشتر ظاهر می کند. این نتایج مطابق با تحقیقاتی است که افزایش حساسیت به درد در مراحل مت استروس و دای استروس سیکل استروس نسبت به مراحل پرو استروس و استروس سیکل استروس در دردهای احشایی و دردهای مزمن مانند دردهای رحمی و التهاب مثانه را گزارش کرده اند (۱۱،۱۸).

## تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می دانند که از همکاری های معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شیراز در تصویب طرح و تأمین اعتبار لازم برای اجرای آن صمیمانه تشکر و سپاسگزاری نمایند.

pain sensitivity in rats. *Brain Res.* 643: 194-203.

11. Giamberardino, M. A., Berkley, K. J., Iezzi, S., de Bigontina, P., Vecchiet, L. (1997) Pain threshold variations in somatic wall tissues as a function of menstrual cycle, segmental site and tissue depth in non-dysmenorrheic women, dysmenorrheic women and men. *Pain.* 71: 187-197.
12. Gordon, F. T., Soliman, M. R. (1996) the effects of estradiol and progesterone on pain sensitivity and brain opioid receptors in ovariectomized rats. *Horm. Behav.* 30: 244-250.
13. Guyton, A. (2000) Text book of medical physiology. Philadelphia: Saunders Company Philadelphia, USA.
14. Hafez, E. S. E. (1970) Reproduction and Breeding techniques for laboratory animals. Raven. New York, USA.
15. Herradon, G., Morales, L., Perez, Garcia, C., Alguacil, L. F. (2003) The contribution of alpha2-adrenoceptor and opioid receptor mechanisms to antinociception differs in Lewis and Fischer 344 rats. *Eur. J. Pharmacol.* 465: 251-256.
16. Jordan, D., Ardid, D., Bardin, L., Bardin, M., Neuzeret,



- D., Lanphouthacoul, L., Eschaliier, A. (1997) A new automated method of pain scoring in the formalin test in rats. *Pain*. 71: 265-270.
17. Kang, Y. J., Eisenach, J. C. (2003) Intrathecal clonidine reduces hypersensitivity after nerve injury by a mechanism involving spinal m4 muscarinic receptors. *Anesth. Analg.* 96: 1403-1408.
  18. Kayser, V., Berkley, K. J., Keita, H., Gautron, M., Guilbaud, G. (1996) Estrous and sex variations in vocalization thresholds to hind paw and tail pressure stimulation in the rat. *Brain Res.* 742: 352-354.
  19. Kowalczyk, W. J., Evans, S. M., Bisaga, A. M., Sullivan, M. A., Comer, S. D. (2006) Sex differences and hormonal influences on response to cold pressor pain in humans. *J. Pain.* 7: 151-160.
  20. Li, X., Rose, G., Dongre, N., Pan, H. L., Tobin, J. R., Eisenach, J. C. (2000) S-nitroso-l-cysteine releases norepinephrine in rat spinal synaptosomes. *Brain Res.* 872: 301-307.
  21. Martin, T. J., Eisenach, J. C. (2001) Pharmacology of opioid and nonopioid analgesics in chronic pain states. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 299: 811-817.
  22. Millan, M. J. (2002) Descending control of pain. *Prog. Neurobiol.* 66: 355-474.
  23. Negus, S. S., Wurrey, B. A., Mello, N. K. (2004) Sex differences in thermal nociception and prostaglandin-induced thermal hypersensitivity in rhesus monkeys. *J. Pain.* 5: 92-103.
  24. Paqueron, X., Li, X., Bantel, C., Tobin, J. R., Voytko, M. L., Eisenach, J. C. (2001) An obligatory role for spinal cholinergic neurons in the antiallodynic effects of clonidine after peripheral nerve injury. *Anesthesiol.* 94: 1074-1081.
  25. Przesmycki, K., Dzieciuch, J. A., Czuczwar, S. J., Kleinrok, Z. (1997) Isobolographic analysis of interaction between intrathecal morphine and clonidine in the formalin test in rats. *Eur. J Pharmacol.* 337: 11-17.
  26. Sagen, J., Proudfit, H. K. (1985) Evidence for pain modulation by pre- and postsynaptic noradrenergic receptors in the medulla oblongata. *Brain Res.* 331: 285-293.
  27. Sarton, E., Olofsen, E., Romberg, R., den Hartigh, J., Kest, B., Nieuwenhuijs, D., Burm, A., Teppema, L., Dahan, A. (2000) Sex differences in morphine analgesia: an experimental study in healthy volunteers. *Anesthesiology.* 93: 1245-1254.
  28. Shekunova, E. V., Besselov, A. Y. (2004) Estrous cycle stage-dependent expression of acute tolerance to morphine analgesia in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 486: 259-264.
  29. Stock, H. S., Caldarone, B., Abrahamsen, G., Mongeluzi, D., Wilson, M. A., Rosellini, R. A. (2001) Sex differences in relation to conditioned fear-induced enhancement of morphine analgesia. *Physiol. Behav.* 72: 439-447.
  30. Stoffel, E. C., Ulibarri, C. M., Craft, R. M. (2003) Gonadal steroid hormone modulation of nociception, morphine antinociception and reproductive indices in male and female rats. *Pain.* 103: 285-302.
  31. Stoffel, E. C., Ulibarri, C. M., Folk, J. E., Rice, K. C., Craft, R. M. (2005) Gonadal hormone modulation of mu, kappa, and delta opioid antinociception in male and female rats. *J. Pain.* 6: 261-274.
  32. Stone, L. S., MacMillan, L. B., Kitto, K. F., Limbird, L. E., Wilcox, G. L. (1997) The alpha2a adrenergic receptor subtype mediates spinal analgesia evoked by alpha2 agonists and is necessary for spinal adrenergic-opioid synergy. *J. Neurosci.* 17: 7157-7165.
  33. Svokos, K., Nalwalk, J. W., Leurs, R., Menge, W. M., Timmerman, H., Hough, L. B. (2001) A role for spinal, but not supraspinal, alpha(2) adrenergic receptors in the actions of imiprogan, a powerful, non-opioid analgesic. *Brain Res.* 923: 12-19.
  34. Wang, Y., Cheng, C. Y., Wang, J. Y., Lin, J. C. (1998) Enhanced antinociception of clonidine in spontaneously hypertensive rats involves a presynaptic noradrenergic mechanism. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 59: 109-114.
  35. Zarrindast, M. R., Sahebgharani, M. (2002) Effect of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists on imipramine-induced antinociception in the rat formalin test. *Pharmacol.* 64: 201-207.



# CENTRAL EFFECT OF XYLAZINE AND YOHIMBIN ON PAIN SENSITIVITY OF RAT DURING ESTROUS CYCLE IN FORMALIN TEST

Taherianfard, M.\* , Zangoie, N.

*Department of Physiology, School of Veterinary Medicine, University of Shiraz, Shiraz-Iran.*

(Received 13 January 2009 , Accepted 2 December 2009)

---

## **Abstract:**

Sex hormone is supposed to modify pain sensitivity. The aim of the present study was to investigate the role of  $\alpha_2$  adrenergic receptors in nociception using formalin test. Formalin test was performed by subcutaneous injection of 50  $\mu$ l formalin (%2.5) solution into hind paw. Animals were divided into 4 groups as control group (intact animal), sham group (received 2  $\mu$ l of artificial CSF by ICV route), agonist group (received 2  $\mu$ l of xylazine 5 and 10 mg / rat by ICV route) and antagonist group (received 2  $\mu$ l of yohimbin 5 and 10 mg /rat by ICV route). Data were analyzed by two way ANOVA and post- hoc test of tukey's test. Data showed that xylazine significantly decreased ( $p < 0.05$ ) pain sensitivity during all stages of estrous cycle; analgesic effect of xylazine was high in estrus stage of estrous cycle and low in metestrous stage of estrous cycle. Yohimbin in all stages of estrous cycle significantly increased ( $p < 0.05$ ) pain sensitivity. Hyperalgesic effect of yohimbin was high during metestrous stage of estrous cycle and it was low in proestrous stage of estrous cycle. Results of present study indicated that interaction of  $\alpha_2$  adrenergic system with endogenous sex steroid is important in the modulation of pain sensitivity.

**Key words:** xylazine, yohimbin, formalin test, rat, estrous cycle.

\*Corresponding author's email: [taherian@shirazu.ac.ir](mailto:taherian@shirazu.ac.ir), Tel: 0711-2286950, Fax: 0711-2286940

