بررسی ارتباط سیستم سروتونرژیک مرکزی و غدد جنسی در درد ناشی از فرمالین در موش صحرائی نر

دکتر عاصفه حیدربیگی

گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

دکتر ابوالحسن احمدیانی

گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

خلاصه :

تجویز سروتونین (۱۰۰μg/rat,i.c.v.)باعث بی‌دردی در فاز اول تست فرمالین شد که پیش درمانی با نالوکسان (۲mg/kg,i.p) بر روی بی‌دردی ناشی از سروتونین اثری نداشت . فن‌فلورآمین (۱۰mg/kg,i.p) بعنوان ریلیزر سیستم سروتونینی ، بی‌دردی عمیقی در هر دو فاز تست فرمالین ایجاد کرد که پیش‌درمانی با نالوکسان جلوی بی‌دردی ناشی از فن‌فلورآمین را گرفت . تخریب شیمیایی سیستم سروتونینی با استفاده از 5,7DHT(۲۰۰ μg/rat,i.c.v.) باعث افزایش درد در فاز اول تست فرمالین شد . گنادکتومی (۱۵ روزه) باعث بی‌دردی در فاز دوم تست فرمالین شد که پیش درمانی با نالوکسان بی‌دردی ناشی از گنادکتومی را برگرداند. تستوسترون (۳ روزه .۱mg/kg,i.p) اثری بر روی آستانه درد نداشت . بی‌دردی ناشی از گنادکتومی بوسیله تخریب سیستم سروتونینی با 5,7DHT در این حیوانات ، برگردانده شد و از طرف دیگر این بی‌دردی در اثر تجویز فن‌فلورآمین به حیوانات مزبور افزایش یافت . این نتایج پیشنهاد می‌کنند که بی‌دردی ناشی از حذف غدد جنسی به حضور سیستم سروتونینی بستگی داشته و این دو سیستم از طریق سیستم اپیوئیدی در تأثیر بر روی درد مزمن عمل می‌کنند.

مقدمه :

معلوم شده است که سروتونین موجود در ماده خاکستری طناب نخاعی ، با سیستم‌های پایانه‌ای تشأت گرفته از اجسام سلولی در هسته‌های رافه‌دمی مربوط می‌شود . دلایلی پیشنهاد می‌کنند که این سیستم سروتونرژیک نزولی یک عمل مهاری نخاعی را میانجیگری می‌کند که نتیجه آن تغییرات رفتاری در آستانه درد می‌باشد . گزارش شده است که این قبیل اثرات مهاری ، بوسیله تجویز سیستمیک چندین آنتاگونیست قوی سروتونین از قبیل متی‌سرژاید ، سینانسیرین و لیزرژیک اسید دی‌اتیل‌آمید آنتاگونیزه میشود (۳۱). تخریب عمومی اعصاب سروتونینی CNS بوسیله تزریق داخل بطن مغزی 5,7DHT (۷،۵ – دی هیدروکسی تریپتامین) یا تخریب انتخابی اعصاب سروتونینی نخاعی بوسیله تزریق 5,7 DHT در همان طرف ، بزرگی پاسخهای ضددردی به تحریک الکتریکی را کاهش می‌دهد (۱۸ و۲۲) . تجویز داخل نخاعی 5,6DHT در موش بطور انتخابی ، مسیرهای سروتونرژیک نزولی را تخریب میکند ، درد در ۳-۲ روز پس از تزریق در تستهای درد حاد و مزمن در موش تغییر میابد . در این حیوانات Latency در تست

tail-flick کوتاه می‌شود . در تست فرمالین پاسخ رفتاری اولیه (۱۵-۰ دقیقه) کاهش یافته ، در حالیکه پاسخ بعدی (۴۰-۱۵ دقیقه) تغییری پیدا نمی‌کند . ۱۴ روز پس از تجویز داخل نخاعی 5,6 DHT تغییرات در تست tail-flick و فرمالین به سطوح کنترلی بازگشت میابند . این مطالعه نشان میدهد که تخریب نقل و انتقال عصبی سروتونرژیک در طناب نخاعی ، اثرات مختلفی را در تست‌های tail-flick و فرمالین ایجاد میکند . نتایج نشان می‌دهند که اجزاء زود و دیررس درد القاشده با فرمالین بطور مختلفی با سیستم سروتونرژیک تنظیم میشوند ، در مطالعه‌ای که توسط Dennis و Melzack انجام شد ، هم‌چنین تغییری در میزان درد ناشی از فرمالین پس از تجویز سیستمیک متی‌سرژایدیا PCPA وقتی که پاسخهای رفتاری در یک زمان ۶۰-۳۰ دقیقه‌ای پس از تزریق فرمالین ثبت شدند ، مشاهده نگردید (۸). چندین مثال در بیولوژی انسانی و حیوانی از نقش استروئیدهای جنسی در تعدیل درد وجود دارد . ممکن است که سطوح تستوسترون در نوعی سردرد کاهش یابد (۱۵ و ۲۱) . کاهش قابل توجهی در آستانه درد بعد از درمان با تستوسترون و یک افزایش قابل توجه در آستانه درد پس از گنادکتومی دیده می‌شود. این افزایش پس از تجویز تستوسترون به موشهای صحرائی گنادکتومی شده ، ناپدید می‌شود (۲۳). از طرف دیگر گزارشی نشان می‌دهد که کاهش قابل توجهی در بی‌دردی مرفین پس از گنادکتومی در موشهای صحرائی (۲۱ و ۲۴) و هم‌چنین پس از تجویز تستوسترون ایجاد میگردد . نالوکسان آنتاگونیست سیستم اپیوئیدی ، آستانه درد را در موشهای صحرائی گنادکتومی شده افزایش داده و بی‌دردی القاشده با مرفین را نیز افزایش میدهد (۲۴). دلایل قابل ملاحظه‌ای وجود دارد که نشان می‌دهند که سروتونین در تنظیم ترشح گنادوتروپین شرکت می‌کند. گزارش شده است که تجویز ۵ - هیدروکسی تریپتوفان که محتوی هیپوتالاموسی سروتونین را افزایش می‌دهد ، باعث افزایش ترشح LH در موشهای صحرائی ماده غیربالغ می‌شود . سروتونین رهاشده بوسیله آکسونهایی که احتمالاً از هسته رافه خلفی به هیپوتالاموس می‌رسند ، می‌تواند اثرش را با فعال‌سازی گیرنده‌های سروتونین که مستقیماً بر روی سلولهای تولیدکننده LHRH قرار می‌گیرند ، اعمال کند (۱). به نظر میرسد که سروتونین در کنترل متابلیسم تستوسترون در سطح هیپوفیزی نیز شرکت می‌کند (۹). گزارشی نشان می‌دهد که سروتونین مغز یک اثر مهاری بر روی استروئیدوژنز بیضه‌ای از طریق تعدیل ریلیز GnRH و بنابراین گنادوتروپین‌های هیپوفیزی اعمال می‌کند (۲) . از طرف دیگر گزارشات متناقضی راجع به تأثیر گنادکتومی بر روی محتوی سروتونین مغز وجود دارد . بر اساس آزمایشی ۱۴ روز پس از گنادکتومی ، میزان سنتز ۵- هیدروکسی تریپتوفان در هسته رافه خلفی کاهش می‌یابد (۹). گزارش دیگری نشان می‌دهد که میزان سروتونین مغزی ۳۰ روز پس از گنادکتومی تغییری پیدا نمی‌کند و تجویز مزمن تستوسترون به این حیوانات تغییری در میزان سروتونین مغز ایجاد نمی‌کند (۳) . از طرف دیگر بر اساس گزارش دیگری نشان داده شده است که گنادکتومی موشهای صحرائی نر در مدت ۵۰ روز پس از حذف گنادها باعث افزایش در میزان سنتز مونوآمین مغزی شده و این افزایش در سنتز مونوآمین مغزی بدنبال گنادکتومی ، با درمان بوسیله تستوسترون خنثی میشود. پیشنهاد میشود که تستوسترون یک اثر مهاری بر روی سنتز مونوآمین اعمال می‌کند (۷). با توجه به ارتباطاتی که بر اساس گزارشات فوق بین دو سیستم سروتونینی و هورمونی در زمینه‌های فیزیولوژیک مختلف غیرازکنترل درد وجود دارد و نیز گزارشاتی مبنی بر نقشی که برای هریک از آنان

در روند تعدیل درد آمده است . لذا در این مقاله پس از اینکه نقش دو سیستم سروتونینی و هورمونی بطور مجزا در میزان احساس درد مزمن در موشهای صحرائی نر بررسی شده ، به بررسی ارتباط احتمالی این دو سیستم در تأثیر بر روی درد مزمن پرداخته شده است .

وسائل ، مواد و روشهای انجام آزمایش :

وسائل :

محفظه مخصوص تست فرمالین و دستگاه استرئوتاکس.

مواد :

سروتونین کراتئین سولفات ، فن‌فلورامین ، پنتوباربیتال ، نالوکسان هیدروکلراید ، ۷،۵ -دی‌هیدروکسی تریپتامین ، تستوسترون انانتات ، دزیپرامین ، ویتامین C، سرم فیزیولوژی و روغن کنجد.

تهیه و دوز :

سروتونین کراتئین سولفات (Nacl)L/۱۰μg/۱۰۰، فن‌فلورآمین (H2O)kg/۱۰mg ، نالوکسان هیدروکلراید (H2O)kg/۲mg ، ۷،۵ - دی‌هیدروکسی تریپتامین (Nacl+vitamin C)L/۱۰μg/۲۰۰ ، تستوسترون انانتات (روغن کنجد) kg/۱mg، پنتوباربیتال (H2O)kg/۴۰mg و دزیپرامین (H2O)kg/۲۵mg .

حیوانات و شرایط آزمایش :

در تمام گروهها از موشهای صحرائی نر albino به تعداد ۷ و در دامنه وزنی ۲۸۰-۲۵۰ گرم استفاده شد . از نظر زمانی تست فرمالین هر روز در فاصله زمانی ۱۰ صبح الی ۳ بعدازظهر انجام گردید . نیم ساعت قبل از انجام تست ، برای سازگاری با شرایط محیط حیوانات در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند . آزمایشات در درجه حرارت ۲۲-۲۰ درجه سانتیگراد انجام گردید. بلافاصله پس از تزریق فرمالین به پشت پنجه پا ، حیوان در محفظه مخصوص تست ، ظرفی با ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ از پلاستی‌گلاس شفاف و با قراردادن آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه زیر محفظه برای تسلط به رفتار حیوان ، قرار داده شد و بمدت ۶۰ دقیقه رفتارهای حیوان ثبت گردید . میزان درد در حیوانات از فرمولهای ذیل محاسبه گردید . در تمام تستها فرمالین به پشت پنجه پای راست حیوانات تزریق شد .

$$\text{میزان درد در ۵ دقیقه برای یک موش} = \frac{T1\times ۰ + T2\times ۱ + T3\times ۲ + T4\times ۳}{۳۰۰}$$

T4,T3,T2,T1 به ترتیب زمانهای سپری شده در درجه‌بندیهای ۰ ، ۱، ۲، ۳ درد ناشی از فرمالین می‌باشند .

$$\text{میزان درد در ۵ دقیقه برای n موش} = \frac{A1+B1+\ldots+n1}{n}$$

A1: میانگین درد در ۵ دقیقه برای موش اول

B1: میانگین درد در ۵ دقیقه برای موش دوم

n1: میانگین درد در ۵ دقیقه برای موش n ام

n: تعداد کل موشها در یک گروه

نتایج :

شماره	عنوان آزمایش	شرح آزمایش	نتیجه	P:Value <
۱	تست فرمالین	انجام تست فرمالین برای رسم منحنی میزان درد ناشی از فرمالین در حیوانات دست‌نخورده	ایجاد درد دو فازی	-
۲	سروتونین	تزریق I.C.V. سروتونین به گروهی ار حیوانات و انجام تست فرمالین بلافاصله پس از آن	کاهش درد ناشی از فرمالین درفاز۱	٪۱
۳	سروتونین + نالوکسان	پیش‌درمانی گروهی از حیوانات با نالوکسان قبل ازدریافت سروتونین و انجام تست فرمالین	بی‌تأثیربربی‌دردی سروتونین	٪۱
۴	حامل سروتونین	تزریق I.C.V. حامل سروتونین به گروهی ازحیوانات و انجام تست فرمالین	بی‌تأثیر	n.s.
۵	5,7 DHT	پیش‌درمانی ۵ روزه با 5,7DHT در گروهی ازحیوانات وانجام تست فرمالین	افزایش درد ناشی از فرمالین درفاز۱	٪۱
۶	حامل 5,7 DHT	پیش‌درمانی ۵ روزه با حامل 5,7DHT در گروهی از حیوانات وانجام تست فرمالین	بی‌تأثیر	n.s.
۷	فن‌فلورآمین	پیش‌درمانی ۱۰ دقیقه‌ای با فن‌فلورآمین در گروهی ازحیوانات وانجام تست فرمالین	کاهش درد ناشی از فرمالین	٪۱
۸	فن‌فلورآمین + نالوکسان	پیش‌درمانی با نالوکسان درگروهی از حیوانات قبل از دریافت فن‌فلورآمین و انجام تست فرمالین	برگشت بی‌دردی ناشی از فن‌فلورآمین	n.s.
۹	گنادکتومی	حذف غدد جنسی درگروهی از حیوانات و انجام تست فرمالین ۱۵ روز پس از آن	کاهش درد ناشی از فرمالین	٪۵

جدول ۱- شرح آزمایشات انجام‌شده و نتایج حاصل از آنها با استفاده از آنالیز آماری ANOVA و T-test تمام گروهها با گروه Intact(حیوانات دست‌نخورده) مقایسه شده‌اند.

شماره	عنوان آزمایش	شرح آزمایش	نتیجه	P:Value<
۱۰	گنادکتومی + نالوکسان	پیش‌درمانی با نالوکسان در گروهی از حیوانات ۱۵ روزپس از گنادکتومی و انجام تست فرمالین	برگشت بی‌دردی‌ناشی از گنادکتومی	n.s.
۱۱	تستوسترون	پیش‌درمانی ۳ روزه گروهی از حیوانات با تستوسترون و انجام تست فرمالین ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق	بی‌تأثیر	n.s.
۱۲	حامل تستوسترون	پیش‌درمانی ۳ روزه گروهی از حیوانات‌باحامل‌تستوسترون و انجام تست فرمالین ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق	افزایش آستانه درد	٪۵
۱۳	تستوسترون +گنادکتومی	پیش درمانی ۳ روزه گروهی از حیوانات گنادکتومی شده با تستوسترون و انجام تست فرمالین	افزایش آستانه درد	٪۵
۱۴	نالوکسان	تزریق نالوکسان به گروهی از حیوانات وانجام تست فرمالین	بی‌تأثیر	n.s.
۱۵	5,7DHT+گنادکتومی	پیش‌درمانی ۵ روزه گروهی از حیوانات گنادکتومی شده با 5,7DHT و انجام تست فرمالین	برگشت بی‌دردی ناشی از گنادکتومی	n.s.
۱۶	فن‌فلورآمین+گنادکتومی	پیش‌درمانی ۱۰ دقیقه‌ای با فن‌فلورآمین در گروهی از حیوانات ۱۵ روز پس از گنادکتومی و انجام تست فرمالین	افزایش بی‌دردی ناشی از گنادکتومی	٪۱
۱۷	آب مقطر	تزریق آب مقطر بعنوان شاهد فرمالین به گروهی از حیوانات و انجام تست درد	بی‌تأثیر	n.s.

جدول ۲ - شرح آزمایشات انجام‌شده و نتایج حاصل از آنها با استفاده از آنالیز آماری ANOVA و T-test. تمام گروهها با گروه Intact (حیوانات دست‌نخورده) مقایسه شده‌اند.

بحث :

بر اساس نتایج ما تزریق زیرجلدی فرمالین رقیق پاسخ دردی دوفازی ایجاد کرد که فاز اول درد شدید بمدت ۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین طول کشید و سپس یک فاز تأخیری از ۶۰-۲۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین مشاهده گردید . در فاصله زمانی بین این دو فاز ، افت درد باعث ایجاد یک دره بی‌دردی فیزیولوژیک شد . گفته شده است که فاز زودرس تست فرمالین پاسخ به تحریک مستقیم گیرنده‌های درد بوده ، در حالیکه فاز تأخیری به تغییرات عمل سیستم عصبی - مرکزی بستگی داشته و التهاب نقش کوچکی را در این فاز بازی می‌کند (۶،۵و۲۸). در آزمایش ما سروتونین در تجویز داخل بطن مغزی تأثیری بر درد در فاز دوم تست فرمالین نداشت و باعث کاهش درد ناشی از فرمالین در فاز اول شد . پیش‌درمانی حیوانات مزبور با نالوکسان تأثیری بر بی‌دردی ناشی از سروتونین در فاز اول این تست ایجاد نکرد . گفته شده است که سروتونین در سطح مغزی بطور مستقل از سیستم اپیوئیدی باعث بی‌دردی می‌گردد (۱۳). در آزمایش ما تخریب سیستم سروتونرژیک مغزی با 5,7DHT باعث افزایش درد در فاز اول تست فرمالین شد . گزارشات متناقضی در ارتباط با تأثیر تخریب سیستم‌های سروتونرژیک مغز بر روی آستانه

درد وجود دارد . بر اساس گزارشی تخریب این سیستم با 5,7DHT باعث کوتاه شدن آستانه درد در تستهای درد حاد شده و از طرف دیگر باعث کاهش پاسخ رفتاری در فاز اول تست فرمالین شده و بر روی فاز تأخیری این تست تأثیری ندارد (۸). بر اساس گزارش دیگری تجویز i.c.v. از 5,6 یا 5,7 دی‌هیدروکسی تریپتامین باعث کاهش بی‌دردی ناشی از مرفین گردیده است (۲۷). این نتایج متناقض از طرقی نشان‌دهنده اختلاف مسیرهای درد حاد و مزمن در سیستم عصبی بوده (۸،۱۷،۲۶و۲۷) و از طرفی ممکن است بعلت اختلاف در روشهای عمل باشد . در آزمایشگاه ما فن‌فلورآمین در تزریق داخل صفاقی بعنوان ریلیزر سیستم سروتونرژیک باعث بی‌دردی عمیقی در هر دو فاز تست فرمالین شد که پیش‌درمانی با نالوکسان جلوی این بی‌دردی را گرفت ، لذا احتمالاً بی‌دردی ناشی از ریلیزسروتونین در سیستم عصبی توسط فن‌فلورآمین از طریق سیستم اپیوئیدی میانجگیری می‌شود. دلایل زیادی مبنی بر نقش فن فلورآمین بر روی آستانه درد در حیوانات وجود دارد (۲۰،۲۵و۲۹). در آزمایشات بخش هورمونی ، تزریق تستوسترون به موشهای صحرائی نر تغییری در هیچ‌یک از دو فاز تست فرمالین ایجاد نکرد ، از طرف دیگر ، تزریق حامل تستوسترون باعث افزایش آستانه درد در فاز دوم تست فرمالین گردید . بدین‌ترتیب می‌توان گفت که تستوسترون نقشی معنی‌دار بر روی آستانه درد در تست فرمالین نداشته است . ضمناً باید به این نکته اشاره کرد که نقش موادی از قبیل بتااندورفین‌ها که علاوه بر تستوسترون در گنادها وجود دارند ، نباید نادیده گرفته شود (۴،۱۰و۱۱). حذف گنادها در موشهای صحرائی نر باعث بی‌دردی در فاز دوم تست فرمالین شد که پیش‌درمانی با نالوکسان جلوی بی‌دردی ناشی از گنادکتومی را گرفت و تزریق تستوسترون به حیوانات گنادکتومی شده باعث برگشت آستانه درد به میزانی بیش از آنچه که در حیوانات دست‌نخورده مشاهده شده بود ، گردید . از آنجائی‌که حامل تستوسترون خود درد ایجاد می‌کند بهتر است برای بررسی نقش تستوسترون بر روی درد ناشی از فرمالین از کاشتن silastic tubeهای حاوی تستوسترون استفاده شود . نتیجه مطالعات Rao ثابت کرده است که کاهش قابل توجهی در آستانه درد در موشهای صحرائی نر پس از درمان با تستوسترون و افزایش قابل ملاحظه‌ای در آستانه درد پس از گنادکتومی دیده می‌شود . که این افزایش در آستانه درد پس از تجویز تستوسترون به حیوانات گنادکتومی شده به میزان مشاهده شده در حیوانات دست‌نخورده برمی‌گردد(۲۳). تزریق نالوکسان ،آنتاگونیست سیستم اپیوئیدی تأثیری بر روی آستانه درد در موشهای صحرائی ندارد (۱۶)که در آزمایش ما نیز تکرار شد ولی تزریق نالوکسان به حیوانات گنادکتومی شده باعث افزایش آستانه درد در این حیوانات می‌شود (۲۴) . در آزمایش ما نیز نتیجه فوق تأیید شد . در ارتباط دو سیستم سروتونینی و هورمونی در تأثیر بر روی درد مزمن باید بیان کرد که تخریب سیستم سروتونینی با استفاده از 5,7DHT در حیوانات گنادکتومی شده باعث برگرداندن بی‌دردی ناشی از گنادکتومی گردید . در همین‌حال پیش‌درمانی حیوانات گنادکتومی شده با فن‌فلورآمین ، بی‌دردی ناشی از گنادکتومی را افزایش داد لذا پیشنهاد میشود که بی‌دردی ناشی از حذف گنادها بعلت حضور سیستم سروتونینی باشد که تخریب سیستم سروتونینی با 5,7DHT در موشهای گنادکتومی‌شده باعث از بین رفتن این بی‌دردی شده و از طرف دیگر تجویز فن‌فلورآمین به حیوانات گنادکتومی شده باعث افزایش این بی‌دردی می‌شود. گنادکتومی موشهای صحرائی نر در مدت ۵۰ روز پس از گنادکتومی باعث افزایش در سنتز مونوآمین

مغزی می‌شود(۷). بازگشت بی‌دردی ناشی از گنادکتومی بوسیله نالوکسان ، شاید دلیلی بر این باشد که حضور فعال سروتونین از طریق سیستم اپیوئیدی باعث بی‌دردی در تست فرمالین می‌شود . بر اساس گزارشی اثرات ۲- متیل‌سروتونین در تست فرمالین در اثر پیش‌درمانی با نالوکسان کاهش پیدا می‌کند (۱۲). همینطور آنتاگونیزه‌شدن اثر ضددردی سروتونین در تستهای درد حاد توسط نالوکسان نشان داده شده است (۱۴و ۳۰). بدین‌ترتیب پیشنهاد میشود که احتمالاً بی‌دردی ناشی از حذف گنادها به حضور سیستم سروتونینی بستگی داشته و بطورکلی این دو سیستم در تأثیر بر روی درد ناشی از فرمالین در ارتباط با هم و هر دو به نحوی سیستم اپیوئیدی را درگیر میکنند.

REFRENCES:

1.Arias P,.Szwarefarb B.,Rondina D.C.D.,Sverdlik R.,&Moguilevsky Y.A.,In Vivo and In Vitro Studies on the Effect of the Serotonergic System on Luteinizing Hormone and Luteinizing Hormone Releasing Hormone Secretion in prepubretal and Peripubretal Female Rast.Brian Res 523:57-61,1990.

2.Biswas N.M.,Mazumder R.,Bhattacharya S.K.,& Das T.K.,Brain 5-Hydroxytryptamine and plasma Testosterone in L-tryptophan Treated Rats.Endocrinol Res 11:131-87,1985.

3.Bradshaw W.G.,Erskine M.S.,& Baum. M.J. ,Dissociation of the Effects of Gonadal Steroids on Brain Serotonin Metabolism and Sexual Behavior in the MaleRat.Neuroendocrinol 34:38-45,1982.

4.Cicero T.J. ,Schainker B.A., & Mayer E.R.,Endogenous opioids participate in the Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Luteinizing Hormone Axis and Testosterone's Negative Feedback control of Luteinizing Hormone.Endocrinol 104:1286-91,1979.

5.Coderre T.J., Vaccarino A.L., & Melzack R.,Control Nervous System Plasticity in the Tonic pain Response to Subcutaneus Formalin Injection.Brain Res 535:155-58,1990.

6.Dickenson A.H., & Sullivan A.F.,Peripheral Origins and Central Modulation of subcutaneus Formalin-Induced Activity of Rat Dorsal Horn Neurons.Neurosci Lett 83:207-11,1987.

7.Engel J., Ahlenius S., & Almergen,Effects of Gonadectomy and Hormone Replacement on Brain Monoamine Synthesis in Male Rats.pharmacol Biochem Behavior 10:149-54,1970.

8.Fasmer O.B.,Berge Q.-G., & Hole K.,Changes in Nociception After Lesions of Descending Serotonergic Pathways Induced with 5,6-

Dihydroxytryptamine.Neuropharmacol 24:729-34,1985.

9.Gelott F.,Negri-cesi P., Limonta P., & Meleangic S., Is the 5-Alpha Reductase of the Hypothalamus and of the Anterior pituitary Neurally Regulated J Steroid Biochem 19:229-34,1983.

10.Gerendai I.,Nemeskeri A., & Csernus V.,Intratesticular Injection of[D-Met2-pro5] enkephalinamide Suppresses Testosterone secretion of the Testis Immature Rat.Regulatory peptides 27:107-15,1990.

11.Gerendai I.,Shahia C.,Gonsalus G.L., & Bardin C.W., The Effects of Opioid Receptor Antagonists Suggest that Testicular opiates Regulate Sertoli and Leydic cell Function in the Neonatal Rat.Endocrinol ,118:2039-44,1986.

12.Giordano J.,Analgesia Profile of Centrally Administered 2-Methylserotonin against Acute pain in Rats.Eur J pharmacol 199:223-36,1991.

13.Hunskaar S.,Fasmer O.B., & Hole K.,Formalin Test in Mice ,A useful Technique for Evaluating Mild Analgesics. J Neurosci Method 14:69-76,1985.

14.Kellstein D.E.,Malseal R.T., & Goldstein F.J.,opioid-Monoamine Interactions in spinal Antinociception.pain 34:85-92,1988.

15.Klimek A., plasma Testosterone Levels in patients with Cluster Headache.Headache 22:162-64,1982.

16.Kocher L.,Systemic Naloxone Dose not Affect Pain-Related Behavior in the Formalin Test in Rat: physiol Behavior 43:265-68,1988.

17.Kurashi y.,Hirata A.,Satoh M., & Takagi H.,Antinociceptive Effects of Intrathecal opioids, Noradrenaline and Serotonin in Rats .Brain Res 326:168-71,1985.

18.Liv M.y., Su C.F., & Lin M.T., The Antinociceptive Role of a Bulbospinal Serotonergic pathway in the Rat Brain.pain 33:123-29,1988.

19.Long J.B.,Yongblood W.W, & kizzer J.S.,Effects of castration and Adrenalectomy on Invitro Rates of Tryptophan Hydroxylation and Levels of serotonin in Microdissected Brain Nuclei of Adult Male Rats . Brain Res 277:289-97,1983.

20.Oliveras J.L.,Hosobuchi Y.,Redyemi F., Guilbaud G., & Besson J.M.,Opiate Antagonist,Naloxone,Strongly Reduces Analgesia Induced by Stimulation of a Raphe Nucleus.Brain Res 120:221-29, 1977.

21.Polleri A.,Pain and Sex Steroids.Advances in Pain Res & Ther 20:253-59,1992.

22.Prieto G.J.,Cannon J.T.,& Liebeskind J.C.,Nucleus Raphe Magnus Lesions Disrupt Stimulation-Produced Analgesia from Ventral But not Dorsal Midbrain Areas in the Rat . Brain Res 261:53-57,1983.

23.Rao S.S.,& Saifi A.Q.,Effect of Testosterone on Threshold of pain . Ind J physiol pharmacol 25:387-88,1981.

24.Rao s.s., & saifi A.Q.,Influence of Testosterone on Morphine Analgesia in Albino Rats.Ind J physiol pharmacol 29:103-106,1985.

25.Roberts M.H.T.,5-Hydroxytryptamine and antinociception Neuropharmacol 23:1529-36,1984.

26.Ryan S.M.,Watkins L.R.,Mayer D.J., & Maier S.F.,Spinal Pain Suppression Mechanism May Differ for phasic and Tonic pain.Brain Res 334:172-75,1985.

27.Sawynok J.,The Role of Ascending and Descending Noradrenergic and serotonergic pathway in Opioid and Non-Opioid Antinociception as Revealed by lesion studies. Can J physiol pharmacol 67:975-88,1989.

28.Tiolsen A.,Berge Q.-G.,Hanskaar S.,Henrik J.R., & Hole K,The Formalin Test on Evaluation of the Method . Pain 51:5-17,1992.

29.Trulson M.E., & Jacobs B.L.,Behavioral Evidence for the Rapid Release of CNS Serotonin by PCPA and fenfluramine .Eur J pharmacol 36:149-54,1976.

30.Xuan Y.T.,Shi Y.S.,zhou Z.F., & Han J.S.,studies on the Mesolimbic Loop of Antinociception II.A Serotonin-Enkephalin Intraction in the Nucleus Accumbens.Neurosic 19:403-409,1986.

31.yaksh T.L., & Wilson P.R.,Spinal Serotonin Terminal System Mediates Antinociception.J pharmacol Exp Ther 208:446-53, 1979.

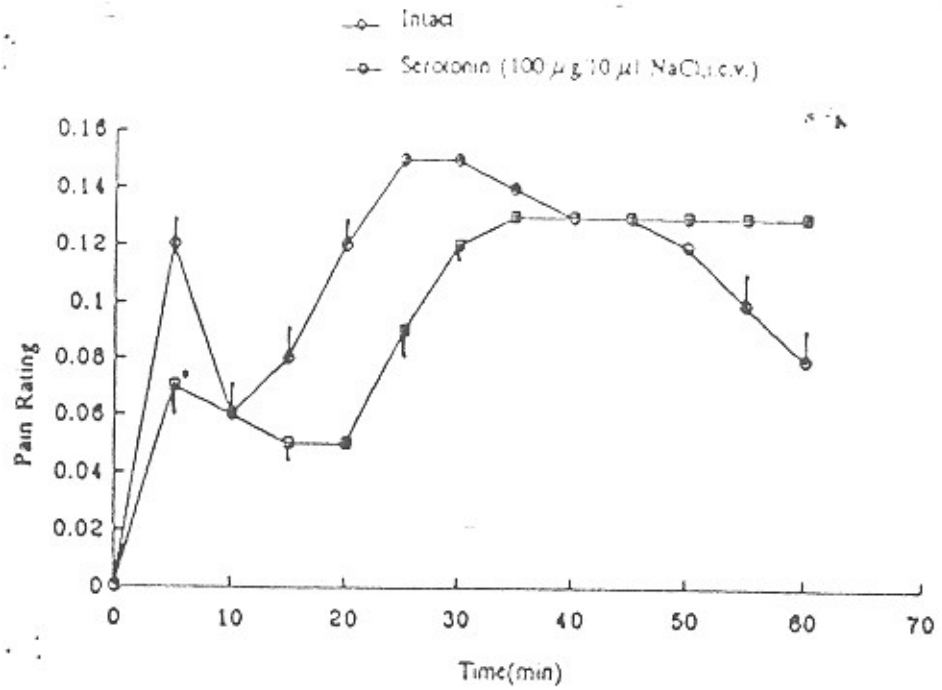

Fig 1.Effect of serotonin on formalin-induced pain.Serotonin was administered immediately prior to the formalin test.Each value represents the mean + S.E.(n=7).P<0.05.

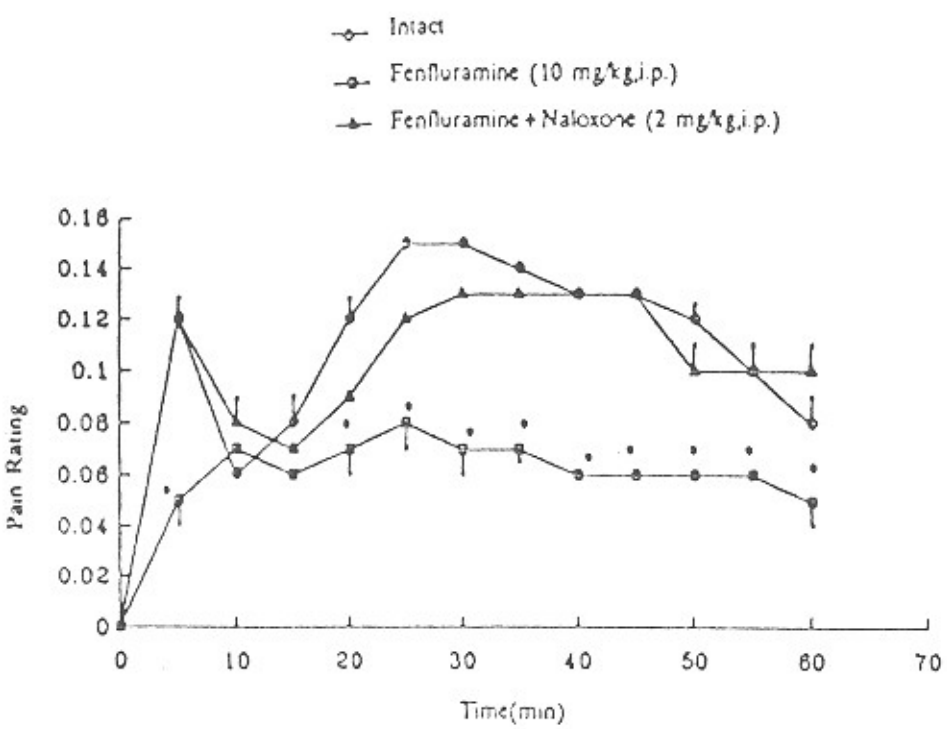

Fig 2.Effect of fenfluramine + naloxone on formalin-induced pain. Naloxone was administered 5 min prior to the fenfluramine. Each value represents the mean + S.E.(n=7).

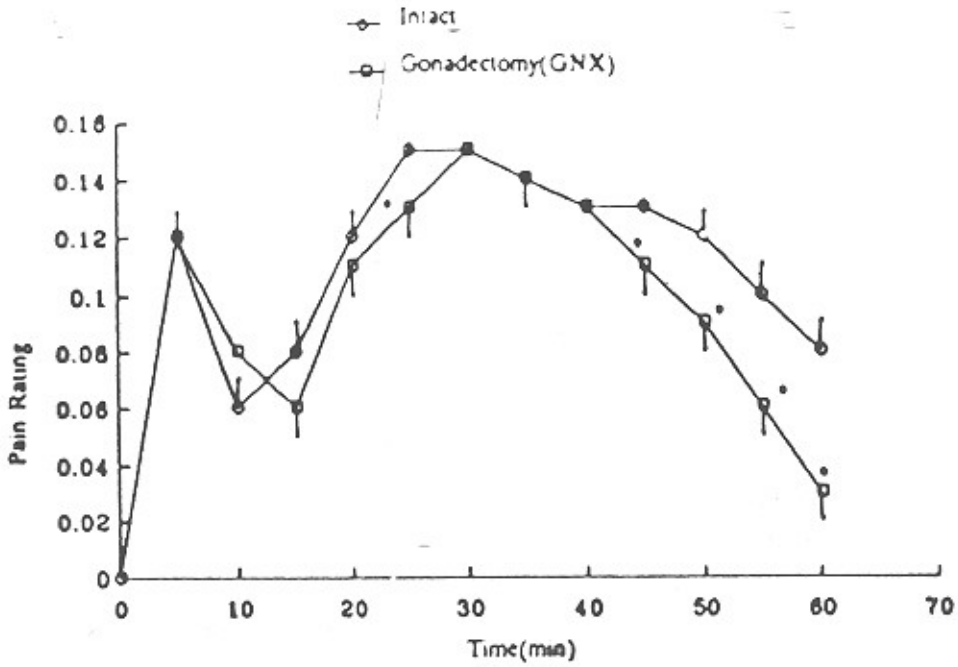

Fig.3.Effect of gonadectomy on formalin-incuced pain. Animals were gonadectomized 15 days prior to the formalin test.Each value represents the mean + S.E.(n=7)P<0.05

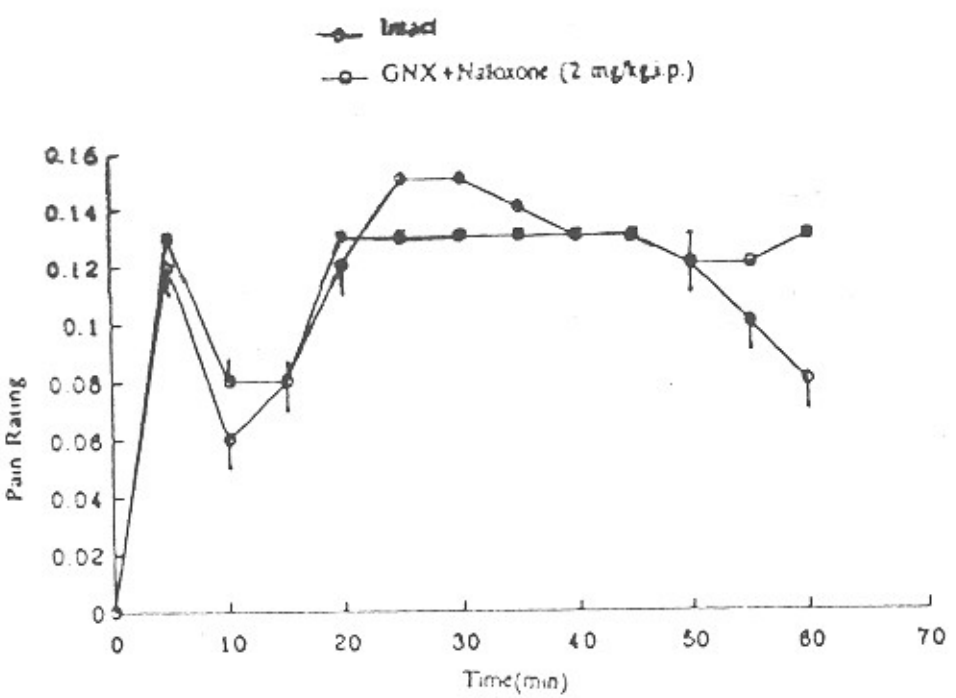

Fig 4.Effect of naloxone on formalin-induced pain in gonadectomized rats . Naloxone was administered to GNX rats 15 min prior to the formalin test.

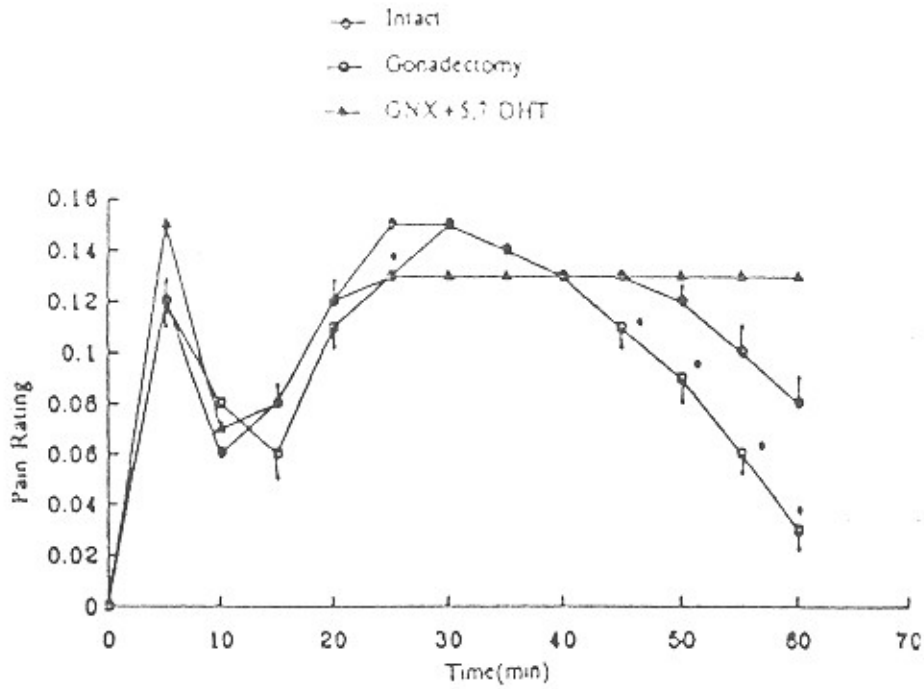

Fig 5.Effect of 5,7 DHT on formalin-induced pain in gonadectomized rats. 5,7 DHT was injected 5 days prior to the formalin test to GNX rats.Each value represents the mean +S.E(n=7)P<0.05.

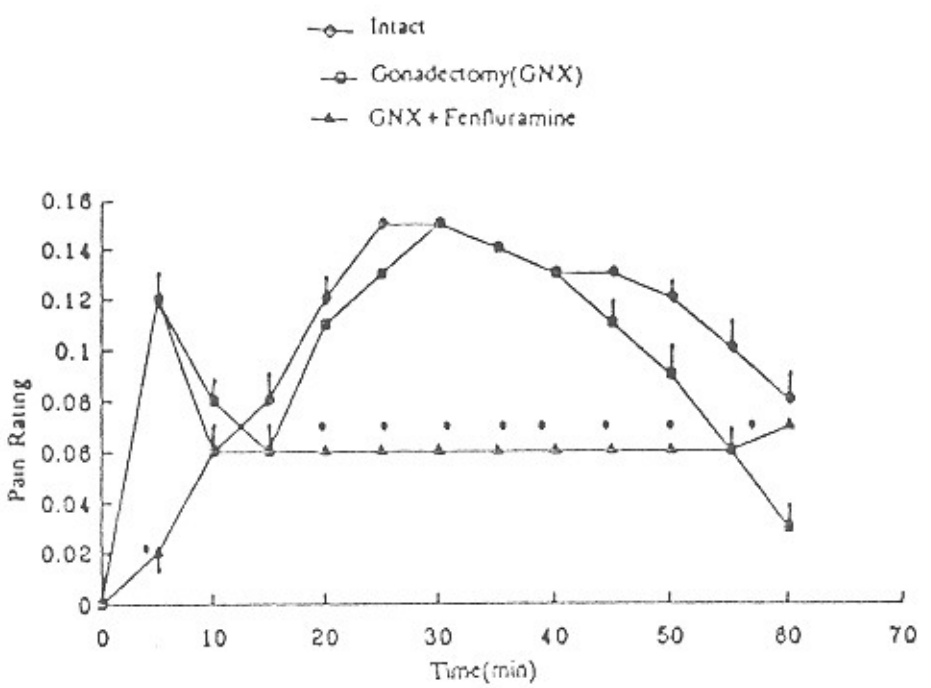

Fig 6.Effect of fenfluramin on formalin-induced pain in gonadectomized rats .Fenfluramine was administered 10 min prior to the formalin test to GNX rats.Each value represents the mean +S.E.(n=7)P<0.05.