

## بررسی اثرات حاصل از کاهش سطح هورمون های استرادیول و پروژسترون بر آستانه درد حرارتی در موش های صحرایی ماده

\*دکتر رحیم احمدی: استادیار و متخصص فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، همدان، ایران (\*مؤلف مسئول).  
rahahmadi2001@yahoo.com  
وحید عسگری: دانشجوی کارشناسی ارشد ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. vahid.asgary@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۲۰

### چکیده

**زمینه و هدف:** مطالعات گوناگونی نشانگر اثرات تعدیل کننده هورمون های جنسی بر آستانه درد می باشند. هدف از این مطالعه بررسی نقش هورمون های استرادیول و پروژسترون در پاسخ به تحریک کننده های حرارتی در موش های ماده می باشد.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی موش های صحرایی ماده ۷ هفته ای به گروه های ۱۰ سری شاهد، sham و اواریکتومی شده تقسیم شده و در زمان های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ روز بعد از اواریکتومی، آستانه درد حرارتی از طریق قرار دادن دم حیوان در آب ۵۵ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد. در این راستا، مدت زمانی که حیوان قادر به نگهداری دم در آب گرم بود به عنوان شاخص زمان بی دردی در نظر گرفته شد. از سویی و همزمان، میزان هورمون های استرادیول، پروژسترون و پرولاکتین سرم نیز با استفاده از روش رادیوایمنواسی مورد سنجش قرار گرفتند. در نهایت داده های حاصل با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس، بین گروه ها مورد مقایسه واقع شدند.

**یافته ها:** زمان بی دردی به همراه میزان هورمون های استرادیول و پروژسترون سرم، ۱۰ روز پس از اواریکتومی تغییر معناداری پیدا نکرد، اما ۲۰ و ۴۰ روز پس از اواریکتومی، زمان بی دردی و نیز میزان استرادیول و پروژسترون سرم نسبت به گروه شاهد کاهش معناداری پیدا کرد (به ترتیب  $p < 0.05$  و  $p < 0.001$ ). از طرفی میزان پرولاکتین سرم نیز ۱۰ و ۲۰ روز پس از اواریکتومی در مقایسه با گروه شاهد تغییر معناداری پیدا نکرد، اما میزان این هورمون، ۴۰ روز پس از اواریکتومی کاهش معناداری نسبت به ۲۰ روز پس از اواریکتومی پیدا کرد ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه گیری:** کاهش سطح هورمون های جنسی ماده (۲۰ یا ۴۰ روز پس از اواریکتومی) تعدیل کننده رفتارهای وابسته به گیرنده های حرارتی در موش های صحرایی ماده است.

**کلیدواژه ها:** استرادیول، پروژسترون، درد حرارتی، موش صحرایی.

### مقدمه

درد احساس ناخوشایندی است که متعاقب مواجه پوست یا سایر بافت های بدن با عوامل آسیب رسان ناشی می شود (۱). شواهد زیادی مبنی بر تفاوت های وابسته به جنسیت در دریافت و عدم دریافت درد وجود دارد (۳ و ۲). همچنین گزارش های مختلفی وجود دارد مبنی بر اینکه شیوع اختلالاتی مانند میگرن و فیبرومیالژیا که با دردهای مزمن همراه هستند در زنان نسبت به مردان بیشتر است (۴). با توجه به این تفاوت های وابسته به جنس و همچنین حضور گیرنده های استروژن در سیستم عصبی که در دریافت درد شرکت می کنند (۵ و ۲)، این فرضیه مطرح می شود

که هورمون های جنسی مانند استرادیول و پروژسترون بر دریافت درد و بی دردی تاثیر گذار هستند.

مطالعات متعدد حاکی از دخالت هورمون های جنسی در اکثر پدیده های فیزیولوژیک همچون یادگیری، حافظه، اضطراب، فعالیت حرکتی و درد است (۶). تحقیقات نشان داده اند که استروژن ها با نقش تنظیمی بر روی نورون های مترشحه انکفالین ها در ستون مهره ها و نورون های مترشحه کاتکول آمین ها در ساقه مغز و مغز میانی در فرآیند درد شرکت می نمایند (۷).

پژوهش های مختلف دیگری اثبات کرده اند که هورمون های جنسی ممکن است بر روی تحمل یا

سانتی گراد بوده و شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (شروع روشنایی در ساعت ۸ صبح) در مورد نمونه‌ها اعمال گردید. حیوانات در طول تجربیات دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد داشتند. همچنین نمونه‌ها از نظر هرگونه علائم پاتولوژیک مورد بررسی قرار گرفتند و در صورت مشاهده علائم پاتولوژیک از پهنه تجربیات خارج گردیدند. از طرفی، ۱۲ ساعت قبل از عمل جراحی، غذا از دسترس نمونه‌ها خارج شد. تمامی تجربیات بر مبنای رعایت اصول اخلاقی مرتبط با آزمایش‌های تجربی در مورد حیوانات انجام گرفت. متعاقباً، موش‌ها به طور تصادفی به گروه‌های شاهد، sham و اواریکتومی شده تقسیم شدند. هر گروه مشتمل بر ۱۰ نمونه بود. همه گروه‌ها قبل از اواریکتومی و ۱۰، ۲۰ و ۴۰ روز پس از اواریکتومی توسط آزمون «دم از آب بیرون کشی» (Tail Withdrawal Test) جهت تعیین آستانه درد حرارتی، مورد سنجش قرار گرفتند. در پایان تجربیات، جمع‌آوری نمونه خونی از طریق خون‌گیری از آئورت شکمی انجام گرفت و متعاقباً هورمون‌های استرادیول، پروژسترون و پرولاکتین نیز در تمامی گروه‌ها اندازه‌گیری گردید. سنجش هورمونی با روش رادیوایمونواسی و با استفاده از کیت آزمایشگاهی DSL lab Incwebster انجام گرفت.

در روند جراحی، اواریکتومی به روش Waynforth (۲۴) انجام شد. بیهوشی توسط تزریق عضلانی کتامین هیدروکلراید (۱۰۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم / کیلوگرم وزن بدن) و گزین هیدروکلراید (۳۴ میلی‌گرم / کیلوگرم وزن بدن) صورت گرفت. جهت انجام اواریکتومی، در محل سیزدهمین مهره، در ناحیه میانی پشت، شکاف کوچکی (۲-۱ سانتی‌متر) ایجاد گردیده و هر دو تخمدان برداشته شدند (اواریکتومی دو طرفه). در نهایت محل برش بخیه زده و ترمیم گردید. در مورد گروه sham نیز مجموعه روندهای جراحی همانند گروه اواریکتومی شده اجرا گردید، اما تخمدان‌ها جدا نشدند و برش‌های ایجاد شده بخیه گردیدند و ترمیم شدند. موش‌های جراحی شده به مدت ۷ تا ۸ روز استراحت نموده و متعاقباً

وابستگی به داروهای آرام‌کننده تأثیر بگذارند (۸) و برخی مطالعات دیگر نشان داده‌اند که تزریق استرادیول می‌تواند منجر به جلوگیری از تحمل شود (۹).

اطلاعات آزمایشگاهی و بالینی بیانگر ارتباط بسیار نزدیک بین استروئیدهای جنسی و تعدیل درد می‌باشند (۱۰). همچنین مشخص شده است که هورمون‌های تخمدانی قادرند آستانه درد را مورد تأثیر قرار دهند (۱۱). از طرف دیگر افزایش میزان پرولاکتین پلازما به عنوان شاخص مهمی از وجود استرس، به ویژه استرس حرارتی، مورد توجه می‌باشد (۱۲). مطالعات بیانگر آنند که استرس در شکل‌های مختلف در گونه‌های مختلف جانوری، باعث افزایش میزان پرولاکتین پلازما می‌شود (۱۳ و ۱۴). تحقیقات نشان می‌دهند که استرس دارای اثرات متعددی بر سیستم تولید مثلی است (۱۵) که بدان واسطه می‌تواند در حساسیت به درد نیز ایفای نقش نماید. در مطالعه حاضر، اندازه‌گیری پرولاکتین سرم به عنوان شاخصی جهت بررسی وجود یا عدم وجود تأثیر استرس بر حساسیت به درد در تجربیات مورد توجه قرار گرفت.

در مجموع، علی‌رغم مطالعات متعدد که طی دوره‌های زمانی متعددی پس از گنادکتومی (از چند روز تا چند ماه) در مورد بررسی اثرات استروئیدهای جنسی بر حساسیت به درد (۲۰-۱۶) و از طریق انواعی از محرکات دردزا (۱۱، ۲۱ و ۲۲) انجام پذیرفته، هنوز نیز اطلاعات متناقضی درباره‌ی نحوه تأثیر استروئیدهای جنسی بر حساسیت به درد وجود دارد (۱۷ و ۲۳). بر این اساس، تحقیق حاضر جهت نشان دادن اثرات اواریکتومی بر حساسیت به درد حرارتی در سه دوره زمانی مشتمل بر ۱۰، ۲۰ و ۴۰ روز پس از برداشت تخمدان‌ها انجام گرفته است.

## روش کار

در این مطالعه که از نوع تجربی-آزمایشگاهی می‌باشد موش‌های صحرایی ماده از انستیتو پاستور خریداری گردیده و در شرایط استاندارد نگهداری شدند. دمای نگهداری حیوانات ۲۰ تا ۲۵ درجه

جدول ۱- زمان بی‌دردی، میزان استرادیول، پروژسترون و پرولاکتین سرم در موش‌های صحرایی ماده

| حیوانات                  | زمان بی‌دردی<br>min±SD | P     | استرادیول<br>ng/ml±SD | P      | پروژسترون<br>ng/ml±SD | P      | پرولاکتین<br>ng/ml±SD | p     |
|--------------------------|------------------------|-------|-----------------------|--------|-----------------------|--------|-----------------------|-------|
| گروه شاهد                | ۵/۱۱±۰/۲۲              | -     | ۱۹/۹۵±۲/۶۰            | -      | ۱۷/۶۶±۱/۵۲            | -      | ۲/۹۲±۰/۲۹             | -     |
| گروه sham                | ۵/۱۴±۰/۱۵              | NS    | ۱۸/۷۵±۱/۹۸            | NS     | ۱۸/۳۲±۱/۲۲            | NS     | ۳/۰۲±۰/۲۰             | NS    |
| ۱۰ روز بعد از اواریکتومی | ۴/۸۰±۰/۰۹              | NS    | ۱۷/۶۷±۱/۵۰            | NS     | ۱۶/۳۲±۰/۴۳            | NS     | ۳/۰۵±۰/۰۴             | NS    |
| ۲۰ روز بعد از اواریکتومی | ۲/۸۷±۰/۰۸              | ۰/۰۰۱ | ۱۳/۱۷±۱/۱۰            | ۰/۰۰۵  | ۵/۲۷±۰/۸۳             | ۰/۰۰۱  | ۳/۱۲±۰/۱۱             | NS    |
| ۴۰ روز بعد از اواریکتومی | ۲/۶۶±۰/۰۵              | *NS   | ۰/۸۷±۱/۱۶             | *۰/۰۰۱ | ۰/۵۵±۰/۰۵             | *۰/۰۰۱ | ۰/۱۵±۰/۱۰             | *۰/۰۵ |

داده‌ها برحسب "SD ± میانگین" بیان شده‌اند. مقادیر P در برابر شاهد و مقادیر \*P و \*NS در برابر گروه اواریکتومی شده ماقبل از خود مقایسه شده‌اند. NS بیانگر اختلاف غیر معنادار می‌باشد.

در روند آزمایش قرار گرفتند. در گروه‌های شاهد، sham و اواریکتومی شده در زمان‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ روز بعد از اواریکتومی می‌باشد.

برطبق نتایج حاصل از این تحقیق، زمان بی‌دردی در گروه‌های شاهد و sham تفاوت معناداری نداشت. از سویی، زمان بی‌دردی ۱۰ روز پس از اواریکتومی با گروه شاهد، تفاوت معناداری از خود نشان نداد. از سوی دیگر، زمان بی‌دردی در حیوانات اواریکتومی شده ۲۰ و ۴۰ روز پس از اواریکتومی نسبت به گروه شاهد دچار کاهش معناداری گشت ( $p < 0/001$ ). زمان بی‌دردی بین ۲۰ و ۴۰ روز پس از جراحی نسبت به هم تفاوت معنی‌داری از خود نشان نداد.

میزان هورمون‌های استرادیول، پروژسترون و پرولاکتین بین گروه‌های sham، شاهد و ۱۰ روز پس از اواریکتومی تفاوت معناداری نداشت. ۲۰ روز پس از اواریکتومی، کاهش معنادار هورمون استرادیول ( $p < 0/05$ ) و پروژسترون ( $p < 0/001$ ) نسبت به گروه شاهد، مشاهده گردید، اما میزان هورمون پرولاکتین تغییر معناداری پیدا نکرد. همچنین کاهش این هورمون‌ها در ۴۰ روز پس از اواریکتومی نسبت به ۲۰ روز پس از اواریکتومی معنادار بود (به ترتیب  $p < 0/001$  و  $p < 0/01$ ). از سویی، میزان هورمون پرولاکتین ۴۰ روز پس از اواریکتومی نسبت به ۲۰ روز پس از اواریکتومی کاهش معناداری پیدا کرد ( $p < 0/05$ ).

### بحث و نتیجه‌گیری

طی تجربیات حاضر از آنجا که افزایش میزان پرولاکتین که شاخص مهم استرس است (۲۴ و ۲۵)

در روند آزمایش قرار گرفتند. در گروه‌های شاهد، sham و اواریکتومی شده در زمان‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ روز بعد از اواریکتومی می‌باشد. برطبق نتایج حاصل از این تحقیق، زمان بی‌دردی در گروه‌های شاهد و sham تفاوت معناداری نداشت. از سویی، زمان بی‌دردی ۱۰ روز پس از اواریکتومی با گروه شاهد، تفاوت معناداری از خود نشان نداد. از سوی دیگر، زمان بی‌دردی در حیوانات اواریکتومی شده ۲۰ و ۴۰ روز پس از اواریکتومی نسبت به گروه شاهد دچار کاهش معناداری گشت ( $p < 0/001$ ). زمان بی‌دردی بین ۲۰ و ۴۰ روز پس از جراحی نسبت به هم تفاوت معنی‌داری از خود نشان نداد. میزان هورمون‌های استرادیول، پروژسترون و پرولاکتین بین گروه‌های sham، شاهد و ۱۰ روز پس از اواریکتومی تفاوت معناداری نداشت. ۲۰ روز پس از اواریکتومی، کاهش معنادار هورمون استرادیول ( $p < 0/05$ ) و پروژسترون ( $p < 0/001$ ) نسبت به گروه شاهد، مشاهده گردید، اما میزان هورمون پرولاکتین تغییر معناداری پیدا نکرد. همچنین کاهش این هورمون‌ها در ۴۰ روز پس از اواریکتومی نسبت به ۲۰ روز پس از اواریکتومی معنادار بود (به ترتیب  $p < 0/001$  و  $p < 0/01$ ). از سویی، میزان هورمون پرولاکتین ۴۰ روز پس از اواریکتومی نسبت به ۲۰ روز پس از اواریکتومی کاهش معناداری پیدا کرد ( $p < 0/05$ ).

در نهایت، همه نتایج به دست آمده در محدوده انحراف معیار از میانگین بیان شدند و با استفاده از طرح آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) تفاوت معناداری بین گروه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. در آنالیز واریانس، معناداری اختلاف میان گروه‌ها با استفاده از آزمون فیشر تعیین گردید.

### یافته‌ها

جدول ۱ نشانگر زمان بی‌دردی، غلظت هورمون‌های استرادیول، پروژسترون و پرولاکتین

از سویی، با توجه به کاهش قابل توجه سطح سرمی هورمون‌های استرادیول و پروژسترون ۴۰ روز پس از جراحی نسبت به ۲۰ روز پس از جراحی و عدم تغییر معنادار همزمان در زمان بی‌دردی، علت این امر را می‌توان به حد نهایی کاهش زمان بی‌دردی متناسب با کاهش سطح سرمی هورمون‌های استرادیول و پروژسترون در ۲۰ روز پس از جراحی نسبت داد. این نتایج بیانگر آن است که رابطه بین کاهش زمان بی‌دردی و کاهش سطح سرمی هورمون‌های استرادیول و پروژسترون از نوع خطی نیست.

کاهش هورمون استرادیول و پروژسترون پس از اواریکتومی به نوبه خود سبب کاهش آستانه درد حرارتی می‌گردد. علاوه بر این، این یافته که استرادیول و پروژسترون نقش کلیدی در تعدیل درد بازی می‌کنند، می‌تواند کاربردهای بالینی متعددی در حوزه سبب‌شناسی و درمان درد به همراه داشته باشد.

### تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر با بهره‌گیری از مساعدت‌های حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان اجرا گردیده و بدین وسیله از زحمات همکاران این حوزه تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

### منابع

1. Fatehi-Hassanabad Z, Jafarzadeh M, Fatehi M, Razavi Tossi MT. Sex affects the feeling of pain in the mice, possible involvement of nitric oxide. *Daru*. 2005;13(3):116-9.
2. 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.
3. Loyd DR, Morgan MM, Murphy AZ. Morphine preferentially activates the periaqueductal gray-rostral ventromedial medullary pathway in the male rat: a potential mechanism for sex differences in antinociception. *Neuroscience*. 2007;147(2):456-68.
4. Craft RM. Modulation of pain by estrogens. *Pain*. 2007;132 Suppl 1:S3-12.
5. Shughrue PJ, Lane MV, Merchenthaler I. Comparative distribution of estrogen receptor-alpha and -beta mRNA in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*. 1997;388(4):507-25.
6. Kesmati M, Raei H, Zadkarami M. Comparison between sex hormones effects on locomotor

روی نداده، می‌توان بیان نمود که استرس حرارت یا دیگر استرس‌های مرتبط، روند تجربیات را تحت تاثیر قرار ندادند. از سویی، طی مطالعه حاضر کاهش میزان پرولاکتین ۴۰ روز پس از اواریکتومی مشاهده گردید. کاهش میزان پرولاکتین پس از گنادکتومی در مطالعات قبلی نیز دیده شده است که این امر می‌تواند ناشی از کاهش اندورفین‌های مغزی یا کاهش میزان هورمون‌های جنسی باشد (۲۶).

همچنین نتایج پژوهش حاضر بیانگر کاهش زمان بی‌دردی و نیز کاهش همزمان هورمون‌های استرادیول و پروژسترون ۲۰ و ۴۰ روز پس از اواریکتومی می‌باشد.

هم‌راستا با این نتایج، کاهش زمان بی‌دردی متعاقب گنادکتومی در تجربیات متعددی مشاهده گردیده است (۲۷). از سویی، تاثیر استرادیول در تحریکات دردزا نیز در مطالعات قبلی به اثبات رسیده است (۲۸). علاوه بر این، تجربیات مختلف دیگری در این زمینه وجود دارد که نشان دهنده تاثیر استروئیدهای جنسی ماده در درد حاصل از فشار مکانیکی (۱۸)، درد حرارتی (۲۹) و درد حاصل از تحریک الکتریکی (۳۰) می‌باشند. در مجموع، به نظر می‌آید که کاهش هورمون‌های جنسی متعاقب گنادکتومی سبب کاهش اندورفین‌ها و انکفالین‌ها شده و از این طریق مقاومت به درد دچار کاهش می‌گردد (۳۱-۳۵).

از طرفی، در تحقیق حاضر مشاهده گردید که ۱۰ روز پس از اواریکتومی آستانه درد حرارتی دچار کاهش معناداری نگردیده و همزمان میزان هورمون‌های استرادیول و پروژسترون نیز دچار کاهش معناداری نگشت. این امر، اثبات‌کننده اثر هورمون‌های استرادیول و پروژسترون بر آستانه درد حرارتی می‌باشد. در واقع مقادیر قابل توجهی از هورمون‌های جنسی به صورت ذخیره در بافت چربی وجود دارند (۳۶) که زمان کافی جهت تخلیه این ذخیره و کاهش آن مورد نیاز می‌باشد. به نظر می‌آید ۲۰ روز پس از اواریکتومی، این ذخیره تخلیه شده و میزان آن کاهش می‌یابد و متعاقباً "میزان هورمون‌های جنسی در سرم، کاسته می‌گردد.

2007 ;172(6):676-9.

20. Romero MT, Kepler K, Cooper ML, Komisaruk BR, Bodnar C: Modulation of gender-specific effects upon swim analgesia in gonadectomized rats. *Physiol Behav.* 1987;40 (1): 39-45.

21. Ceccarelli I, Scaramuzzino A, Massafra C, Aloisi AM. The behavioral and neuronal effects induced by repetitive nociceptive stimulation are affected by gonadal hormones in male rats. *Pain.* 2003 ;104(1-2):35-47.

22. Stoffel EC, Ulibarri CM, Folk JE, Rice KC, Craft RM. Gonadal hormone modulation of mu, kappa, and delta opioid antinociception in male and female rats. *J Pain.* 2005 ;6(4):261-74.

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

24. Waynforth HB. *Experimental and surgical techniques in the rat.* London: Academic Press London; 1980.

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

26. Cook CD, Barrett AC, Roach EL, Bowman JR, Picker MJ. Sex-related differences in the antinociceptive effects of opioids: importance of rat genotype, nociceptive stimulus intensity, and efficacy at the mu opioid receptor. *Psychopharmacology (Berl).* 2000 ;150(4):430-42.

27. Shibata M, Wakisaka S, Inoue T, Shimizu T, Yoshiya I. The effect of electroconvulsive treatment on thermal hyperalgesia and mechanical allodynia in a rat model of peripheral neuropathy. *Anesth Analg.* 1998 ;86(3):584-7.

28. Turner JM, Barrett AC, Cook CD, Picker MJ. Sex differences in pentazocine antinociception: comparison to morphine and spiradoline in four rat strains using a thermal nociceptive assay. *Behav Pharmacol.* 2003 ;14(1):77-85.

29. Lautenbacher S, Rollman G. Sex differences in responsiveness to painful and non-painful stimuli are dependent upon the stimulation method. *Pain.* 1993 ;53(3):255-64.

30. Rollman, G Harris G: The detectability, discriminability, and perceived magnitude of painful electrical shock. *Percept Psychophys.* 1987; 42(3): 257-68.

31. Amandusson A, Hallbeck M, Hallbeck AL, Hermanson O, Blomqvist A. Estrogen-induced alterations of spinal cord enkephalin gene expression. *Pain.* 1999 ;83(2):243-8.

32. Baker L, Ratka A. Sex-specific differences in levels of morphine, morphine-3-glucuronide, and morphine antinociception in rats. *Pain.* 2002 ;95(1-2):65-74.

33. Ma W, Ribeiro-da-Silva A, De Koninck Y, Radhakrishnan V, Cuello AC, Henry JL. Substance

activity behavior in presence of *Matricaria chamomilla* hydroalcoholic extract in gonadectomized male and female adult mice. *Iranian Journal of Biology.* 2006;19(1):98-108.

7. McEwen BS, Alves SE, Bulloch K, Weiland NG. Ovarian steroids and the brain: implications for cognition and aging. *Neurology.* 1997;48(5 Suppl 7):S8-15.

8. Karimi R, Hosseini M, Khodabandehloo F, Khatami L, Tairani Z. Different effects of L-arginine on morphine tolerance in sham and ovariectomized female mice. *J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol).* 2011;12(12):1016-23.

9. Cataldo G, Bernal S, Markowitz A, Ogawa S, Ragnauth A, Pfaff DW, et al. Organizational manipulation of gonadal hormones and systemic morphine analgesia in female rats: effects of adult ovariectomy and estradiol replacement. *Brain Res.* 2005;1059(1):13-9.

10. Mensah-Nyagan AG, Meyer L, Schaeffer V, Kibaly C, Patte-Mensah C. Evidence for a key role of steroids in the modulation of pain. *Psychoneuroendocrinology.* 2009;34 (Suppl 1): S169-77.

11. Ceccarelli I, Fiorenzani P, Massafra C, Aloisi AM. Long-term ovariectomy changes formalin-induced licking in female rats: the role of estrogens. *Reprod Biol Endocrinol.* 2003 ;1:24.

12. Negus SS, Mello NK. Effects of gonadal steroid hormone treatments on opioid antinociception in ovariectomized rhesus monkeys. *Psychopharmacology (Berl).* 2002;159(3):275-83.

13. El Halawani ME, Silsby JL, Behnke EJ, Fehrer SC. Effect of ambient temperature on serum prolactin and luteinizing hormone levels during the reproductive life cycle of the female turkey (*Meleagis gallopavo*). *Biol Reprod.* 1984;30(4):809-15.

14. Rozenboim I, Mobarky N, Heiblum R, Chaiseha Y, Kang SW, Biran I, et al. The role of prolactin in reproductive failure associated with heat stress in the domestic turkey. *Biol Reprod.* 2004;71(4):1208-13.

15. Rozenboim I, Tako E, Gal-Garber O, Proudman JA, Uni Z. Effect of heat stress on ovarian function of Laydig hens. *Poult Sci.* 2007;86(8):1760-5.

16. Aloisi AM, Ceccarelli I, Fiorenzani P. Gonadectomy affects hormonal and behavioral responses to repetitive nociceptive stimulation in male rats. *Ann N Y Acad Sci.* 2003;1007:232-7.

17. Cairns BE, Gazerani P. Sex-related differences in pain. *Maturitas.* 2009 ;63(4):292-6.

18. Ellermeier W, Westphal W. Gender differences in pain ratings and pupil reactions to painful pressure stimuli. *Pain.* 1995;61(3):435-9.

19. Pienkos EJ. The use of testosterone in the treatment of chronic post vasectomy pain syndrome: case report and review of the literature. *Mil Med.*

P and enkephalin immunoreactivities in axonal boutons presynaptic to physiologically identified dorsal horn neurons. An ultrastructural multiple-labelling study in the cat. *Neuroscience*. 1997 ;77(3):793-811.

34. Petraglia F, Penalva A, Locatelli V, Cocchi D. Effect of gonadectomy and gonadal steroid replacement on pituitary and plasma beta-endorphin levels in the rat. *Endocrinology*. 1982;111(4):1224-9.

35. Wardlaw SL. Effect of sex steroids on beta-endorphin in hypophysial portal blood. *J Clin Endocrinol Metab*. 1982;55(5):877-81.

36. Deslypere JP, Verdonck L, Vermeulen A. Fat tissue: a steroid reservoir and site of steroid metabolism. *J Clin Endocrinol Metab*. 1985; 61(3):564-70.

## Effects of decreased serum estradiol or progesterone level on thermal pain threshold in female rats

\* **Rahim Ahmadi, PhD.** Assistant Professor of Physiology, Department of Physiology, Faculty of Basic Sciences, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran (\*Corresponding author). rahahmadi2001@yahoo.com

**Vahid Asgary, MSc.** Department of Immunology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. vahid.asgary@yahoo.com

### Abstract

**Background:** Various studies indicate that gonadal hormones exert modulatory effects on pain threshold. The aim of this study was to investigate the role of estradiol or progesterone in the response by female rats to thermal nociceptive stimulation.

**Methods:** In this laboratory experimental study, thirty 7 week old albino (Wistar) rats were randomly divided into control, sham and ovariectomised groups of 10 each. After 10, 20 or 40 days thermal pain threshold was measured through tail immersion test (55°C water bath). The pain threshold was measured as the time required eliciting a flick of the tail which was called analgesia time. Serum estradiol, progesterone or prolactin levels were also simultaneously measured by radioimmunoassay method. Data were statistically analyzed and compared between groups using ANOVA.

**Results:** There was no significant change in serum estradiol or progesterone levels as well as analgesia time 10 days after ovariectomy; however, a significant decrease was observed 20 or 40 days after operation compared with control female rats ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$  or  $p < 0.001$ , respectively). Also there was no significant change in serum prolactin level 10 or 20 days after ovariectomy compared with control rats; however, a significant decrease was observed 40 days compared with 20 days after ovariectomy ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** Our findings clearly indicate that depletion of female gonadal hormones 20 or 40 days after ovariectomy modulates the pain-induced behavioral responses related to thermal nociception in female animals.

**Keywords:** Estradiol, Progesterone, Thermal Pain, Rat.