

## Effects of Testosterone on Analgesia in Formalin-Treated Mice

Alijani A<sup>1</sup>, Parandin R<sup>2</sup>, Yousofvand N<sup>\*3</sup>, Oryan SH<sup>1</sup>

1. Department of Biology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

2. Department of Biology, Faculty of Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran

3. Department of Biology, Faculty of Sciences, Razi University, Kermanshah, Iran

\* *Corresponding author.* Tel: +988334274545, Fax: +988334274545, E-mail: yousofnam@yahoo.com

Received: Aug 21, 2017

Accepted: Dec 21, 2017

### ABSTRACT

**Background & objectives:** So far, various reports have been presented on the relationship between sex hormones and gender-related differences in pain and analgesia in humans and laboratory animals. The purpose of this study was to investigate the effect of testosterone hormone and spironolactone anti-androgen drug on morphine-induced analgesia in male mice using formalin test.

**Methods:** In this study, 80 male mice were divided into 10 groups (N=8); normal saline (control), sesame seed oil (as testosterone solvent), testosterone (5 and 10 mg/kg body weight), spironolactone, morphine, sesame seed oil + morphine, testosterone (5 and 10 mg/kg body weight) + morphine and spironolactone + morphine. Formalin test was performed in all the mice, and data were analyzed by one-way ANOVA.

**Results:** The results showed that sesame seed oil + morphine ( $p < 0.001$ ), morphine ( $p < 0.001$ ), testosterone (5 mg/kg) + morphine ( $p < 0.01$ ) and testosterone (10 mg/kg) + morphine ( $p < 0.001$ ) significantly reduced acute pain, and testosterone (5 mg/kg) ( $p < 0.05$ ), testosterone (10 mg/kg) ( $p < 0.01$ ), sesame seed oil + morphine ( $p < 0.001$ ), morphine ( $p < 0.001$ ), testosterone (5 mg/kg) + morphine ( $p < 0.001$ ) and testosterone (10 mg/kg) + morphine ( $p < 0.001$ ) significantly reduced chronic pain compared with control group. Spironolactone had no effect on pain relief in the presence and absence of morphine compared to control group.

**Conclusions:** It can be concluded that testosterone has analgesic effects on the chronic phase of the pain. On the other hand, spironolactone may have hyperalgesic effects due to its anti-androgenic properties.

**Keywords:** Testosterone; Analgesia; Morphine; Spironolactone

## تأثیر تستوسترون بر بی‌دردی در موش‌های تیمار شده با فرمالین

اکرم علیجانی<sup>۱</sup>، رحمت اله پرن‌دین<sup>۲</sup>، نامدار یوسف‌وند<sup>۳\*</sup>، شهربانو عریان<sup>۱</sup>

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۲. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۳. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۸۳۳۴۲۷۴۵۴۵ فاکس: ۰۸۳۳۴۲۷۴۵۴۵ ایمیل: yousofvand@razi.ac.ir

### چکیده

**زمینه و هدف:** تاکنون گزارش‌های مختلفی در مورد رابطه هورمون‌های جنسی و تفاوت‌های وابسته به جنس با درد و ضد درد در انسان‌ها و حیوانات آزمایشگاهی ارائه شده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات هورمون تستوسترون و داروی آنتی‌آندروژن اسپیرونولاکتون بر بی‌دردی ناشی از مورفین در موش‌های نر با استفاده از آزمون فرمالین بود.

**روش کار:** در این مطالعه، ۸۰ سر موش نر به ۱۰ گروه ۸ تایی بصورت زیر تقسیم شدند: نرمال سالین (کنترل)، روغن کنجد (بعنوان حلال تستوسترون)، تستوسترون با دوزهای ۵ و ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، اسپیرونولاکتون، مورفین، روغن کنجد + مورفین، تستوسترون ۵ + مورفین، تستوسترون ۱۵ + مورفین و اسپیرونولاکتون + مورفین. سپس آزمون فرمالین در موش‌ها انجام شد و یافته‌ها با روش آنالیز واریانس یکطرفه مقایسه شدند.

**یافته‌ها:** نتایج نشان دادند که گروه‌های روغن کنجد + مورفین ( $p < 0.001$ )، مورفین ( $p < 0.001$ )، تستوسترون ۵ + مورفین ( $p < 0.001$ ) و تستوسترون ۱۰ + مورفین ( $p < 0.001$ ) بطور معنی‌داری موجب کاهش درد حاد و گروه‌های تستوسترون ۵ ( $p < 0.001$ )، تستوسترون ۱۰ ( $p < 0.001$ )، روغن کنجد + مورفین ( $p < 0.001$ )، مورفین ( $p < 0.001$ )، تستوسترون ۵ + مورفین ( $p < 0.001$ ) و تستوسترون ۱۰ + مورفین ( $p < 0.001$ ) بطور معنی‌داری موجب کاهش درد مزمن در مقایسه با موش‌های گروه کنترل شدند. اسپیرونولاکتون در حضور و عدم حضور مورفین تأثیری بر تخفیف درد در مقایسه با موش‌های گروه کنترل نداشت.

**نتیجه‌گیری:** می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تستوسترون دارای اثرات ضد‌دردی در مرحله درد مزمن می‌باشد. از طرفی اسپیرونولاکتون بواسطه خواص آنتی‌آندروژنی ممکن است دارای اثرات هایپرآلژزیا باشد.

**واژه‌های کلیدی:** تستوسترون، بی‌دردی، مورفین، اسپیرونولاکتون

پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۳۰

دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۳۰

### مقدمه

تشخیص و مدیریت درد همچنان بعنوان یکی از چالش‌ها و شرایط بالینی می‌باشد که متخصصان پزشکی در مراکز درمانی با آن مواجه هستند. درد اثر قابل توجهی را بر وضعیت زیستی، روانی، اجتماعی و اقتصادی بیماران دارد [۱]. استفاده از داروهای مخدر

(اپیوئیدها<sup>۱</sup>) از جمله مورفین در بهبود بیماری‌هایی که از درد شدید رنج می‌برند، از اهمیت فراوانی برخوردار می‌باشد. این داروها با تحریک گیرنده‌های اپیوئیدی دستگاه عصبی، توانایی تخفیف درد را دارند [۲]. با این وجود گزارش‌های مختلفی در ارتباط با وجود تفاوت‌های جنسی بین نر و ماده در پاسخ به اپیوئیدها

<sup>۱</sup> Opioids

از جمله مورفین و متادون ارائه شده است [۳، ۴]. در بسیاری از این مطالعات اثر ضد درد اپیوئیدها در جنس نر بیشتر از جنس ماده گزارش شده است. همینطور نشان داده شده که میزان بی دردی ایجاد شده توسط مورفین در بعضی از مدل‌های القای درد در حیوانات نر بیشتر از ماده‌ها است [۵-۷]. بعلاوه گزارشات کلینیکی، بر نیاز به مصرف دوزهای بیشتر مورفین در خانم‌ها نسبت به مردان پس از عمل جراحی دلالت دارد [۸]. معمولاً حیوانات نر درجه بالاتری از ضد دردی را در مقایسه با ماده‌ها نسبت به دوزهای مورفین نشان می‌دهند [۹]. به طوریکه گزارش شده است که مردان آستانه درد بالاتری نسبت به زنان دارند [۱۰]. این اختلافات، تفاوت‌های وابسته به جنس در حساسیت مغز به مورفین را منعکس می‌کند. در حالی که مشخص شده که سطح مورفین در خون و مغز در حیوان نر و ماده مشابه هستند، یکی از منطقی‌ترین تفسیرها در مورد تفاوت‌های وابسته به جنس در پاسخ به اپیوئیدها، هورمون‌های جنسی هستند که در این اثرات دخالت دارند. همینطور نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که هیچ تفاوتی در بی دردی ناشی از اپیوئیدها در حیوانات نر و ماده عقیم وجود ندارد و پاسخ‌های نر و ماده به بی دردی ناشی از مورفین در غیاب استروئیدهای جنسی ثابت باقی خواهد ماند [۹]. در سال‌های گذشته، نقش جنسیت، غدد و هورمون‌های جنسی در درد و سرکوب آن مورد توجه قرار گرفته است. گزارش‌ها نشان داده اند که میزان اپیوئیدهای درونزاد از جمله بتا آندروفین توسط هورمون‌های جنسی از جمله تستوسترون تعدیل می‌شود [۱۱]. در مجموع تاکنون مطالعات متناقضی در مورد نقش هورمون تستوسترون بر میزان درد و بی دردی ارائه شده است.

اسپیرونولاکتون<sup>۱</sup> یک استروئید صنعتی و داروی دیورتیک با اثرات آنتی آندروژنی می‌باشد که از راه

رقابت با گیرنده‌های آندروژن موجب کاهش تولید تستوسترون و همینطور مهار آنزیم ۵ آلفا ردوکتاز می‌گردد. این دارو در درمان فشار خون، هیپرآلدوسترونیزم ثانویه، نارسائی احتقانی قلب، سیروز کبدی، سندروم نفروتیک و پر مویی در زنان بکار می‌رود [۱۲، ۱۳].

با توجه به نقش آندروژن‌ها از جمله هورمون تستوسترون در درد و بی دردی و تناقض در این مهم، هدف از این تحقیق اثر داروهای تستوسترون برونزاد<sup>۲</sup> و آنتی آندروژن اسپرونولاکتون بر بی دردی ناشی از مورفین با استفاده از تست فرمالین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر بود.

### روش کار

در این مطالعه تجربی از موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر از نژاد NMRI با محدوده وزن ۲۵-۳۰ گرم که از انستیتو پاستور ایران تهیه شده بودند، استفاده گردید. حیوانات در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی گروه زیست‌شناسی دانشگاه رازی تا رسیدن به شرایط با ثبات و تطابق با محیط، به مدت دو هفته نگهداری شدند. دمای محل نگهداری حیوانات واقع در حیوانخانه دانشکده علوم دانشگاه رازی در حدود  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  بوده و موش‌ها در دوره‌های روشنایی/ تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند و به آب و غذای کافی با شرایط یکسان دسترسی داشتند. اجرای این تحقیق بر اساس دستورالعمل اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی همچنین کمیته اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه رازی کرمانشاه با کد ۱۰۱۵۲۴۲۶۷۵ RU/Biology Department انجام گرفت. ۸۰ سر موش به صورت تصادفی به ۱۰ گروه ۸ تایی بصورت زیر گروه بندی شدند.

۱- گروه کنترل: نرمال سالین

۲- گروه شاهد ۱: حلال تستوسترون (روغن کنجد)

<sup>2</sup> Exogen

<sup>1</sup> Spironolactone

گروه‌های خاص به صورت تک دوز تزریق شد. بعد از مواجهه دارویی و اطمینان از اثر دارو در بدن جهت اعمال اثر انطباق حیوان به مدت ۱۵ دقیقه در داخل اتاقک شیشه‌ای قرار داده می‌شود. دستگاه تست درد یک اتاقک شیشه‌ای به ابعاد  $30 \times 30 \times 30$  است. اتاقک (جعبه) شیشه‌ای روی سطح فوقانی جعبه دیگری حاوی آینه با زاویه قرارگیری  $45^\circ$  درجه جاسازی می‌شود. برای مشاهده بهتر حرکات حیوان یک آینه با زاویه  $45^\circ$  درجه، داخل جعبه زیرین و در زیر اتاقک شیشه‌ای و روبروی مشاهده کننده قرار می‌گیرد. پس از گذشت مدت زمان مورد نظر، با استفاده از سرنگ انسولین، ۲۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵٪ به کف دست راست حیوان به صورت زیرجلدی تزریق می‌شود. پس از آن نیز حیوان به دستگاه تست درد بازگردانده می‌شود تا رفتارهای حیوان مورد بررسی قرار گیرد. حیوان مجموعه‌ای از رفتارهای القا شده با فرمالین را نشان خواهد داد که به آنها بر اساس روش‌های دوبویسون-دنیس<sup>۱</sup> و هانسکار-هول<sup>۲</sup> نمره ۰-۳ داده می‌شود. در نهایت نمره درد به صورت ۱۲ بلوک ۵ دقیقه‌ای محاسبه خواهد شد و میانگین نمره درد در هر بلوک ۵ دقیقه‌ای طبق فرمول زیر محاسبه می‌شود [۱۴، ۱۵].

$$\text{نمره درد} = \frac{0T_0 + 1T_1 + 2T_2 + 3T_3}{20}$$

در این فرمول  $T_0, T_1, T_2, T_3$  تعداد ۱۵ ثانیه‌هایی است که حیوان در دوره ۵ دقیقه‌ای به ترتیب رفتارهای صفر، ۱، ۲، ۳ را نشان می‌دهد. دقایق ۰-۵ و ۶۰-۱۶ به ترتیب به عنوان مراحل فاز حاد و درد مزمن در نظر گرفته می‌شوند. زمان ۱۰ تا ۳۰ دقیقه هم به عنوان تغییر فاز درد در نظر گرفته می‌شود. نمره صفر = دست حیوان بطور طبیعی بر زمین است. نمره ۱ = دست حیوان مختصری بر زمین است.

- ۳- گروه شاهد ۲: حلال تستوسترون (روغن کنجد) + مورفین (۱۰ mg/kg)
- ۴- گروه شاهد ۳: مورفین (۱۰ mg/kg)
- ۵- گروه تجربی ۱: تستوسترون (۵mg/kg)
- ۶- گروه تجربی ۲: تستوسترون (۵mg/kg) + مورفین (۱۰ mg/kg)
- ۷- گروه تجربی ۳: تستوسترون (۱۵mg/kg)
- ۸- گروه تجربی ۴: تستوسترون (۱۵mg/kg) + مورفین (۱۰ mg/kg)
- ۹- گروه تجربی ۵: اسپرونولاکتون (۲۵mg/kg)
- ۱۰- گروه تجربی ۶: اسپرونولاکتون (۲۵mg/kg) + مورفین (۱۰ mg/kg).

در این پژوهش تستوسترون انانتات از شرکت داروسازی کاسپین، اسپرونولاکتون از شرکت داروسازی ایران هورمون و روغن کنجد از شرکت باریج اسانس تهیه شدند. تزریق نرمال سالین، روغن کنجد، تستوسترون و اسپرونولاکتون، به مدت یک هفته روزانه بین ساعت ۸ تا ۱۰ صبح، بصورت درون صفاقی و با سرنگ انسولین انجام گرفت. در گروه‌های دریافت کننده مورفین یک روز پس از آخرین تیمار با مواد ذکر شده، مورفین (۱۰ mg/kg) نیز به صورت زیر جلدی و نیم ساعت قبل از انجام آزمون فرمالین به موش‌های گروه‌های تحت تیمار تزریق گردید.

آزمون فرمالین دارای دو مرحله مشخص درد است که مرحله اول آن پس از تزریق زیر جلدی فرمالین به انگشت وسط دست راست حیوان شروع شده و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه ادامه داشته و سپس فروکش میکند. در مرحله دوم درد، بعد از فروکش نسبی، درد شدیدتری تقریباً ۱۵ دقیقه پس از تزریق، بروز و تا حدود یک ساعت ادامه می‌یابد. برای انجام تست درد ابتدا حیوان برای انطباق با شرایط محیط به مدت ۱۵ دقیقه در داخل اتاقک شیشه‌ای قرار می‌گیرد سپس بر اساس اینکه متعلق به کدام گروه باشد در معرض تزریق حلال، تستوسترون و اسپرونولاکتون در دوره زمان خاص ذکر شده قرار می‌گیرد. مورفین نیز به

<sup>1</sup> Dobuissou-Dennis

<sup>2</sup> Hunskaar-Hol

نمره ۲ = دست حیوان بر زمین نیست و از آن جدا است.

نمره ۳ = حیوان دستش را گاز می‌گیرد یا می‌لیسد.

هنگامی که حیوان دست را لیسیده، جویده و یا به شدت تکان می‌دهد به عنوان زمان لیس زدن در نظر گرفته می‌شود. مرحله اول (۰ تا ۵ دقیقه) به عنوان فاز حاد و مرحله دوم (۲۰ تا ۳۰ دقیقه) به عنوان فاز مزمن درد بر حسب ثانیه اندازه‌گیری شد. یا در فواصل زمانی ۵ دقیقه اول برای درد حاد و ۱۵ تا ۶۰ دقیقه بعد به عنوان شاخص درد مزمن اندازه‌گیری می‌شود. بعد از ۱۵ تا ۲۰ دقیقه فاز دوم درد شروع می‌شود و حیوان دوباره به لیسیدن کف دست مربوطه می‌پردازد که حدود ۴۰ دقیقه طول می‌کشد [۱۵، ۱۶].

### آنالیز آماری

داده‌ها بصورت خطای استاندارد میانگین<sup>۱</sup> (Mean±SEM) آورده شده اند. نرمال بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون کولموگروف-اسمیرنوف<sup>۲</sup> تایید شد، سپس جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه<sup>۳</sup> و جهت مقایسه میانگین گروه‌های آزمایشی از آزمون تعقیبی توکی<sup>۴</sup>

<sup>1</sup> Standard Error of Mean (SEM)

<sup>2</sup> Kolmogorov- Smirnov Test

<sup>3</sup> One-Way ANOVA

<sup>4</sup> Post Hoc Tukey Test

استفاده شد. از نظر آماری مقادیر  $p < 0.05$  بعنوان حداقل سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

#### نتایج حاصل از تزریق تستوسترون در عدم حضور

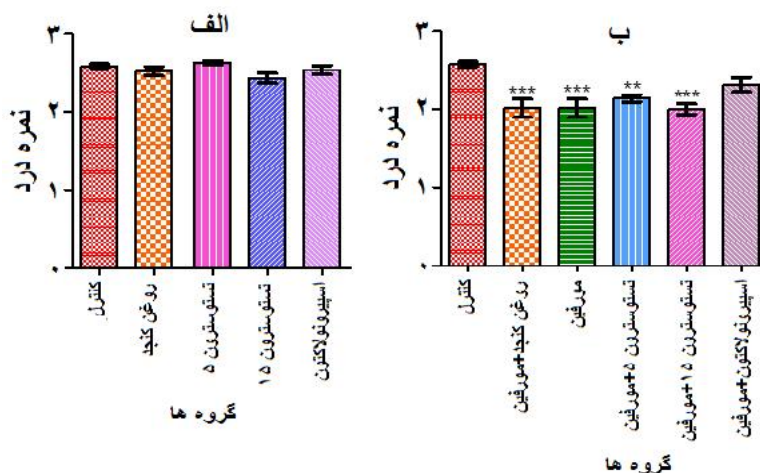
##### مورفین بر پاسخ درد در مرحله حاد

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در طی دوره درد حاد القاشده توسط تست فرمالین، هیچکدام از گروه‌های حلال تستوسترون (روغن کنجد)، تستوسترون با دوزهای ۵ و ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم و اسپرونولاکتون نسبت به گروه کنترل، تغییری در پاسخ به درد ایجاد نمی‌کنند (نمودار ۱- الف).

#### نتایج حاصل از تزریق تستوسترون در حضور مورفین

##### بر پاسخ درد در مرحله حاد

نتایج تحقیق نشان می‌دهد که گروه‌های روغن کنجد+ مورفین ( $p < 0.001$ )، مورفین ( $p < 0.001$ )، تستوسترون ۵+ مورفین ( $p < 0.01$ ) و تستوسترون ۱۵+ مورفین میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن ( $p < 0.001$ ) نسبت به گروه کنترل باعث کاهش درد در مرحله حاد درد القاء شده توسط تست فرمالین در موش‌های نر بالغ می‌شوند. در صورتیکه گروه اسپرونولاکتون+ مورفین نسبت به گروه کنترل تغییری در پاسخ به درد ایجاد نمی‌کند (نمودار ۱- ب).



نمودار ۱. مقایسه میزان نمره درد حاد در طول زمان ۵-۰ دقیقه ای آزمون فرمالین در گروه‌های مختلف در الف) عدم حضور مورفین و ب) در حضور مورفین. اختلاف معنی دار با گروه کنترل ( $p < 0.01$ ) و ( $p < 0.001$ ) (\*\*\*)

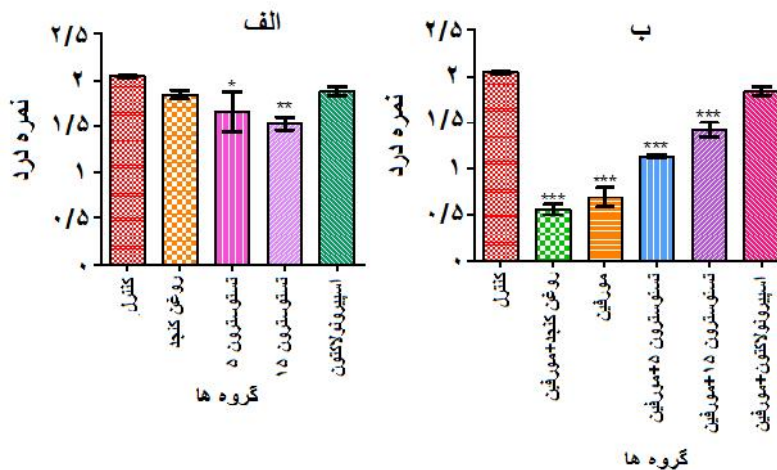
کنجد+ مورفین و مورفین+ تستوسترون با هر دو دوز (تستوسترون ۵+ مورفین و تستوسترون ۱۵+ مورفین میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) نسبت به گروه کنترل درد را بطور معنی‌داری ( $p < 0.001$ ) کاهش دادند و تستوسترون اثرات ضد دردی مورفین را نیز تا حدودی کاهش داد. در همین مورد گروه اسپرونولاکتون+مورفین تغییری در پاسخ به درد نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد، در واقع اسپرونولاکتون اثرات ضد دردی مورفین در مرحله مزمن را خنثی نمود (نمودار ۲-ب).

### نتایج حاصل از تزریق تستوسترون در عدم حضور مورفین بر پاسخ درد در مرحله مزمن

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که در طول دوره مزمن درد القاء شده توسط تست فرمالین، تستوسترون با دوزهای ۵ ( $p < 0.05$ ) و ۱۵ ( $p < 0.01$ ) میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، کاهش معنی‌داری در پاسخ به درد نسبت به گروه کنترل دارند، در صورتیکه گروه‌های روغن کنجد و اسپرونولاکتون تغییری در این مورد ندارند (نمودار ۲-الف).

### نتایج حاصل از تزریق تستوسترون در حضور مورفین بر پاسخ درد در مرحله مزمن

نتایج بیان کننده این امر است که در مرحله مزمن درد القا شده توسط تست فرمالین، گروه‌های روغن



نمودار ۲. مقایسه میزان نمره درد مزمن در طول زمان ۶۰-۱۶ دقیقه ای آزمون فرمالین در گروه‌های مختلف در الف) عدم حضور مورفین و در ب) حضور مورفین. اختلاف معنی دار با گروه کنترل ( $p < 0.05$ ),  $p < 0.01$  و  $p < 0.001$  (\*\*\*)

مزمن مشهودتر بود. طی آزمایشاتی نتایج قطعی دال بر اثرات هورمون‌های استروئیدی گنادی که عامل اصلی تفاوت‌های جنس نر و ماده است، بر حس درد به دست نیامده است. تحقیقاتی چند در رابطه با اثر هورمون‌های استرادیول و تستوسترون بر میزان درد صورت گرفته و نتایج متناقضی ارائه گردیده است [۱۷، ۱۸]. همچنین تحقیقات انجام شده بیانگر آن است که هورمون‌های جنسی و تفاوت‌های جنسی موجب تعدیل پاسخ ضد دردی و ضدهایپر آلرژی اپیوئیدها در

### بحث و نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر در درد ایجاد شده توسط فرمالین در موش‌ها نشان داد که تستوسترون به تنهایی در دوره درد حاد تغییری در پاسخ به درد ایجاد نمی‌کند، ولی در دوره مزمن با هر دو دوز ۵ و ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن قادر به کاهش پاسخ درد می‌باشد. نتایج همین‌طور نشان داد که تستوسترون در حضور مورفین قادر به کاهش پاسخ درد در هر دو مرحله حاد و مزمن بود که این کاهش درد در دوره

موش صحرایی می‌گردد. این تفاوت‌ها نشان می‌دهد که هورمون‌های جنسی ممکن است بر سیستم حس درد مؤثر باشند [۱۹]. معمولاً حیوانات نر درجه بالاتری از پاسخ‌های تسکین درد را در مقایسه با ماده‌ها نسبت به دوزهای مورفین نشان می‌دهند. به طوری که گزارش شده است که مردان آستانه درد بالاتری نسبت به زنان دارند [۹]. این اختلافات، تفاوت‌های وابسته به جنس در حساسیت مغز به مورفین را منعکس می‌کنند. در حالی که مشخص شده است که سطح مورفین در خون و مغز در حیوان نر و ماده مشابه هستند، یکی از منطقی‌ترین تفسیرها در مورد تفاوت‌های وابسته به جنس در پاسخ به اپیوئیدها، هورمون‌های جنسی هستند که در این اثرات دخالت دارند [۹، ۱۰].

نتایج مطالعات دیگر نشان می‌دهد که هیچ تفاوتی در بی‌دردی القا شده توسط اپیوئیدها در حیوانات نر و ماده عقیم وجود ندارد و پاسخ‌های نر و ماده به بی‌دردی ناشی از مورفین در غیاب استروئیدهای جنسی ثابت باقی می‌ماند [۹]. با وجود شواهد موجود در خصوص دخالت هورمون‌های جنسی در بروز تفاوت‌های وابسته به جنس در اثرات ضد دردی اپیوئیدها این موضوع همچنان مورد بحث است چرا که کاهش حساسیت به مورفین بعد از عقیم شدن در موش صحرایی نر را به فقدان تستوسترون نسبت داده اند [۶]. همین‌طور تفاوت‌های جنسی که در بی‌دردی ناشی از مورفین مشاهده می‌شود ممکن است ناشی از اثرات سازمان‌دهنده استروئیدهای جنسی در حیوانات باشد [۲۰، ۲۱]. هورمون‌های جنسی، بویژه تستوسترون در مردان، ممکن است در این اثر شرکت داشته باشند [۹] چرا که دستکاری‌های هورمونی، میزان درد پایه و پاسخ‌های بی‌دردی را تغییر می‌دهند. تستوسترون یک اثر ضد دردی را ایجاد می‌کند به طوری که زنان مبتلا به آرتریت روماتوئید، به دنبال تزریق طولانی مدت تستوسترون درد کمتری حس می‌کنند و نگرانی آنها کاهش

می‌یابد. در مجموع هم مردان و هم زنانی که بیماری آرتریت روماتوئید دارند، سطح تستوسترون سرم آنها کمتر از کسانی است که سالم هستند [۲۲]. نقش جنسیت و عمل غدد جنسی در درد و مهار آن در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. گزارشات متعددی مبنی بر دخالت هورمون‌های جنسی در روند درد وجود دارد. مطالعات نشان داده است که غلظت اپیوئیدهای اندوژن مانند بتا اندورفین به وسیله استروئیدهای جنسی تعدیل می‌شود [۱۸]. تفاوت‌های وابسته به جنس در احساس درد حاد در پاسخ به مورفین و نیز آستانه درد در حیوانات گناتکومی شده، در پاسخ به این دارو، بیانگر تأثیر هورمون‌های جنسی در این پدیده است [۲۴، ۲۳]. هورمون‌های جنسی به علت اینکه می‌توانند بیان ژن‌ها را در سیستم‌های مختلف تغییر بدهند از جمله تنظیم میزان پپتیدهای اپیوئیدی اندوژن و نیز mRNA آنها و تنظیم گیرنده‌های اپیوئیدی و همچنین از طریق تأثیر بر فارماکودینامیک دارو می‌توانند سبب بروز اختلافات شوند [۲۵].

تفاوت‌های وابسته به جنس در پاسخ به درد به تعداد و توزیع ناحیه ای رسپتورهای اپیوئیدی در نواحی دو دیسی یا دو شکلی جنسی (دی مورفیسیم) مغز در جنس نر و ماده نسبت داده شده است [۲۷، ۲۶]. همچنین معیارهایی وجود دارد که پیشنهاد می‌کنند استروئیدهای جنسی ممکن است بر جمعیت رسپتورهای اپیوئیدی در تعدادی از نواحی مغز اثر کنند به طوری که مشخص شده است تفاوت‌هایی در بی‌دردی ناشی از مورفین وجود دارد که توسط چندین جایگاه در سیستم عصبی میانجیگری می‌شود [۲۷، ۲۸]. مکانیسم تغییرات وابسته به هورمون در گیر در درد و بی‌دردی ناشی از مورفین کاملاً شناخته شده نیست. نواحی از مغز مانند PAG که در مهار پایین روی درد و بی‌دردی ناشی از مورفین درگیرند، دارای رسپتورهای آندروژن [۲۵] و رسپتورهای استروژن (آلفا) می‌باشند [۲۹، ۳۰]. علاوه

بر آن در بخش کمری-خاجی طناب نخاعی، رسپتورهای استروژن مشخص شده‌اند که در سلول‌های کوچکی از تیغه ۱ و ۲ و ۵ و ۷ قرار دارند [۳۰] و در واقع همه نورون‌های حرکتی دارای رسپتورهای آندروژن هستند [۳۱،۳۲]. نواحی از PAG و طناب نخاعی که رسپتورهای هورمون‌های استروئیدی گنادی را بیان می‌کنند به طور نزدیک با نواحی شناخته شده شامل رسپتورهای اپیوئیدی همپوشانی دارند. مطالعاتی وجود دارند که نشان می‌دهند جایگاه‌های احتمالی در سیستم عصبی مرکزی وجود دارد، مخصوصاً در مسیر پایین‌روی مهارکننده درد، جایی که استروئیدهای گنادی میزان درد پایه را به خوبی میزان بی‌دردی ناشی از اپیوئیدها تنظیم می‌کنند [۲۹،۳۰]. لذا ممکن است در سطح گیرنده‌ها یا مراکز عصبی، رقابتی بین استروئیدهای گنادی و اپیوئیدها (مورفین) وجود داشته باشد و از آنجا که اثر ضد دردی استروئید جنسی (تستوسترون) کمتر از مورفین است لذا تأثیر همزمان و رقابتی آنها به صورت کاهش اثر ضد دردی مورفین بروز می‌کند. نتایج پژوهش حاضر بیان می‌دارد که اسپرونولاکتون در حضور و عدم حضور مورفین در هر دو دوره درد حاد و مزمن تغییری در پاسخ به محرک دردزا ایجاد نمی‌کند. مطالعات نشان می‌دهد که اثرات ضد آندروژنی اسپرونولاکتون از طریق رقابت دارو با آندروژن‌ها بر سر اتصال به گیرنده‌های آندروژنی و کاهش سنتز آندروژن اعمال می‌گردد. به علاوه مصرف طولانی مدت دارو در مقادیر بالا موجب مهار آنزیم ۵-آلفا ردوکتاز و کاهش تولید دی‌هیدروتستوسترون می‌گردد [۳۳]. داروی اسپرونولاکتون از طریق مکانیسمی ناشناخته، باعث افزایش فعالیت آنزیم آروماتاز (استروژن سنتتاز) می‌گردد؛ این آنزیم تبدیل تستوسترون به استرادیول را افزایش داده و نهایتاً منجر به کاهش تستوسترون می‌گردد [۳۴]. همچنین احتمالاً این دارو باعث تخریب یا کاهش آنزیم سیتوکروم P 450 کبیدی

می‌گردد [۳۵] که برای عملکرد برخی از آنزیم‌های دخیل در سنتز آندروژن‌ها از جمله دسمولاز و ۱۷هیدروکسیلاز ضروری است. در نتیجه میزان سنتز آندروژن‌ها به ویژه تستوسترون، با مصرف این دارو کاهش می‌یابد. مطالعات نشان می‌دهد که در روش‌های آزمون درد (Hot Plate و Tail-Flick) که درد القا شده با گرما را اندازه‌گیری می‌کنند، اسپرونولاکتون آستانه تحریک درد را کاهش می‌دهد. اسپرونولاکتون همچنین اثرات ترامادول را در تست‌های پلیت کاهش می‌دهد و نیز دارای اثر پیش‌دردزایی در درد القا شده با الکتروسیته است. در مقابل، اسپرونولاکتون اثر ضد دردی بالایی در درد شیمیایی القا شده با کپسایسین<sup>۱</sup> دارد. اسپرونولاکتون همچنین اثرات رفتارهای درد برانگیخته شده با تزریق اسید استیک در حفره صفاق موش را مهار می‌کند [۳۶]. اسپرونولاکتون در جایگاه‌های نخاعی و فوق نخاعی به عنوان تعدیل‌کننده درد عمل می‌کند. حضور رسپتورهای مینرالوکورتیکوئید در چندین نقطه از مغز مثل هیپوکامپ و هسته‌های ناحیه منزوی مغز<sup>۲</sup> به اثبات رسیده است [۳۷]. بلوکه کردن رسپتورهای مینرالوکورتیکوئید مرکزی با اسپرونولاکتون باعث کاهش پاسخ به درد احشایی می‌شود. اسپرونولاکتون همچنین دارای اثرات قوی ضد التهابی و تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی است که می‌تواند مربوط به دردهای احشایی باشد [۳۸،۳۹].

در مجموع نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تأثیر تستوسترون بر کاهش پاسخ درد مؤید آن دسته از گزارش‌هایی است که بیان می‌دارند تستوسترون موجب کاهش درد در مرحله مزمن می‌شود و این مشاهده با اثرات بازدارنده آنتی آندروژن بر کاهش درد در حضور مورفین بیشتر تایید می‌گردد.

<sup>1</sup> Capsaicin

<sup>2</sup> Solitary



**تشکر و قدردانی**

دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تقدیر و تشکر به عمل آورند.

این مقاله حاصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد خانم اکرم علیجانی می باشد. نویسندگان بر خود لازم می دانند از همکاری حوزه معاونت پژوهشی

**References**

- 1- Schug SA, Goddard C. Recent advances in the pharmacological management of acute and chronic pain. *Ann Palliat Med.* 2014 Oct; 3(4): 263-75.
- 2- Rosenblum A, Marsch LA, Joseph H, Portenoy RK. Opioids and the Treatment of Chronic Pain: Controversies, Current Status, and Future Directions. *Exp Clin Psychopharmacol.* 2008 Oct; 16(5): 405-16.
- 3- Lee CWS, Ho IK. Sex differences in opioid analgesia and addiction: interactions among opioid receptors and estrogen receptors. *Mol Pain.* 2013 Sep; 9: 45.
- 4- Graziani M, Nistico R. Gender differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics of methadone substitution therapy. *Front Pharmacol.* 2015 Jun; 6: 122.
- 5- Bartley EJ, Fillingim RB. Sex differences in pain: a brief review of clinical and experimental findings. *Br J Anaesth.* 2013 Jul; 111(1): 52-8.
- 6- Dahan A, Kest B, Waxman AR, Sarton E. Sex-specific responses to opiates: animal and human studies. *Anesth Analg.* 2008 Jul; 107(1): 83-95.
- 7- Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum SA, Hudspeth AJ, Mack S Eds. *Principles of Neural Science*, 5<sup>th</sup> ed., New York, NY: McGraw-Hill; 2012. 1389-1400.
- 8- Hussain AM, Khan FA, Ahmed A, Chawla T, Azam SI. Effect of gender on pain perception and analgesic consumption in laparoscopic cholecystectomy: An observational study. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol.* 2013 Ju-Sep; 29(3): 337-41.
- 9- Palmeira CC, Ashmawi HA, Posso Ide P. Sex and pain perception and analgesia. *Rev Bras Anesthesiol.* 2011 Nov-Dec; 61(6): 814-28.
- 10- Fillingim RB1, King CD, Ribeiro-Dasilva MC, Rahim-Williams B, Riley JL. Sex, gender, and pain: a review of recent clinical and experimental findings. *J Pain.* 2009 May; 10(5): 447-85.
- 11- Yousofvand N, Khani S, Nasri S. The Effects of Testosterone and Gonadectomy Conditions on Nociception and Their Effect on Morphine-Induced Analgesia in Male Mice, Using the formalin test. *Armaghane- danesh.* 2010; 15(3): 212-23. [Full text in Persian]
- 12- Karram T, Abbasi A, Keidar S, Golomb E, Hochberg I, Winaver J, et al. Effects of spironolactone and eprosartan on cardiac remodeling and angiotensin-converting enzyme isoforms in rats with experimental heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005 Oct; 289(4): 1351-81.
- 13- Sembulingam K, Sembulingam P. *Essential of Medical Physiology*, 2<sup>nd</sup> ed. New Delhi: Yadav, 2001: 7-254.
- 14- Hunskaar S, Hol K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non inflammatory pain. *Pain J.* 1997; 30: 103-14.
- 15- Dubuisson D, Dennis SF. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain.* 1997 Dec; 4(2): 161-74.
- 16- Daroogari SH, Parandin R, Yousofvand N, Shakibaie D. The Antinociceptive Effects of Topical Clove Oil Using Formalin Test in Male Mice. *J Ardabil Univ Med Sci.* 2017 sum; 17(2): 252-60. [Full text in Persian]
- 17- Aloisi AM, Ceccarelli I, Fiorenzani P, Massafra C. Testosterone affects formalin-induced responses differently in male and female rats. *Neurosci Lett.* 2004 May; 361(1-3): 262-4.
- 18- Ceccarelli I, Fiorenzani P, Massafra C, Aloisi AM. Repeated nociceptive stimulation induces different behavioral and neuronal responses in intact and gonadectomized female rats. *Brain Res.* 2006 Aug; 1106(1): 142-9.

- 19- 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 opioid receptor. *Psychopharmacology*. 2000 Jul; 150: 430-42.
- 20- 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 Apr; 6(4): 261-74.
- 21- Riley JL, Robinson ME, Wise EA, Price DD. A meta-analytic review of pain perception across the menstrual cycle. *Pain*. 1999 Jun ; 81(3); 225-35.
- 22- Javan M, Ahmadiani A, Motamadi F, Kazemi B. Changes in G proteins genes expression in rat lumbar spinal cord support the inhibitory effect of chronic pain on the development of tolerance to morphine analgesia. *Neurosci Res*. 2005 Aug; 53(3): 250-56.
- 23- Boyer JS, Morgon MM, craft RM. Microinjection of morphine into the rostral ventromedial medulla produced greater antinociception in male compared to female rats. *Brain Res*. 1998 Jun; 796(1-2): 315-18.
- 24- Ali BH, Sharif Sh, Elkad A. Sex differences and the effect of gonadectomy on morphine-induced antinociception and dependence in rats and mice. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1995 May; 22(5): 342-44.
- 25- Candido J, Lutfy K, Billings B, Sierra V, Duttaroy A, Inturrisi CE. Effect of adrenal and sex hormones on opioid analgesia and opioid receptor regulation. *Pharmacol Biochem Behav*. 1992 Aug; 42(4): 685-92.
- 26- Loyd DR, Murphy AZ. The neuroanatomy of sexual dimorphism in opioid analgesia. *Exp Neurol*. 2014 Sep; 259: 57-63.
- 27- Serafini PC, Catalino J, Lobo RA. The effect of spironolactone on genital skin 5 alpha-reductase activity. *J Steroid Biochem*. 1985 Aug; 23(2): 191-4.
- 28- Hammer RP Jr, Zhou L, Cheung S. Gonadal steroid hormones and hypothalamic opioid circuitry. *Horm Behav*. 1994 Dec; 28(4): 431-37.
- 29- Keogh E, Herdenfeldt M. Gender, coping and the perception of pain. *Pain*. 2002 Jun; 97(3); 195-201.
- 30- Nestler EJ. Historical review: Molecular and cellular mechanisms of opiate and cocaine addiction. *Trends Pharmacol Sci*. 2004 Apr; 25(4): 210-8.
- 31- Vander Horst VG, Meij E, Schasfoort FC, Leeuwen FWV, Holstege G. Estrogen receptor-immunoreactive neurons in the lumbosacral Cord projection to the periaqueductal gray in the ovariectomized female cat. *Neurosci Lett*. 1997 Oct; 236(1): 25-8.
- 32- Meunier JC. Opioid Receptors, Tolerance and Dependence. *Therapie*. 1992 Nov; 47(6): 495-502.
- 33- McEwen BS. Invited review: Estrogens effects on the brain: multiple sites and molecular mechanisms. *Journal of applied physiology*. 2001 Dec 1;91(6):2785-801.
- 34- Carr BR. The effect of spironolactone on aromatase activity. *Fertil Steril*. 1986 May;45(5): 655-8.
- 35- Decker C, Sugiyama K, Underwood M, Correia MA. Inactivation of rat hepatic cytochrome P-450 by spironolactone. *Biochem Biophys Res Commun*. 1986 May; 136(3): 1162-9.
- 36- Abdel-Salam OME, Baiuomy AR, Nada SA. Effects of spironolactone on pain responses in mice. *EXCLI J*. 2010 Feb; 9: 46-57.
- 37- Geerling JC, Kawata M, Loewy AD. Aldosterone- sensitive neurons in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*. 2006 Jan; 494(3): 515-27.
- 38- Sonder SU, Mikkelsen M, Rieneck K, Hedegaard CJ, Bendtzen K. Effects of spironolactone on human blood mononuclear cells: mineralocorticoid receptor independent effects on gene expression and late apoptosis induction. *Br J Pharmacol*. 2006 May; 148(1): 46-53.
- 39- Hansen PR, Rieneck K, Bendtzen K. Spironolactone inhibits production of proinflammatory cytokines by human mononuclear cells. *Immunol Lett*. 2004 Feb ;91(2-3):87-91.