

ผลของภาวะพร่องซีโรโตนินและการอักเสบที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยสารเคมี
ต่อพฤติกรรมเจ็บปวดและการแสดงออกของตัวรับ 5-HT_{2A}
ในระบบประสาทส่วนกลางของ หนูขาว



นาย มารุต แก้ววงศ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสรีรวิทยา (สหสาขาวิชา)

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-53-1071-9

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I ๑๑17648๑

EFFECT OF SEROTONIN DEPLETION AND
CHEMICALLY-INDUCED INFLAMMATION ON
NOCICEPTIVE BEHAVIOR AND EXPRESSION OF
5-HT_{2A} RECEPTOR IN RAT CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Mr. Maroot Kaewwong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Physiology (Inter-department)
Graduate school
Chulalongkorn University
Academic year 2005
ISBN 974-53-1071-9

มารุต แก้ววงศ์: ผลของภาวะพร่องซีโรโดนินและการอักเสบที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยสารเคมี ต่อ พฤติกรรมเจ็บปวดและการแสดงออกของตัวรับ 5-HT_{2A} ในระบบประสาทส่วนกลางของ หนูขาว (EFFECT OF SEROTONIN DEPLETION AND CHEMICALLY-INDUCED INFLAMMATION ON NOCICEPTIVE BEHAVIOR AND EXPRESSTION OF 5-HT_{2A} RECEPTOR IN RAT CENTRAL NERVOUS SYSTEM) อ.ที่ปรึกษา: ศ.นพ.อนันต์ ศรีเกียรติขจร; 175 หน้า ISBN 974-53-1071-9

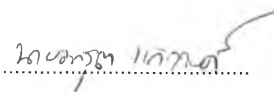
ความเป็นมา - ซีโรโดนิน (5-HT) เป็นสารสื่อประสาทที่สำคัญในวิถีความเจ็บปวด สารสื่อประสาทชนิดนี้ทำหน้าที่ปรับเปลี่ยน ความรับรู้สีกเจ็บปวดผ่านทางตัวรับที่หลากหลาย ตัวรับซีโรโดนินชนิด 2 เอ ยังมีบทบาทที่ขัดแย้งกันอยู่ บทบาทของตัวรับชนิดนี้ในพฤติกรรม ความเจ็บปวดและกระบวนการทำงานของสมองใหญ่ยังไม่เป็นที่แน่ชัด

วัตถุประสงค์ - การทดลองแรก ใช้หนูพันธุ์สวิสคาร์เพสคู (หนัก 200-300 กรัม) แบ่งเป็นกลุ่มที่ทำให้เกิดการอักเสบและกลุ่มควบคุม (กลุ่มละ 25 ตัว) การเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบทำโดยการฉีด complete Freund's Adjuvant (CFA) 0.05 มิลลิลิตร ฉีดเข้าที่ฝ่าเท้าขวาและให้น้ำเกลือในกลุ่มควบคุม หลังจากฉีดแล้วแบ่งหนูเป็น 5 กลุ่มย่อย (กลุ่มละ 5 ตัว) ทำการสังเกตพฤติกรรมความเจ็บปวดของหนูเมื่อเวลาผ่านไป 0 ชั่วโมง, 1, 3, 5 และ 7 วัน โดยทำการบันทึกวิดีโอเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำหนูมาทำการทดสอบความเจ็บปวดโดยใช้ความร้อนเหนี่ยวนำ จากนั้นทำการเก็บสมองมาศึกษาอิมมูโนฮิสโตเคมีของโปรตีน Fos หนูกลุ่ม 3 วันถูกเลือกมาศึกษาผลของคีดานเซอริน ซึ่งเป็นแอนตาโกนิสต์ต่อตัวรับซีโรโดนินชนิด 2เอ โดยให้ 0.3 มิลลิกรัมค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมเข้าทางช่องท้อง ก่อนที่จะทำการบันทึกวิดีโอ 1 ชั่วโมง เพื่อศึกษาพฤติกรรมของหนู หลังจากให้คีดานเซอรินครั้งแรก 4 ชั่วโมงทำการให้คีดานเซอรินอีกครั้ง เพื่อศึกษาการทดสอบความเจ็บปวดโดยใช้ความร้อนเหนี่ยวนำ แล้วทำการเก็บสมองเพื่อนำมาศึกษาการแสดงออกของโปรตีน Fos การทดลองที่ 2 ใช้หนูพันธุ์สวิสคาร์เพสคูแบ่งเป็นกลุ่มพร่องซีโรโดนิน และกลุ่มควบคุม (กลุ่มละ 25 ตัว) การเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะพร่องซีโรโดนินโดยการฉีด para-chlorophenylalanine (PCPA) 100 มิลลิกรัม ค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เข้าทางช่องท้อง หลังจากนั้น 3 วัน นำมาฉีดน้ำเกลือเข้าที่ฝ่าเท้าขวา จากนั้นทำแบบเป็น 5 กลุ่มย่อย แล้วทำการศึกษาโดยใช้กระบวนการวัดเช่นเดียวกับในการทดลองแรก บทบาทของตัวรับซีโรโดนินชนิด 2เอ ทำเช่นเดียวกับในการทดลองแรก

ผลการทดลอง - ในการทดลองแรก หนูแสดงพฤติกรรมความเจ็บปวด เช่น การลงน้ำหนักที่ไม่เท่ากันของเท้าทั้ง 2 ข้าง การยกเท้า การเลียแผลในด้านที่ทำให้เกิดการอักเสบในหนูที่ได้ CFA ตลอดเวลา 5 ช่วงที่ทำการศึกษา (575.7±273.0, 685.3±138.1, 136.3±81.6, 23.3±302, 18.5±37.0 วินาทีในช่วงเวลา 30 นาที ตามลำดับ) ในขณะที่หนูกลุ่มควบคุมไม่แสดงพฤติกรรมเหล่านี้เลย หนูทดลองมีระยะเวลาชักขาออกจาก การเหนี่ยวนำด้วยความร้อนเร็วขึ้นในขาข้างที่อักเสบ(4.5±0.7, 6.3±1.8, 5.3±1.3, 5.9±1.5, 8.9±1.8 วินาที ตามลำดับ p<0.05) และยังพบว่าการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของการแสดงออกของโปรตีน Fos ในวันที่ 3 ในเปลือกสมองส่วนรับรู้สีกทั้งด้านตรงข้ามกับที่อักเสบ และด้านที่อักเสบ (22±6, 24±12 เซลล์ต่อพื้นที่ ตามลำดับ p<0.05) พฤติกรรมความเจ็บปวดลดลงอย่างมากเมื่อให้คีดานเซอริน (5.6±12.52 วินาที, p<0.05) และให้ผลในการแอนตาโกนิสการอักเสบที่เกิดขึ้นจาก CFA (14.3±2.2 วินาที, p<0.05) ในการทดสอบความเจ็บปวดโดยใช้ความร้อนเหนี่ยวนำ และยังคงการแสดงผลของ Fos ในเปลือกสมองส่วนรับรู้สีกด้านตรงข้ามที่อักเสบได้ (7±2 เซลล์ต่อพื้นที่) ในขณะที่พบแนวโน้มการลดลงในด้าน เดียวกับที่อักเสบ (7±3 เซลล์ต่อพื้นที่) การทดลองที่ 2 พบว่าการให้ PCPA ขนาด 100 มิลลิกรัมค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่มีผลต่อพฤติกรรมของหนู) อย่างไรก็ตาม พบว่ามีผลการลดลงของเวลาในการชักขาออกในด้านที่ฉีดน้ำเกลือเฉพาะในวันที่ 1 (7.9±1.2 วินาที) และ 7 (6.8±1±8 วินาที) หลังจากฉีดน้ำเกลือ นอกจากนี้ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงจำนวน Fos โปรตีน ตลอดระยะเวลาทดลอง การให้คีดานเซอรินมีผลทำให้เพิ่มพฤติกรรม การพักผ่อนและนอนหลับมากขึ้นในหนูกลุ่มที่พร่องซีโรโดนินแต่ไม่มีผลต่อระยะเวลาการชักขาออกเมื่อเหนี่ยวนำความเจ็บปวดด้วยความร้อน และการแสดงออกของจำนวน Fos โปรตีน

สรุป- การค้นพบเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า ตัวรับซีโรโดนินชนิด 2เอ มีบทบาทในการเหนี่ยวนำให้เกิดความเจ็บปวดในภาวะที่มีการอักเสบเรื้อรัง และพบว่าในภาวะปกติตัวรับชนิดนี้มีบทบาทที่ไม่สำคัญในการปรับเปลี่ยนความรับรู้สีกเจ็บปวดที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยความร้อน

สาขาวิชา สรีรวิทยา

ลายมือชื่อนิติ..... 

ปีการศึกษา 2548

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... 

4589128020 : MAJOR PHYSIOLOGY

KEY WORD: 5-HT_{2A} RECEPTOR / c-FOS/ SEROTONIN / PAIN / NOCICEPTION

MAROOT KAEWWONG: EFFECT OF SEROTONIN DEPLETION AND CHEMICALLY-INDUCED INFLAMMATION ON NOCICEPTIVE BEHAVIOR AND EXPRESSION OF 5-HT_{2A} RECEPTOR IN RAT CENTRAL NERVOUS SYSTEM.

THESIS ADVISOR: PROF. ANAN SRIKIATKHACHORN, M.D. , 175 pp. ISBN 974-53-1071-9.

Background – Serotonin (5-HT) is important neurotransmitters in pain pathway. This transmitter modulates pain perception via its diversity of receptor. 5-HT_{2A} receptor has controversial roles in pain modulation. Its role in nociceptive behavior and cortical activity are still unclear.

Objectives – The proposed study aims at investigating (1) the role of 5-HT_{2A} receptor in chronic pain model as well as the development of chronic pain state (2) the effect of 5-HT depletion on the changes of pain sensation including role 5-HT_{2A} receptor as well.

Methods – This study separated into 2 parts. The First experiment, male Wistar rats were divided into inflammation and control group (25 rats each). The inflammation was induced by subcutaneous injection of complete Freund's Adjuvant (CFA, 0.05 ml) or saline into rats' right hind paw. After injection both groups were subdivided into 5 subgroups each (n=5). Rats were observed their behaviors at 0 hour, 1, 3, 5 and 7 days Then were evaluated thermal hyperalgesia by paw withdrawal test. After that rats were sacrificed and brains were removed for Fos immunohistochemical study. The day-3 group was selected to study the effect of ketanserin, a 5-HT_{2A} receptor antagonist. Ketanserin (0.3 mg/kg body-weight) was i.p. administered 1 hour prior to a 30-minute video recording the study their behavior. Four hours after the first injection, ketanserin was administered again to study its effect on thermal hyperalgesia. Rats were sacrificed for Fos immunohistochemical study. The second experiment, male Wistar rats were divided into 5-HT depletion and control group (25 rats each). The 5-HT depleted state was induced by i.p. injection of para-chlorophenylalanine (PCPA) 100 mg/kg body-weight. Three days after, rats were subcutaneous injection of saline into rats' right hind paw. Then subdivided into 5 subgroups each (n=5). After that rats were evaluated by 3 procedures as in the first experiment. The role of 5-HT_{2A} was performed by using ketanserin same as in the first experiment.

Results – In the first experiment, rats significantly expressed nociceptive behavior such as favoring, lifting and licking their injured paws in CFA group during 5 periods of observation (575.7±273.0, 685.3±138.1, 136.3±81.6, 23.3±30.2, 18.5±37.0 seconds in 30 minutes respectively) while rats in the control group did not express these behaviors. The paw withdrawal latency in the ipsilateral side significantly shorten from the control group (4.5±0.7, 6.3±1.8, 5.3±1.3, 5.9±1.5, 8.9±1.8 seconds respectively, p<0.05). It was found the significant increase in Fos protein expression in both contralateral and ipsilateral hemispheres of somatosensory cortex of the day-3 CFA group compared with in the control group (22±6, 24±12 positive cells/area, respectively, p<0.05). The nociceptive behavior was greatly reduced in the ketanserin treated group (5.6±12.52 seconds, p<0.05). Its effect was antagonized the CFA-induced inflammation (14.3±2.2 seconds, p<0.05) in paw withdrawal measurement. It was also reduced Fos expression in the contralateral side (7±2 positive cells) while it was found the trend of reduction in the ipsilateral side (7±3 positive cells) In the second experiment, it was found that PCPA in the single dose of 100mg/kg-body-weight did not alter the spontaneous behaviors of the rats. However, it was shorten the withdrawal latency in the ipsilateral side only day-0 (7.9±1.2 seconds) and day-7 (6.8±1.8) groups. More over, it was not found the alteration of the number of Fos protein expression in the PCPA group during 5 periods of the experiment. The application of ketanserin caused the incretion of the rest or sleep behavior in 5-HT depletion rats. Thus, it did not affect the withdrawal latency or the expression of Fos.

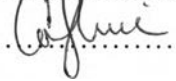
Conclusion – Theses findings indicate that 5-HT_{2A} receptor facilitates pain in chronic chemical nociception and this receptor does not play a primary role in modulating the thermal-hyperalgesia in normal condition.

Department Inter-department

Field of studyPhysiology....

Academic year 2548

Student's signature..........

Advisor's signature..........

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to express my gratitude and appreciation to my kind advisor, Professor Dr. Anan Srikiatkachorn, for his greatly valuable instruction, encouragement and all support during the very long working process, which enable me to carry out this study. I will always remember and miss his kindness.

I would like to express my gratitude to Dr. Supang Maneesri Le Grand for training me about immunohistochemical technique, cheerfulness, the helpful advises and all mind support. You know? You are not only my great teacher but also my very special sister. She will always remain deeply in my heart.

I would like to give a very special vote to thank to Mr. Weera Suprongsinchai for his valuable helps, cheerfulness, understanding and everything he had done for me. Thank you from the bottom of my heart.

I also would like to give a very special thank to Mr. Borwornwong Tan-ariya, Mr. Amornchai Chalcharoenwattana, Mr. Prachaya Prachsanpech, Miss Wanipa Chawangsaksongkram for their cheerfulness, all mind supports. They are always being with me whenever I was happy or sad. Thank god we met each other, my friends.

I would like to give a special thank to Miss Pattarin Sridulyakul, Miss Ratsamee Prabjone, Mr. Perter Le Grand, Miss Kallaya Eimlumnam, Miss Apitchaya Pongsukwatchakul for everything that had done for me.

I wish to express my sincere thanks to my entire teacher at inter-department of Physiology, Chulalongkorn University who are not mentioned here for all their loving helps during the time I was studying.

My appreciations are also devoted to my dear mother and sister for their love, kindness and support my mind throughout this study. You always stand by me side. I'm so proud to be your son. I really love you Mom.

TABLE OF CONTENTS

	PAGE
Abstract (Thai)	iv
Abstract (English)	v
Acknowledgement	vi
Table of Contents	vii
List of Tables.....	xi
List of Figures	xiv
CHAPTER I INTRODUCTION	1
CHAPTER II REVIEW LITTERATURE	4
Physiological Concept of Pain Mechanism.....	4
Peripheral Mechanism.....	4
Central Mechanisms	9
Central Mechanisms of Nociceptive Transmission.....	9
Central Nervous System Mechanism of Pain Modulation..	11
Serotonin.....	12
Serotonin Synthesis and Metabolism	12
The Role of serotonin in Pain.....	15
Serotonin Depletion and Painful Syndrome.....	16
The Technique to Deplete Serotonin Level in This Study	17
Effects of para-chlorophenyenylalanine (PCPA).....	17
5-HT _{2A} Receptor	19
5-HT _{2A} Receptor Structure	20
5-HT _{2A} Receptor Distribution.....	21
5-HT _{2A} Receptor Pharmacology	25
Functional Effects Mediated via The 5-HT _{2A} Receptor	26
Second Messenger Responses.....	26
Electrophysiological Responses.....	27

	PAGE
Behavioral Studies of 5-HT _{2A} Receptor in Pain	34
Inflammatory Pain Models.....	34
Neuropathic Pain Models.....	37
Behavioral Models of Nociception.....	39
The Test Based on the Short-duration Stimuli.....	40
The Test Based on the Long-duration Stimuli	43
c-fos as an Indicator of Neuronal Activity	46
CHAPTER III MATERIALS AND METHODS	49
ANIMALS	49
CHEMICALS	49
1. Animal Preparations.....	49
2. Drugs	49
3. Immunohistochemical Study.....	50
METHODS	51
EXPERIMENTAL ANIMALS	51
EXPERIMENT 1 To study the role of 5-HT _{2A} receptor in chronic pain model and the development of chronic pain state.....	53
EXPERIMENT 1.1 To study the effect of CFA-induced inflammation on rats' behaviors and Fos protein expression.....	53
EXPERIMENT 1.2 To study the role of 5-HT _{2A} receptor in chronic pain model by using behavioral assessment and Fos protein expression	55
EXPERIMENT 2 To study the role of 5-HT _{2A} receptor in 5-HT depleted state on the changes of pain sensation	57

PAGE

EXPERIMENT 2.1 To study the effect PCPA-induced 5-HT depletion on rats' behaviors and Fos protein expression	57
EXPERIMENT 2.2 To study the role of 5-HT _{2A} receptor in 5-HT depleted state by using behavioral assessment and Fos protein expression	59
Induction of Serotonin depleted state	61
Induction of Inflammation	61
Preparation of Ketanserin	61
Nociceptive Behavioral Study	62
Observed Behavioral Study.....	62
Paw Withdrawal Test.....	64
Immunohistochemical Study	66
Perfusion and Tissue Preparation.....	66
The Brain-cut Procedure	66
Immunohistochemical Procedure for Fos Protein Expressions.....	67
Data Collection	68
Data Analysis	69
 CHAPTER IV RESULTS	 70
1. The role of the 5-HT _{2A} receptor in the chronic pain model and the development of chronic pain state	71
1.1 The effect of CFA-induced inflammation on rats' behaviors and Fos protein expression	71

	PAGE
1.2 The role of 5-HT _{2A} receptor in chronic pain model by using behavioral assessment and Fos protein expression	94
1.2.1 Effect of ketanserin on rats' behavior and Fos protein expression of the control group.....	94
1.2.2 Effect of ketanserin on rats' behavior and Fos protein expression in CFA-induced peripheral inflammation.....	102
2. The role of the 5-HT _{2A} receptor in 5-HT depleted state on the changes of pain sensation	110
2.1 The effect of PCPA-induced 5-HT depletion on rats' behaviors and Fos protein expression	110
2.2 The role of the 5-HT _{2A} receptor in 5-HT depleted state by using behavioral assessment and Fos protein expression	129
 CHAPTER V DISCUSSION	 137
1. The role of the 5-HT _{2A} receptor in chronic pain model and the development of the chronic pain state.....	138
2. The role of 5-HT _{2A} receptor in 5-HT depleted state on the changes of pain sensation	141
 CHAPTER VI CONCLUSION	 143
REFERENCES.....	145
BIOGRAPHY	175

LIST OF TABLES

	PAGE
Table [2-1] Affinity (pKi) of various ligands for 5-HT ₂ receptors	32
Table [2-2] Summary of the functional responses associated with activation of the brain 5-HT _{2A} receptor	33
Table [4-1] The nociceptive behaviors of the rats in the control group compared with the CFA-induced peripheral inflammation group	74
Table [4-2] The non-nociceptive behaviors of the rats in the control group compare with the CFA-induced peripheral inflammation group	76
Table [4-3] The still but alert behaviors of the rats in the control group compared with the CFA-induced peripheral inflammation group	78
Table [4-4] The rest or sleep behaviors of the rats in the control group compared with the CFA-induced peripheral inflammation group	80
Table [4-5] The paw withdrawal latency in contralateral side of the CFA-induced peripheral inflammation compare with the control group	82
Table [4-6] The paw withdrawal latency in ipsilateral side of the CFA-induced peripheral inflammation compared with the control group	84
Table [4-7] The number of Fos-IR neurons in contralateral side of the CFA-induced peripheral inflammation in somato sensory cortex compared with the control group	86

PAGE

Table [4-8] The number of Fos-IR neurons in ipsilateral side of the CFA-induced peripheral inflammation in somato sensory cortex compared with the control group	88
Table [4-9] The effect of Ketanserin on observed behaviors of the rats .	95
Table [4-10] The effect of Ketanserin on paw withdrawal latency	97
Table [4-11] The effect of Ketanserin on Fos positive cells	99
Table [4-12] The effect of ketanserin on behaviors of the rats in the control group and the CFA-induced peripheral inflammation group	103
Table [4-13] The effect of ketanserin on paw withdrawal latency of the CFA-induced peripheral inflammation group compared with the CFA alone group.	105
Table [4-14] The effect of ketanserin on the number of Fos positive cells of the CFA-induced peripheral inflammation group compared with the CFA alone group	107
Table [4-15] The non-nociceptive behaviors of the rats in the control group compared with the PCPA-induced 5-HT depleted group	113
Table [4-16] The still but alert behaviors of the rats in the control group compared with the PCPA-induced 5-HT depleted group	115
Table [4-17] The rest or sleep behaviors of the rats in the control group compared with the PCPA-induced 5-HT depleted group	117

PAGE

Table [4-18] The paw withdrawal latency in contralateral side of the PCPA-induced 5-HT depletion compared with the control groups	119
Table [4-19] The paw withdrawal latency in ipsilateral side of the PCPA-induced 5-HT depletion compared with the control groups.....	121
Table [4-20] The number of Fos positive cells in contralateral side of the PCPA-induced 5-HT depletion in somatosensory cortex compared with the control group	123
Table [4-21] The number of Fos positive cells in ipsilateral side of the PCPA-induced 5-HT depletion in somatosensory cortex compared with the control group	125
Table [4-22] The effect of ketanserin on behaviors of the rats in the control group compared with the PCPA-induced 5-HT depletion group	130
Table [4-23] The effect of ketanserin on paw withdrawal latency of the PCPA-induced 5-HT depletion compared with the control group	132
Table [4-24] The effect of ketanserin on the number of Fos positive cells of the PCPA-induced 5-HT depletion compared with the control group	134

LIST OF FIGURES

	PAGE
Figure [2-1] Chemical structure of 5-hydroxytryptamine (5-HT).....	13
Figure [2-2] Biosynthesis of 5-hydroxytryptamine (5-HT)	14
Figure [2-3] The expression of 5-HT _{2A} receptor mRNA in rats' spinal cord (L4-L5) 3 hours after carrageenan injection to the rats' hind paw	22
Figure [2-4] The expression of 5-HT _{2A} receptor mRNA in rats' ipsilateral nucleus raphe magnus 3 hours after carrageenan injection to the rats' hind paw.....	23
Figure [2-5] The expression of 5-HT _{2A} receptor mRNA in rats' ventrolateral periaqueductal gray 3 hours after carrageenan injection to the rats' hind paw	23
Figure [2-6] The expression of 5-HT _{2A} receptor mRNA in rats' bilateral dorsal raphe nucleus 3 hours after carrageenan injection to the rats' hind paw	24
Figure [2-7] The effect of 5-HT _{2A} agonist (DOI) or antagonist (Ketanserin) on favoring and lifting behaviors in formalin test.....	35
Figure [2-8] The effect of 5-HT _{2A} receptor antagonist, Sarpogrelate HCl, on thermal hyperalgesia using the paw withdrawal test after CFA-induced peripheral inflammation	36
Figure [2-9] The effect of DOI, 5-HT _{2A} agonist on mechanical threshold in Von Frey hair test after the chronic nerve ligation.....	37

Figure [2-10] The effect of Sarpogrelate HCl, 5-HT _{2A} antagonist on the thermal hyperalgesia using paw withdrawal test after the chronic constriction injury model.....	38
Figure [2-11] Diagrammatic representation of the activity evoked in cutaneous receptors by different temperatures applied to the skin	41
Figure [3-1] To study the effect of CFA-induced inflammation on rats' behaviors and Fos protein expression	54
Figure [3-2] To study the role of 5-HT _{2A} receptor in chronic pain model by using behavioral assessment and Fos protein expression.....	56
Figure [3-3] To study the effect PCPA-induced 5-HT depletion on rats' behaviors and Fos protein expression	58
Figure [3-4] To study effect of 5-HT _{2A} receptor antagonist, ketanserin on observed behaviors in 5-HT depleted state and Fos expression	60
Figure [3-5] The observation chamber	63
Figure [3-6] The tail flick unit	65
Figure [4-1] Bar graph showing the mean value \pm SD of nociceptive behaviors of the rats in the control group compared with the CFA-induced peripheral inflammation group	75
Figure [4-2] Bar graph showing the mean value \pm SD of non-nociceptive behaviors of the rats in the control group compared with the CFA-induced peripheral inflammation group	77

Figure [4-3] Bar graph showing the mean value \pm SD of still but alert behaviors of the rats in the control group compared with the CFA-induced peripheral inflammation group	79
Figure [4-4] Bar graph showing the mean value \pm SD of rest or sleep behaviors of the rats in the control group compared with the CFA-induced peripheral inflammation group	81
Figure [4-5] Bar graph showing the mean value \pm SD of paw withdrawal latency of the rats in the control group, contralateral side, compared with the CFA-induced peripheral inflammation group.....	83
Figure [4-6] Bar graph showing the mean value \pm SD of paw withdrawal latency in ipsilateral side of the rats in the control group compared with the CFA-induced peripheral inflammation group	85
Figure [4-7] Bar graph showing the mean value \pm SD of number of Fos-IR neurons in contralateral side of the rats in the control group compared with the CFA-induced peripheral inflammation group	87
Figure [4-8] Bar graph showing the mean value \pm SD of number of Fos-IR neurons in ipsilateral side of the rats in the control group compared with the CFA-induced peripheral inflammation group	89
Figure [4-9] The pictures showing the expression of Fos-IR neurons in contralateral and ipsilateral side of somatosensory cortex the control group in Day 0-Day 3	90

Figure [4-10] The pictures showing the expression of Fos-IR neurons in contralateral and ipsilateral side of somatosensory cortex the control group in Day 5-Day 7	91
Figure [4-11] The pictures showing the expression of Fos-IR neurons in contralateral and ipsilateral side of somatosensory cortex the CFA group in Day 0-Day 3	92
Figure [4-12] The pictures showing the expression of Fos-IR neurons in contralateral and ipsilateral side of somatosensory cortex the CFA group in Day 5-Day 7	93
Figure [4-13] Bar graph showing the mean value \pm SD of observed behaviors of the rats in the control group compared with the ketanserin treated group	96
Figure [4-14] Bar graph showing the mean value \pm SD of paw withdrawal latency of the rats in the control group compared with the ketanserin treated group	98
Figure [4-15] Bar graph showing the mean value \pm SD of the number of Fos-IR neurons of the rats in the control group compared with the ketanserin treated group	100
Figure [4-16] The pictures showing the expression of Fos-IR neurons in contralateral and ipsilateral side of somatosensory cortex the control group and the control with ketanserin treated group	101
Figure [4-17] Bar graph showing the mean value \pm SD of observed behaviors of the rats in the CFA-induced inflammation group compared with the ketanserin treated group	104

PAGE

Figure [4-18] Bar graph showing the mean value \pm SD of paw withdrawal latency of the rats in the CFA-induced inflammation group compared with the ketanserin treated group	106
Figure [4-19] Bar graph showing the mean value \pm SD of number of the number of Fos-IR positive cells of the rats in CFA-induced inflammation group compare, with ketanserin treated group.....	108
Figure [4-20] The pictures showing the expression of Fos-IR neurons in contralateral and ipsilateral side of somatosensory cortex in the CFA group and the CFA with ketanserin treated group.....	109
Figure [4-21] Bar graph showing the mean value \pm SD of non-nociceptive behaviors of the rats in the control group compared with the PCPA-induced 5-HT depletion group	114
Figure [4-22] Bar graph showing the mean value \pm SD of still but alert behaviors of the rats in the control group compared with the PCPA-induced 5-HT depletion group	116
Figure [4-23] Bar graph showing the mean value \pm SD of the rest or sleep behaviors of the rats in the control group compared with the PCPA-induced 5-HT depletion group	118
Figure [4-24] Bar graph showing the mean value \pm SD of the paw withdrawal latency in contralateral side of the rats in the control group compared with the PCPA-induced 5-HT depletion group	120

Figure [4-25] Bar graph showing the mean value \pm SD of paw withdrawal latency in ipsilateral side of the rats in the control group compared with the PCPA-induced 5-HT depletion group	122
Figure [4-26] Bar graph showing the mean value \pm SD of the number of Fos-IR neurons in contralateral side of the rats in the control group compared with the PCPA-induced 5-HT depletion group	124
Figure [4-27] Bar graph showing the mean value \pm SD of the number of Fos-IR neurons in ipsilateral side of the rats in the control group compared with the PCPA-induced 5-HT depletion group	126
Figure [4-28] The pictures showing the expression of Fos-IR neurons in contralateral and ipsilateral side of somatosensory cortex the PCPA group in Day 0-Day 3	127
Figure [4-29] The pictures showing the expression of Fos-IR neurons in contralateral and ipsilateral side of somatosensory cortex the PCPA group in Day 5-Day 7	128
Figure [4-30] Bar graph showing the mean value \pm SD of the observed behaviors of the rats in the 5-HT depletion group compare, with ketanserin treated group	131
Figure [4-31] Bar graph showing the mean value \pm SD of the paw withdrawal latency of the rats in the 5-HT depletion group compared with the ketanserin treated group	133

PAGE

Figure [4-32] Bar graph showing the mean value \pm SD of the number of Fos-IR neurons of the rats in the 5-HT depletion group compared with the ketanserin treated group	135
Figure [4-33] The pictures showing the expression of Fos-IR neurons in contralateral and ipsilateral side of somatosensory cortex in the PCPA group and the PCPA with ketanserin treated group.....	136