

اثرات مورفین سولفات بر سطح گلوتامات هیپوتالاموسی و غلظت سرمی هورمون LH در موش‌های صحرایی نر

- مهری باقری‌پور*: دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم زیستی، ایران، تهران
- همایون خزعلی: دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم زیستی، ایران، تهران
- فریبا محمودی: دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، ایران، اردبیل
- کیواندخت سمیعی: دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم زیستی، ایران، تهران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۶

چکیده

مورفین از طریق تاثیر بر فعالیت مسیرهای نورونی واسطه‌ای مختلف داخل هیپوتالاموسی اثرات مهاري بر ترشح هورمون LH اعمال می‌کند. در تحقیق حاضر، اثرات مورفین سولفات بر ترشح LH از طریق مسیر گلوتاماترژیک در موش‌های صحرایی نر بررسی گردید. بیست موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم در چهار گروه (در هر گروه $n=5$) قرار گرفته، گروه‌های ۱ و ۲ سالین و گروه‌های ۳ و ۴ یک میکروگرم مورفین را از طریق تزریق درون بطني مغزی دریافت کردند. در گروه‌های ۱ و ۳ نمونه‌های خونی قبل از تزریق و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق سالین یا مورفین جمع‌آوری و نمونه‌های هیپوتالاموسی جدا گردید. در گروه‌های ۲ و ۴ نمونه‌های خونی قبل از تزریق و ۶۰ دقیقه بعد از تزریق سالین یا مورفین جمع‌آوری و نمونه‌های هیپوتالاموسی جدا گردید. غلظت سرمی هورمون LH با روش رادیوایمونواسی (RIA) و سطوح گلوتامات هیپوتالاموسی با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) اندازه‌گیری شد. مورفین میانگین غلظت سرمی LH را در ۳۰ یا ۶۰ دقیقه بعد از تزریق در مقایسه با قبل از تزریق کاهش داد که این میزان کاهش تنها در گروه ۶۰ دقیقه از نظر آماری معنی‌دار بود. همچنین، با تزریق مورفین میانگین غلظت گلوتامات هیپوتالاموس در ۳۰ دقیقه بعد از تزریق در مقایسه با گروه ۳۰ دقیقه بعد از تزریق سالین از نظر آماری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. کاهش فعالیت نورون‌های گلوتاماتی هیپوتالاموس ممکن است در مسیرهای عصبی کنترل‌کننده اثرات مورفین بر ترشح LH دخالت داشته باشد.

کلمات کلیدی: مورفین، گلوتامات، LH، هیپوتالاموس



مقدمه

نوروپپتیدها و نوروترانسمیترهای مختلفی بر روی ترشح هورمون های GnRH و LH اثر می گذارند. یکی از این نوروپپتیدها اوپیوئیدها می باشند. پپتیدهای اوپیوئیدی درون زا در دستگاه عصبی مرکزی از مهم ترین پپتیدهای مهارى مدار عصبى هیپوتالاموسی کنترل کننده آزادسازی GnRH/LH هستند. هورمون GnRH توسط سلول های عصبی-ترشحی GnRH (نورون های GnRH) در هیپوتالاموس سنتز شده و از انتهای آکسونی این نورون ها به درون عروق خونی سیستم پورتال هیپوفیزی واقع در ناحیه برجستگی میانی آزاد می شود. در پاسخ به ترشح GnRH، سلول های هیپوفیز قدامی هورمون لوتئینی (LH) را ترشح می کنند. آگونیست گیرنده پپتیدهای اوپیوئیدی نظیر مورفین آزادسازی GnRH/LH را مهار و سطح پلاسمایی LH را کاهش می دهند (Fayez و همکاران، ۱۹۹۱؛ He و همکاران، ۲۰۰۰؛ Ceccarelli و همکاران، ۲۰۰۶). با وجود غالب بودن اثرات مرکزی اپیوئیدها در سرکوب فعالیت محور تولیدمثلی در انسان و سایر گونه های جانوری، گزارش بسیار اندکی درباره اثرات مستقیم پپتیدهای اپیوئیدی بر آزادسازی GnRH وجود دارد و اکثر مطالعات نشان داده اند که پپتیدهای اپیوئیدی اثرات مهارى خود بر آزادسازی GnRH/LH را به طور غیرمستقیم و از طریق تاثیر بر میزان فعالیت نورون های واسطه ای دستگاه عصبی مرکزی اعمال می کنند (Pages و همکاران، ۱۹۹۱؛ Gurjinder و Gurcharan، ۲۰۰۱؛ Mahmoudi و همکاران، ۲۰۱۴). مورفین و سایر اوپیات ها می توانند قسمت های مختلف مغز را تحت تاثیر قرار دهند (Beltran-Campos و همکاران، ۲۰۱۵). یکی از نوروترانسمیترهای تحریکی مؤثر بر ترشح GnRH، گلوتامات می باشد. گلوتامات نوروترانسمیتری است که از طریق تأثیرات مرکزی و محیطی، بر تنظیم ترشح هورمون ها اثر می گذارد (Jezova و Schwendt، ۲۰۰۱). تحقیقات پیشین نشان داده است که تزریق مورفین در موش ها باعث افزایش قابل توجه ترشح گلوتامات در ناحیه خاکستری دور قناتی و ساختار مشبک مغز میانی می گردد (Sherman و Gebhart، ۱۹۷۶) و مصرف مکرر مورفین باعث کاهش تعداد گیرنده های گلوتامات در قشر پیشانی می گردد (Bartosch و Grzegorz، ۲۰۰۹). با توجه به این که مکانیسم عمل اثرات مورفین بر روی کاهش GnRH/LH از طریق گلوتامات مشخص نمی باشد، هدف از این پژوهش بررسی اثرات مورفین بر ترشح LH از طریق فعالیت نورون های گلوتاماتی می باشد.

مواد و روش ها

حيوانات آزمایشگاهی: در این تحقیق از ۲۰ موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم (خریداری شده از

دانشگاه شهید بهشتی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب) استفاده شد. موش های صحرایی قبل از جراحی به صورت گروهی و بعد از جراحی در قفس های جدا، در اتاق پرورش حیوانات با شرایط استاندارد (درجه حرارت کنترل شده 22 ± 2 درجه سانتی گراد و دوره های تاریکی و روشنایی ۱۲ ساعته با شروع روشنایی در ساعت ۷ صبح) نگهداری شدند. حیوانات در تمام مدت آزمایش به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند. آزمایش ها با تایید دانشگاه شهید بهشتی با توجه به راهنمای استفاده و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی منتشر شده توسط انستیتیوی ملی سلامت ایالات متحده آمریکا انجام گرفت و از هر حیوان تنها یک بار استفاده شد (No Publications NIH. 1996 revised 23-80). بیست موش صحرایی در ۴ گروه (در هر گروه $n=5$) سالیین یا یک میکروگرم مورفین را از طریق بطن سوم مغزی دریافت کردند.

مرحله کانول گذاری داخل بطن مغزی (ICV): با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین و زایلین (80 mg/kg BW و 80 mg/kg BW) حیوانات بی هوش شدند. کانول ساخته شده از سرسوزن gauge ۲۲ در مختصات بطن سوم براساس اطلس پاکسینوس و واتسون (AP=-2.3, ML=0.0, DV=6.5) تثبیت گردید (Mahmoudi و همکاران، ۲۰۱۴). حیوانات به منظور بهبودی، به مدت یک هفته در قفس انفرادی تحت مراقبت قرار گرفتند. برای تزریق داخل بطن سوم مغزی، سرنگ هامیلتون مورد استفاده قرار گرفت که توسط لوله رابط پلی اتیلنی ۲۰ به سر سرنگ دندانپزشکی gauge ۲۷ متصل شده بود. با استفاده از سرنگ هامیلتون و سر سوزن دندانپزشکی gauge ۲۷ سه میکرولیتر از محلول ماده مورد نظر برداشته شد و از طریق کانول به بطن سوم مغزی حیوان در مدت ۳۰ ثانیه و به آرامی تزریق گردید. آزمایش در ساعت ۹ تا ۱۰ صبح صورت گرفت.

جمع آوری نمونه های خونی و سنجش هورمون LH سرمی: خونگیری از ورید دم قبل از تزریق و در ۳۰ یا ۶۰ دقیقه بعد از تزریق سالیین یا مورفین (یک میکروگرم) در ساعت ۹ الی ۱۰ صبح انجام گرفت. سرم نمونه های خونی با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۲۰ دقیقه و با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه جدا شدند و تا هنگام اندازه گیری هورمونی در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. میانگین غلظت سرمی هورمون LH با استفاده از روش رادیوایمونواسی با استفاده از دستگاه گاما کانتر بر طبق دستورالعمل کیت سنجش هورمون LH ویژه موش صحرایی (Institute of Isotope CO, LTD, Hungry) اندازه گیری شد و برای تجزیه و تحلیل آماری مورد استفاده قرار گرفت.

جداسازی نمونه های هیپوتالاموسی: با شکافت جمجمه مغز حیوانات خارج شد. سطح شکمی مغز به سمت بالا قرار گرفته و برشی به ضخامت ۴ میلی متر حاوی هیپوتالاموس (در جلو از مجاورت کیاسمای



تجزیه و تحلیل آماری: برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SPSS (version 16) استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون T-test جفت شده و T-test جفت نشده آنالیز شدند. در تمام آنالیزهای آماری نتایج حاصل به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار از میانگین ارائه شدند. نتایج با $P \leq 0.05$ معنی‌دار گزارش شدند. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excell ۲۰۰۷ رسم گردید.

نتایج

در گروه‌های دریافت‌کننده سالین در سطح سرمی LH در ۳۰ یا ۶۰ دقیقه پس از تزریق نسبت به قبل تزریق تفاوتی مشاهده نگردید (شکل ۱). با تزریق یک میکروگرم مورفین میزان LH سرم در ۳۰ دقیقه پس از تزریق در مقایسه با قبل از تزریق با وجود کاهش ۱۷ درصدی معنی‌دار نشد. میزان LH سرم در ۶۰ دقیقه پس از تزریق در مقایسه با قبل از تزریق با کاهش ۲۸ درصدی معنی‌دار شد ($P \leq 0.05$). ولی تفاوت بین میزان LH سرم در ۶۰ دقیقه پس از تزریق مورفین در مقایسه با ۳۰ دقیقه پس از تزریق مورفین با وجود کاهش ۱۲ درصدی معنی‌دار نشد (شکل ۱).

نتایج حاصل از آنالیز داده‌های مربوط به سطح گلوتامات هیپوتالاموس در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده سالین نشان داد که میزان غلظت گلوتامات هیپوتالاموس در زمان ۶۰ دقیقه پس از تزریق سالین در مقایسه با زمان ۳۰ دقیقه بعد از تزریق سالین تفاوتی پیدا نکرد (شکل ۲). در گروه ۳۰ دقیقه پس از تزریق یک میکروگرم مورفین نسبت به گروه تزریق ۳۰ دقیقه سالین، سطح گلوتامات هیپوتالاموس از نظر آماری کاهش معنی‌داری نشان داد. به‌طوری‌که سطح گلوتامات در آن‌ها ۲۲ درصد نسبت به گروه سالین کمتر بود ($P \leq 0.05$). در گروه ۶۰ دقیقه پس از تزریق مورفین در مقایسه با گروه ۶۰ دقیقه بعد از تزریق سالین کاهش معنی‌داری در سطوح گلوتامات هیپوتالاموس در موش‌های صحرایی گروه ۶۰ دقیقه پس از تزریق مورفین نسبت به گروه ۳۰ دقیقه پس از تزریق مورفین افزایش معنی‌داری مشاهده گردید ($P \leq 0.05$) به‌طوری‌که سطح گلوتامات در ۶۰ دقیقه پس از تزریق مورفین ۲۷ درصد بیش‌تر از گروه ۳۰ دقیقه پس از تزریق مورفین بود (شکل ۲).

بینایی، از پشت تا مجاورت دستگاه پستانی-تالاموسی و به‌طور جانبی تا شیار هیپوتالاموسی) تهیه گردید. هیپوتالاموس جدا شده بلافاصله درون نیتروژن مایع فریز شد و برای نگه‌داری تا زمان استخراج گلوتامات به فریزر با دمای -80°C درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

مرحله سنجش نمونه‌های مغزی: برای بررسی نوروترانسمیتر گلوتامات از روش کروماتوگرافی با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد. قبل از آماده‌سازی نمونه‌های مغزی، محلول‌های استاندارد اسید گلوتامیک، با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ($\mu\text{g/ml}$ یا PPM) تهیه شده، به دستگاه HPLC تزریق شدند و منحنی کالبراسیون آن‌ها رسم گردید. نمونه‌های هیپوتالاموسی، مرحله به مرحله از حالت انجماد خارج شدند، به‌طوری‌که ابتدا از فریزر -80°C به -20°C درجه سانتی‌گراد منتقل و بعد از مدتی به یخچال 4°C انتقال یافتند. سپس برای انتقال به محل هموژناسیون داخل حمام یخ قرار گرفتند. نمونه‌ها، قبل از هموژناسیون وزن شده و در ۱۰ حجم حلال مخصوص استخراج عصاره مغزی قرار گرفتند. حلال مذکور شامل پرکلریک اسید ۰/۴ مولار به همراه ۰/۱٪ متابی سولفیت و ۰/۱٪ EDTA بود. نمونه‌ها با استفاده از دستگاه هموژنایزر هموژن شدند. پس از آن در دمای 4°C درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۵۰۰۰g سانتریفیوژ شدند. سپس مایع شفاف رویی برای تزریق به دستگاه جدا گردید (Mustafa و همکاران، ۲۰۱۴).

از دستگاه HPLC مدل KNAUER ساخت کشور آلمان در این تحقیق استفاده شد. سیستم شامل یک هماهنگ‌کننده ۵۰۰، یک پمپ چهار واحدی ۱۰۰۰، یک دتکتور UV ۲۸۰۰ و یک نمونه‌گیر دستی با لوپ تزریق ۲۰ μl بود که به‌وسیله نرم‌افزار کروم گیت کنترل می‌شد. ستون آنالیز استفاده شده نوع Eurospher C18 (250×4) میلی‌متر با اندازه ذرات ۵ میکرومتری) از جنس سیلیکا با فاز معکوس در دمای 35°C درجه سانتی‌گراد بود (Mustafa و همکاران، ۲۰۱۴). برای جدایی کروماتوگرافیک، فاز متحرک A از ۱۰٪ آب، ۴۵٪ متانول و ۴۵٪ استونیتریل و فاز متحرک B بافر استات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار با $\text{pH} = 6.8$ انتخاب شدند. شدت جریان ۰/۶ میلی‌لیتر در دقیقه در نظر گرفته شد. ردیابی با طول موج ۲۵۴ نانومتر انجام شد. برای آماده‌سازی نمونه ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه را برداشته، ۱۰۰ میکرولیتر محلول مشتق ساز روی آن ریخته شد. پس از یک دقیقه ۱۰۰ میکرولیتر بافر بورات و ۱۰۰ میکرولیتر آب به آن اضافه گردیده، دو دقیقه بعد برای تزریق آماده بود. از هر نمونه پس از مشتق سازی ۲۰ میکرولیتر توسط سرنگ همیلتون به دستگاه تزریق شد و منحنی کروماتوگرافی توسط دستگاه ثبت گردید. میزان گلوتامات از مقایسه پیک‌های به‌دست آمده از نمونه‌ها با پیک‌های استاندارد محاسبه شد.



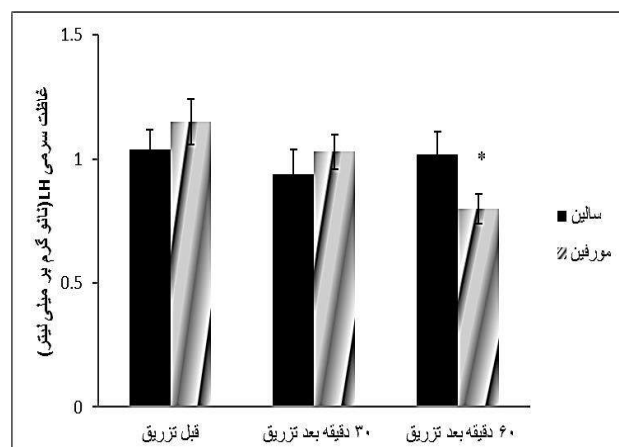
اوپیوئیدی نظیر مورفین از طریق گیرنده میو (μ) موجب مهار ترشح GnRH/LH می‌شوند. طبق نظر اکثر محققان، با وجود غالب بودن اثرات مرکزی اپیوئیدها در سرکوب فعالیت محور تولیدمثلی، پپتیدهای اپیوئیدی اثرات مهاری خود را بر آزادسازی GnRH/LH به‌طور غیرمستقیم و از طریق تاثیر بر میزان فعالیت نورون‌های رابط دستگاه عصبی مرکزی اعمال می‌کنند (Pages و همکاران، ۱۹۹۱؛ Gurjinder و Gurcharan، ۲۰۰۱؛ Mahmoudi و همکاران، ۲۰۱۴).

هم‌چنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تزریق مورفین، سبب کاهش سطح گلوتامات هیپوتالاموس در ۳۰ دقیقه پس از تزریق نسبت به سالین گردید. طبق تحقیقاتی که توسط Sherman و Gebhart (۱۹۷۶) انجام گرفت، تزریق مورفین در موش‌ها (mice) باعث افزایش قابل توجه ترشح گلوتامات در ناحیه خاکستری دور قناتی و ساختار مشبک مغز میانی شد. درحالی‌که در این تحقیق با تزریق مورفین در موش صحرایی نر کاهش گلوتامات هیپوتالاموس مشاهده گردید. در تزریق مورفین، سطح گلوتامات در موش‌هایی که ۳۰ دقیقه پس از تزریق هیپوتالاموس آن‌ها برداشته شده بود تفاوت معنی‌داری با گروهی ۶۰ دقیقه پس از تزریق داشتند.

هم‌چنین میانگین غلظت پلاسمایی LH نیز نسبت به قبل از تزریق کاهش داشت، اما این کاهش در ۳۰ دقیقه پس از تزریق از نظر آماری معنی‌دار نبود درحالی‌که در ۶۰ دقیقه پس از تزریق تفاوت معنی‌داری را نشان داد. این تفاوت زمان بین تغییر گلوتامات هیپوتالاموس و LH پلاسمای ممکن است به‌دلیل فاصله زمانی باشد که برای ترشح گلوتامات از هیپوتالاموس، اثرگذاری آن روی نورون‌های مترشح GnRH و ترشح GnRH، انتقال GnRH از هیپوتالاموس به هیپوفیز پیشین، ترشح LH از هیپوفیز پیشین و ورود آن به جریان خون در حدی که باعث تغییر سطح LH در خون گردد.

گزارش‌های محققان، وساطت گیرنده‌های NMDA گلوتامات را در اثرات ناشی از مورفین در سیستم اعصاب مرکزی ثابت کرده و نشان داد که گیرنده‌های اپیوئیدی و NMDA در اثرات مورفین بر بدن با یکدیگر همکاری دارند (Blasie و همکاران، ۲۰۱۰)، به‌طوری که در تایید این مسئله، تزریق آنتاگونیست‌های گیرنده NMDA سبب از بین رفتن اثرات ناشی از مورفین می‌شود (Tzschantke و Schmidit، ۲۰۰۰).

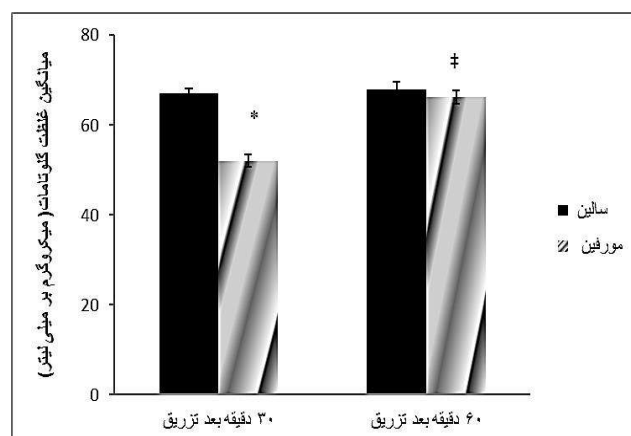
به‌طور خلاصه نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تزریق داخل بطن سوم مغزی یک میکروگرم مورفین در موش‌های صحرایی نر غلظت گلوتامات در هیپوتالاموس را نسبت به گروه سالین کاهش داد. بر اثر کاهش گلوتامات ممکن است فعالیت نورون‌های دخیل در ترشح GnRH کاهش یافته و منجر به کاهش ترشح GnRH



شکل ۱: میانگین سطح سرمی هورمون LH در موش‌های صحرایی

دریافت‌کننده سالین یا یک میکروگرم مورفین

تزریق در ساعت ۹-۱۰ صبح صورت گرفت. نمونه‌های خونی ۳۰ دقیقه قبل از تزریق، ۳۰ یا ۶۰ دقیقه پس از تزریق جمع‌آوری شدند. نتایج به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار از میانگین ارائه شده‌اند. در هر گروه $n=5$ و $P \leq 0.05$ معنی‌دار گزارش شده است. *: در مقایسه با قبل از تزریق مورفین.



شکل ۲: میانگین غلظت گلوتامات هیپوتالاموس در موش‌های صحرایی

نر دریافت‌کننده سالین یا یک میکروگرم مورفین

تزریق در ساعت ۹-۱۰ صبح صورت گرفت. نمونه‌های مغزی ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از تزریق جداسازی شدند. نتایج به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار از میانگین ارائه شده‌اند. در هر گروه $n=5$ و $P \leq 0.05$ معنی‌دار گزارش شده است. *: در مقایسه با گروه ۳۰ دقیقه بعد از تزریق سالین، #: در مقایسه با گروه ۳۰ دقیقه بعد از تزریق مورفین

بحث

نتایج حاصل از آنالیز داده‌های هورمونی نشان داد که مورفین، میانگین غلظت پلاسمایی LH را نسبت به قبل از تزریق کاهش داد. این یافته منطبق بر تحقیقات Favez و همکاران (۱۹۹۱)، He و همکاران (۲۰۰۰) و Ceccarelli و همکاران (۲۰۰۶) است که نشان دادند پپتیدهای



hormone neurons in immature female rats. *Brain Research*. Vol. 85, pp: 129-135.

۸. **Kreeger, J.S.; Yukhananov, A.A. and Larson, Y.R., 1955.** Altered N-Methyl-D- aspartate (NMDA) activity in the mouse spinal cord following morphine is mediated by sigma activity. *Brain Research*. Vol. 672, pp: 83-88.
۹. **Law, P.Y.; Wong, Y.H. and Loh, H.H., 2000.** Molecular mechanisms and regulation of opioid receptor signaling. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. Vol. 40, pp: 389-430.
۱۰. **Pages, N.; Orosco, M.; Fournier, G.; Rouch, C.; Hafi, A.; Gouch, A.; Comoy, E. and Bohuon, C., 1991.** The effects of chronic administration of morphine on the levels of brain and adrenal catecholamines and neuropeptide Y in rats. *General Pharmacology*. Vol. 22, pp: 943-947.
۱۱. **Mahmoudi, F.; Khazali, H. and Janahmadi, M., 2014.** Molecular interactions of kisspeptin/GPR54 signaling system and morphine on LH hormone secretion in wistar rats. *International Journal of Fertility and Sterility*. Vol. 8, No. 2, pp: 215-220.
۱۲. **Mustafa, S.; Hashim, W.; Khaliq, S. and Azizuddin Khan, R.A., 2014.** An improved high performance liquid chromatographic method for tryptophan analysis in rat brain administrated by seaweed. *Journal of Analytical and Bioanalytical Techniques*. Vol. 5, pp: 188.
۱۳. **Pasternak, G.W., 1993.** Pharmacological mechanisms of opioid analgesics. *Clinical Neuropharmacology*. Vol. 16, No. 1, pp: 1-18.
۱۴. **Mahmoudi, F.; Khazali, H. and Janahmadi, M., 2014.** Interactions of morphine and peptide 234 on mean plasma testosterone concentration. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*. Vol. 12, No. 1, pp: 1-5.
۱۵. **Schwendt, M. and Jezova, D., 2001.** Gene expression of NMDA receptor subunits in rat adrenals under basal and stress conditions. *Journal of Physiology and Pharmacology*. Vol. 52, No. 4, pp: 719-727.
۱۶. **Sherman, A.D. and Gebhart, G.F., 1976.** Morphine and pain: Effects on aspartate, gaba and glutamate in four discrete areas of mouse brain. *Brain Research*. Vol. 110, No. 2, pp: 273-281.
۱۷. **Silva-Moreno, A.; Gonzales-Espinosa, C.; Leon-Olea, M. and Cruz, S.L., 2012.** Synergistic antinociceptive actions and tolerance development produced by morphine-fentanyl coadministration: Correlation with μ -opioid receptor

هیپوتالاموس و در نتیجه کاهش ترشح LH از هیپوفیز پیشین و متعاقب آن کاهش غلظت سرمی LH گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بدین وسیله از همکاری پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی در کمک به انجام کارهای تکنیکی و جناب آقای دکتر عبدالکریم حسینی از دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی تشکر و قدردانی می نمایند.

منابع

۱. **Ahmad, I. and Pleuvry, B.J., 1955.** Interactions between opioid drugs and propofol in laboratory. Bartosz B, Grzegorz H (2009). Effects of morphine and methadone treatments on glutamatergic transmission in rat frontal cortex. *Pharmacological Reports*. Vol. 61, No. 6, pp: 1192-1197.
۲. **Beltran-Campos, V.; Silva-Vera, M.; García-Campos, M.L. and Díaz-Cintra, S., 2015.** Effects of morphine on brain plasticity. *Neurologia*. Vol. 30, No. 3, pp: 176-80.
۳. **Ceccarelli, I.; De Padova, A.M.; Fiorenzani, P.; Massafra, C. and Aloisi, A.M., 2006.** Single opioid administration modifies gonadal steroids in both the CNS and plasma of male rats. *Journal of Neuroscience*. Vol. 140, pp: 929-937.
۴. **Eyigor, O.; Centers, A. and Jennes, L., 2001.** Distribution of ionotropic glutamate receptor subunit mRNAs in the rat hypothalamus. *Journal of Comparative Neurology*. Vol. 434, pp: 101-124.
۵. **Fayez, M.; Ahmed, H.H.; el Nabarawy, F.; Shokery, I.M. and Bauomy, A.M., 1991.** Effects of butorphanol on luteinizing hormone and follicle stimulating hormone levels in ovariectomized rats comparative study with morphine sulphate. *Archive for Experimental Veterinary Medicine*. Vol. 45, pp: 101-103.
۶. **Gurjinder, K. and Gurcharan, K., 2001.** Role of cholinergic and GABAergic neurotransmission in the opioids-mediated GnRH release mechanism of EBP-primed OVX rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*. Vol. 219, pp: 13-19.
۷. **He, D.; Mitsushima, D.; Uemura, T.; Hirahara, F.; Funabashi, T.; Shinohara, K. and Kimura, F., 2000.** Effects of naloxone on the serum luteinizing hormone level and the number of Fos-positive gonadotropin-releasing



internalization. European Journal of Pharmacology. Vol. 674, No. 2-3, pp: 239-247.

۱۸. **Xu, B.; Sahu, A.; Kalra, P.S.; Crowley, W.R. and Kalra, S.P., 1996.** Disinhibition from opioid influence augments hypothalamic neuropeptide Y (NPY) gene expression and pituitary luteinizing hormone release: effects of NPY messenger ribonucleic acid antisense oligodeoxynucleotides. Endocrinology. Vol. 137, No. 1, pp: 78-84.
۱۹. **Yamamoto, R.T. and Kanarek, R.B. 2014.** Central and peripheral relationships between morphine and glucose on antinociception in rats. Annals of Neurosciences. Vol. 1, No. 3, pp: 1-6.

