

# اثر تزریق متوالی نالوکسان بر ترشح گنادوتروپین های میش در فصل غیر آمیزشی

مهندس مهدی زندی<sup>۱</sup> دکتر آرمین توحیدی<sup>۲\*</sup> دکتر همایون خزعلی<sup>۳</sup> مهندس برهان شکراللهی<sup>۱</sup>

دریافت مقاله: ۲۷ مهرماه ۱۳۸۲  
پذیرش نهایی: ۱۵ اردیبهشت ماه ۱۳۸۳

**The effect of successive injections of naloxone on gonadotrophins secretion in ewe in nonbreeding season**  
Zhandi, M<sup>1</sup>, Towhidi, A<sup>2</sup>, Khazali, H<sup>3</sup>, Shokrollahi, B<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Graduated from Faculty of Agriculture, University of Tarbiat Modarres, Tehran-Iran. <sup>2</sup> Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj-Iran. <sup>3</sup> Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Shaheid Beheshti, Tehran-Iran.

**Objective:** Determination of the Naloxone opioid antagonist effect on the LH and FSH secretion in ewe in non-breeding season.

**Design:** Repeated measures.

**Animals:** Six zandi breed ewes with average ( $\pm$  SE) of weight and age,  $42.4 \pm 4.2$  and  $760 \pm 8$  respectively and all of ewes had one birth.

**Procedure:** Ewes were received five injections of 0.5 or 0.2 mg naloxone/kg BW and followed by injection of 1  $\mu$ g gonadorelin /kg BW. Blood samples were collected every 15 minutes for 4 hours before injections until 4 hours after injections of naloxone and every 15 minutes for 1 hours after injection of gonadorelin.

**Statistical analysis:** Analysis of variation.

**Results:** Mean plasma LH concentrations had been significantly increased in both groups after naloxone injections. LH pulses frequencies in both groups significantly increased after naloxone injections. Naloxone failed to alter pulsatile LH amplitudes in both groups. LH base concentrations increased in both groups after injections of naloxone but it was not significant. Also mean plasma LH concentrations had been significantly increased after gonadorelin injection. Mean plasma FSH concentrations, pulsatile frequencies, amplitudes and base concentrations of FSH did not change significantly.

**Clinical Implications:** The results of this study indicate that the opioids may affect on LH pattern secretion in the ewes in nonbreeding season, but the effect of opioid on FSH secretion is not observed. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 59, 4: 345-350, 2004.*

**Key words:** Naloxone, LH, FSH, Ewe, Nonbreeding season.

**Corresponding author's email:** Armintow@yahoo.com

به خوبی مشخص شده است که ترشحات GnRH توسط پپتیدهای اپیوئیدی مهار می شود (۱۱). جهت خنثی نمودن این تأثیر از آنتاگونیست های اپیوئیدی مانند نالوکسان استفاده می شود (۱، ۲). از مطالعاتی که اثر نوروترانسمیترهای اپیوئیدی را بر روی LH بررسی کرده است می توان به گزارشات حاصل از آزمایشهای انجام شده بر روی گوسفند تخمدان

هدف: مطالعه اثر آنتاگونیست اپیوئیدی نالوکسان بر ترشح هورمون های LH و FSH در میش در فصل غیر آمیزشی.

طرح: طرح اندازه گیریهای مکرر.

حیوانات: شش رأس میش نژاد زندی که دارای میانگین ( $\pm$  خطای معیار) وزنی و سنی به ترتیب  $42/4 \pm 4/2$  کیلوگرم و  $760 \pm 8$  روز و تمام آنها یک شکم زایش کرده بودند.

روش: شش رأس میش به طور تصادفی به دو گروه سه تایی تقسیم شدند. از هر دو گروه ابتدا به مدت چهار ساعت و به فواصل ۱۵ دقیقه ای نمونه های خون جمع آوری شد. سپس به هر دام در گروه اول و دوم به ترتیب به میزان  $0/5$  و  $0/2$  میلیگرم نالوکسان به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن به فواصل هر ۳۰ دقیقه و به تعداد پنج بار تزریق شد. ضمن آنکه همچنان خونگیری به فواصل ۱۵ دقیقه ای و از ساعت چهارم تا ساعت هشتم ادامه یافت. در پایان ساعت هشتم به تمام دامها مقدار یک میکروگرم گنادورلین (آنالوگ سنتتیک GnRH) به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شد و تا یک ساعت پس از آن نمونه های خون به فواصل ۱۵ دقیقه ای از کلیه دامها اخذ شد.

تجزیه و تحلیل آماری: آزمون آنالیز واریانس به منظور پی بردن به اختلاف بین گروههای درمانی.

نتایج: میانگین غلظت پلاسمایی و بسامد پالسهای LH در هر دو گروه در دوره پس از تزریق نسبت به دوره قبل از تزریق نالوکسان افزایش معنی داری نشان داد. میانگین دامنه پالس های LH در دوره قبل از تزریق نالوکسان نسبت به دوره بعد از تزریق تغییر معنی داری را نشان نداد. همچنین میانگین غلظت پایه هورمون LH در هر دو گروه پس از تزریق نالوکسان افزایش یافت ولی از نظر آماری معنی دار نبود. در این آزمایش میانگین غلظت پلاسمایی، بسامد، دامنه پالس ها و غلظت پایه ای FSH بعد از تزریق نالوکسان نسبت به دوره قبل از آن در هر دو گروه تغییر معنی داری را نشان نداد. تزریق گنادورلین باعث افزایش معنی داری در میانگین غلظت هورمون LH در دوره بعد از تزریق آن نسبت به دوره قبل از تزریق شد.

نتیجه گیری: می توان اظهار داشت که اپیوئیدها در تنظیم ترشح هورمون LH در فصل غیر آمیزشی نقش دارند، ولی اثر آن بر روی هورمون FSH به طور واضحی مشخص نیست. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۳)، دوره ۵۹، شماره ۴، ۳۴۵-۳۵۰.

واژه های کلیدی: نالوکسان، LH، FSH، میش، فصل غیر آمیزشی.

(۱) دانش آموخته علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران- ایران.

(۲) گروه آموزشی علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، کرج- ایران.

(۳) گروه آموزشی زیست شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه شهید بهشتی، تهران- ایران.

(\* نویسنده مسؤول: Armintow@yahoo.com)



تمام دامها تزریق شد و تا یکساعت بعد از آن نمونه گیری از خون به فواصل هر ۱۵ دقیقه ادامه یافت.

غلظت LH و FSH پلاسمای به روش رادیوایمنواسی (Radioimmunoassay) و با استفاده از کیت گوسفندی و با دو تکرار برای هر نمونه اندازه گیری شد. میزان حساسیت، ضریب تغییرات بین و داخل سنجش برای هورمون LH به ترتیب ۰/۰۱ نانوگرم در میلی لیتر، ۴/۵ و ۴/۹ درصد بود و میزان حساسیت، ضریب تغییرات بین و داخل سنجش برای FSH به ترتیب ۰/۰۱ میکرو واحد بین المللی در میلی لیتر، ۹/۳ و ۱۰/۲ درصد بود.

داده های به دست آمده بر پایه طرح اندازه گیر بهای مکرر در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شدند (۱۸). برای تعیین اثر گنادرولین نمونه های جمع آوری شده در یک ساعت بعد و قبل از تزریق آن نیز با استفاده از طرح اندازه گیر بهای مکرر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (۱). برای تعیین پالس های هورمون هانیز از روش الگوریتم خوشه ای (Cluster algorithm) استفاده شد. میانگین داده ها با استفاده از آزمون دانکن مورد مقایسه قرار گرفت. نرم افزار مورد استفاده SPSS-9 بود.

### نتایج

در این آزمایش میانگین غلظت پلاسمایی LH بعد از تزریقات نالوکسان نسبت به دوره قبل از آن، در هر دو سطح تزریق نالوکسان افزایش معنی داری را نشان داد ( $P < 0/05$ )، همچنین بسامد (Frequency) پالس های LH نیز در دوره پس از تزریق نالوکسان نسبت به دوره قبل از آن در هر دو سطح افزایش یافت که از نظر آماری معنی دار بود ( $P < 0/05$ ). اما دامنه (Amplitude) پالس های LH در دوره پس از تزریق نالوکسان نسبت به دوره قبل از آن در هر دو سطح تفاوت معنی داری را نشان نداد. غلظت پایه LH در دوره پس از تزریقات نالوکسان نسبت به دوره قبل از آن در هر دو سطح افزایش ظاهری یافت ولی از نظر آماری معنی دار نبود (جداول ۲ و ۳).

همچنین در این آزمایش میانگین غلظت پلاسمایی و دامنه پالس های FSH در دوره پس از تزریقات نالوکسان نسبت به دوره قبل از آن در هر دو سطح تغییری نیافت ولی یک روند افزایشی را نشان داد. بسامد پالس های FSH نیز در دوره پس از تزریقات نالوکسان نسبت به دوره قبل از آن در هر دو سطح تفاوت معنی داری را نشان نداد. همچنین غلظت پایه FSH در دوره پس از تزریقات نالوکسان نسبت به دوره قبل از آن در هر دو سطح تفاوت آماری را نشان نداد (جداول ۳ و ۴).

### بحث

مطالعات مختلفی بر روی اثر استروئیدها روی تغییرات ترشح گنادوتروپین ها توسط اپیوئیدها صورت گرفته که نتایج متفاوتی به دست آمده است. نتایج آزمایش حاضر که در فصل غیر آمیزشی بر روی گوسفند انجام گرفت نشان داد که نالوکسان باعث تغییر در میزان هورمون های گنادوتروپینی می شود به طوری که آنتاگونیست اپیوئیدی نالوکسان در

برداری شده (۱۵)، بز (۲۴)، گاوهای نر اخته (۲۱)، گوساله های نر (۱۰)، مادبانها (۲) و گاوهای شیری (۱) اشاره نمود. اکثر مطالعات افزایش در ترشح LH بعد از درمان با نالوکسان را گزارش کرده اند اما مطالعات زیادی بر روی اثر این نوروترانسمیتر روی ترشح FSH انجام نشده است. همچنین مشخص شده است که استروئیدهای جنسی بر روی پاسخ گنادوتروپین هان نسبت به نالوکسان مؤثر می باشد (۱۵، ۳). در بسیاری از گونه ها، آنتاگونیست های اپیوئیدی، ترشح LH را تنها در حضور استروئیدهای گنادی تحریک می کنند و این امر نشان می دهد که مهار اپیوئیدی ترشح LH در غیاب هورمون های استروئیدی تخمدان یا بیضه وجود نخواهد داشت (۳). از طرف دیگر روشن می باشد که میزان هورمون های استروئیدی تخمدان در زمانهای مختلف در چرخه فحلی در فصل آمیزشی و همچنین در فصل غیر آمیزشی دارای نوساناتی می باشد (۱۷) و می توان با توجه به این نوسانات در میزان استروئیدهای تخمدانی انتظار داشت که در هر مرحله از زندگی تولید مثلی میس اثرات اپیوئیدی متفاوت باشد، زیرا حضور کم یا زیاد استروئیدها در غلظتهای متفاوت در فصول غیر آمیزشی و آمیزشی ممکن است بر نحوه اثر اپیوئیدی ها بر ترشح گنادوتروپین ها مؤثر باشد.

با توجه به تفاوت های موجود در میزان استروئیدهای تخمدانی در فصل آمیزشی و غیر آمیزشی در میش و همچنین ارتباط بین اثرات اپیوئیدی ها و استروئیدهای تخمدانی و عدم وجود گزارش در زمینه اثر تزریقات متوالی آنتاگونیست های اپیوئیدی بر روی ترشح گنادوتروپین ها، هدف از این تحقیق مطالعه اثر تزریقات متوالی آنتاگونیست اپیوئیدی نالوکسان بر روی ترشح LH و FSH در فصل غیر آمیزشی در میش می باشد.

### مواد و روش کار

این تحقیق در ایستگاه اصلاح نژاد و پرورش گوسفند نژاد زندی واقع در منطقه خجیر و مربوط به سازمان جهاد کشاورزی استان تهران انجام شد. در این تحقیق از شش رأس میش نژاد زندی استفاده شد که دارای میانگین ( $\pm$  خطای معیار) وزنی و سنی به ترتیب  $42/4 \pm 4/2$  کیلوگرم و  $760 \pm 8$  روز بودند و تمام آنها یک شکم زایش کرده بودند. میشها در اوایل تیر ماه (فصل غیر آمیزشی در منطقه خجیر با توجه به اطلاعات منتشر نشده) به طور تصادفی به دو گروه سه تایی تقسیم شدند و در طی آزمایش به صورت آزاد (ad libitum) به علوفه مرتعی و آب دسترسی داشتند.

روز قبل از شروع آزمایش در داخل سیاهرگ و داج (Jugular vein) تمام میشها کاتتر گذاشته شد. در روز آزمایش از تمام میشها به مدت ۸ ساعت و به فواصل ۱۵ دقیقه ای نمونه های خون از طریق کاتتر جمع آوری شد. بعد از ۴ ساعت نمونه گیری، به سه رأس از میش ها به میزان ۰/۵ و به سه رأس دیگر ۰/۲ میلیگرم نالوکسان هیدروکلراید به ازاء هر کیلو گرم وزن بدن از طریق کاتتر به فواصل هر ۳۰ دقیقه و به تعداد ۵ بار تزریق شد. در ضمن انجام تزریقات، به مدت ۴ ساعت با فواصل هر ۱۵ دقیقه خونگیری به عمل آمد. در پایان ساعت هشتم به میزان یک میکروگرم گنادورلین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به



جدول ۱- میانگین (± خطای معیار) تغییرات فراسنجه های ترشحي LH قبل و بعد از تزریق ۰/۲ میلی گرم نالوکسان به ازای هر کیلوگرم وزن بدن

دوره درمان	غلظت نانوگرم در میلی لیتر	بسامد پالس ها پالس در ساعت	دامنه پالس ها نانوگرم در میلی لیتر	غلظت پایه نانوگرم در میلی لیتر
دوره قبل از تزریقات نالوکسان	۰/۱۴۹ <sup>a</sup> ± ۰/۰۴	۰/۲۵۱ <sup>a</sup> ± ۰/۰۴	۰/۵۰۲ <sup>a</sup> ± ۰/۰۷	۰/۰۶۳ <sup>a</sup> ± ۰/۰۲
دوره بعد از تزریقات نالوکسان	۰/۲۹۳ <sup>b</sup> ± ۰/۰۹	۰/۶۵۲ <sup>b</sup> ± ۰/۱۷	۰/۵۷۸ <sup>a</sup> ± ۰/۴۲	۰/۰۸۹ <sup>a</sup> ± ۰/۰۵
دوره قبل از تزریقات گنادورلین	۰/۱۵۱ <sup>a</sup> ± ۰/۰۸	-	-	-
دوره بعد از تزریق گنادورلین	۰/۳۵۲ <sup>a</sup> ± ۰/۱۲	-	-	-

- میانگینهایی که دارای حروف لاتین مشترک نمی باشند، اختلاف معنی دار دارند (P &lt; ۰/۰۵).

جدول ۲- میانگین (± خطای معیار) تغییرات فراسنجه های ترشحي LH قبل و بعد از تزریق ۰/۵ میلی گرم نالوکسان به ازای هر کیلوگرم وزن بدن

دوره درمان	غلظت نانوگرم در میلی لیتر	بسامد پالس ها پالس در ساعت	دامنه پالس ها نانوگرم در میلی لیتر	غلظت پایه نانوگرم در میلی لیتر
دوره قبل از تزریقات نالوکسان	۰/۱۶۹ <sup>a</sup> ± ۰/۰۸	۰/۲۵۲ <sup>a</sup> ± ۰/۰۳	۰/۶۶۷ <sup>a</sup> ± ۰/۰۹	۰/۰۷۳ <sup>a</sup> ± ۰/۰۵
دوره بعد از تزریقات نالوکسان	۰/۲۷۹ <sup>b</sup> ± ۰/۱۲	۰/۶۶۸ <sup>b</sup> ± ۰/۱۳	۰/۷۰۲ <sup>a</sup> ± ۰/۳۳	۰/۰۹۱ <sup>a</sup> ± ۰/۰۶
دوره قبل از تزریقات گنادورلین	۰/۱۷۹ <sup>a</sup> ± ۰/۰۷	-	-	-
دوره بعد از تزریق گنادورلین	۰/۳۴۳ <sup>b</sup> ± ۰/۱۱	-	-	-

- میانگینهایی که دارای حروف لاتین مشترک نمی باشند، اختلاف معنی دار دارند (P &lt; ۰/۰۵).

جدول ۳- میانگین (± خطای معیار) تغییرات فراسنجه های ترشحي FSH قبل و بعد از تزریق ۰/۲ میلی گرم نالوکسان به ازای هر کیلوگرم وزن بدن

دوره درمان	غلظت میکروواحدین المللی در میلی لیتر	بسامد پالس ها پالس در ساعت	دامنه پالس ها میکروواحدین المللی در میلی لیتر	غلظت پایه میکروواحدین المللی در میلی لیتر
دوره قبل از تزریقات نالوکسان	۲/۰۷۸ <sup>a</sup> ± ۰/۰۹۲	۰/۵ <sup>a</sup> ± ۰/۰۹	۷/۳۲۵ <sup>a</sup> ± ۱/۱۲	۰/۴۹۵ <sup>a</sup> ± ۰/۰۷
دوره بعد از تزریقات نالوکسان	۲/۲۵۵ <sup>a</sup> ± ۰/۲۳۳	۰/۵ <sup>a</sup> ± ۰/۰۹	۸/۳۵۱ <sup>a</sup> ± ۱/۴۱	۰/۵۳۸ <sup>a</sup> ± ۰/۰۸

- میانگینهایی که دارای حروف لاتین مشترک نمی باشند، اختلاف معنی دار دارند (P &lt; ۰/۰۵).

جدول ۴- میانگین (± خطای معیار) تغییرات فراسنجه های ترشحي FSH قبل و بعد از تزریق ۰/۵ میلی گرم نالوکسان به ازای هر کیلوگرم وزن بدن

دوره درمان	غلظت میکروواحدین المللی در میلی لیتر	بسامد پالس ها پالس در ساعت	دامنه پالس ها میکروواحدین المللی در میلی لیتر	غلظت پایه میکروواحدین المللی در میلی لیتر
دوره قبل از تزریقات نالوکسان	۲/۰۷۱ <sup>a</sup> ± ۰/۰۷۸	۰/۵۸۳ <sup>a</sup> ± ۰/۰۲	۵/۲۱۱ <sup>a</sup> ± ۱/۰۹	۰/۵۲۳ <sup>a</sup> ± ۰/۰۵
دوره بعد از تزریقات نالوکسان	۲/۲۷۳ <sup>a</sup> ± ۰/۰۳۲	۰/۵ <sup>a</sup> ± ۰/۰۹	۸/۹۸۸ <sup>a</sup> ± ۱/۳۲	۰/۵۱۸ <sup>a</sup> ± ۰/۰۹

- میانگینهایی که دارای حروف لاتین مشترک نمی باشند، اختلاف معنی دار دارند (P &lt; ۰/۰۵).

پروژسترون و استروژن به طور همزمان و یا پروژسترون به تنهایی برای چند روز به طور جایگزین استفاده شدند اثر مهاری اپیوئیدها بر روی ترشح LH مجدداً بازگشت و این نتیجه نشان داد که در میشها و زنان، پروژسترون عاملی ضروری در مهار آزاد شدن LH قابل برگشت توسط نالوکسان می باشد (۲۵)، (۷، ۹، ۲۳).

بر خلاف آزمایشهای فوق، در گاوهای نر اخته شده آنگوس (۲۱) و گوسفندان نر اخته شده (۱۹) ترشح LH توسط نالوکسان افزایش یافت. همچنین در مادیانهایی که در آنستروس فصلی قرار داشتند (۴)، خوکهای

حضور استروئیدهای تخمدانی (هر چند در فصل غیر آمیزشی میزان آنها کاهش می یابد) بر روی محور GnRH-LH تأثیر گذار است.

در بسیاری از گونه ها، آنتاگونیست های اپیوئیدی، ترشح LH را تنهادر حضور استروئیدهای گنادی تحریک می کند و این امر نشان می دهد که مهار اپیوئیدی ترشح LH در غیاب هورمون های استروئیدی تخمدان یا بیضه وجود نخواهد داشت (۳). همچنین در میشهای تخمدان برداری شده (۷)، زنان یائسه (۹) و زنان تخمدان برداری شده (۲۳) کاربرد آنتاگونیست اپیوئیدی نالوکسان باعث ایجاد تغییراتی در آزاد شدن LH نشد. هنگامی که



آزمایش افزایش احتمالی بسامد پالس های GnRH که می توان آنرا از افزایش بسامد پالسهای LH نتیجه گرفت.

در آزمایش حاضر غلظت پایه LH از نظر آماری افزایش نیافت ولی یک روند افزایشی را نشان داد. آزمایش بر روی میشهای تخمدان برداری شده (۱۵) افزایشی را در میزان غلظت پایه هورمون LH نشان داد. همچنین آزمایش بر روی میشهای سیکلیک نیز افزایشی را در غلظت پایه LH پس از تزریق نالوکسان در مراحل ابتدایی گامه های فولیکولی، میانه و اواخر جسم زرد نشان داد ولی در گامه فولیکولی این افزایش مشاهده نشد (۱۴). علاوه بر آن ذکر شده است که افزایش بسامد پالس های GnRH می تواند باعث افزایش غلظت پایه LH شود و این امر با توجه به نتایج به دست آمده در آزمایش حاضر پیشنهاد می کند که احتمالاً فرکانس پالس های GnRH افزایش یافته است (۱۱).

تزریق گنادورلین نیز باعث افزایش معنی دار ( $P < 0/05$ ) در میانگین غلظت LH بلافاصله پس از تزریق شد. نتایج آزمایش حاضر با نتایج آزمایشی که بر روی گاوهای شیری در دوره بعد از زایش انجام شده است (۱) مطابقت دارد و نشان می دهد در گوسفند در فصل غیر آمیزی مشابه با آنستروس بعد از زایمان در گاو هیپوفیز توانایی فعالیت خود را حفظ کرده است.

در این آزمایش میانگین غلظت FSH بعد از تزریق نالوکسان در هر دو سطح تغییرات معنی داری را نشان نداد. این نتایج با مشاهدات انجام شده بر روی بره های نر (۲۲)، میشهای سیکلیک (۱۳)، بزهای نر (۲۴) و خوک های ماده (۵) مشابه است ولی با نتایج حاصل از آزمایش بر روی گوساله های نر در ۲۴ هفتگی که تزریق نالوکسان باعث افزایش میانگین غلظت FSH شد مطابقت ندارد (۱۰). اختلاف موجود احتمالاً به دلیل سطوح پایین هورمون اینهیبین در حیوانات نابالغ است (۲۲).

در آزمایش حاضر مشخص شد که دامنه پالس های FSH نیز در گروه تیمار و شاهد تفاوت معنی داری ندارد. در آزمایشی که بر روی بره های نر در سن ۱۰ هفتگی انجام شد، نالوکسان باعث افزایش معنی داری در دامنه پالس های FSH نسبت به گروه شاهد شد (۲۲). این اختلاف احتمالاً به علت تفاوت در نوع دامها، روش تزریق و به ویژه سن دامها ایجاد شده است. در هر حال بعضی از اثرات اپیوئیدی مستقل از استروئیدها بر روی ترشح FSH ممکن است در حیوانات خیلی جوان هنگامیکه ترشح اینهیبین پایین است، مشخص شود (۲۲). در آزمایش حاضر مشخص شد که بسامد پالس ها و غلظت پایه FSH در گروه تیمار و شاهد تفاوت معنی داری نداشتند. نتایج مشابهی در آزمایشی که بر روی بره های نر انجام گرفت به دست آمده است (۲۲).

همانطور که از نتایج فوق مشخص است تفاوتی در الگوی ترشی LH و FSH وجود دارد. ذکر شده است که عدم تفاوت در میانگین غلظت پلاسمایی FSH بعد از تزریق نالوکسان در صورتی که در پاسخ به نالوکسان LH افزایش یافته باشد، می تواند به دلیل اثر مستقیم نالوکسان بر روی سلولهای گنادوتروف هیپوفیز باشد (۲۴). در پشتیبانی از گزارش اخیر، در یک آزمایش

ماده (۶) و گاوهای شیری (۱) که در آنستروس بعد از زایمان قرار داشتند، اپیوئیدی ترشح LH را مهار کردند، اگرچه در این حیوانات هیچ جسم زردی مشاهده نشد. بنا بر این مشخص می شود که در این گونه حیوانات تنظیم اپیوئیدی آزاد شدن LH می تواند به طور مستقل از پروژسترون انجام شود. در آزمایش حاضر میانگین غلظت هورمون LH بطور معنی داری ( $P < 0/05$ ) در هر دو سطح افزایش یافت. این نتیجه با نتایج سایر گزارشها که بر روی تلیسه های بالغ و نابالغ (۸)، میشهای تخمدان برداری شده (۱۵)، گاوهای شیری (۱)، گوساله های نر (۱۰)، مادیان (۲)، گاوهای نراخته شده انگوس (۲۱) و بزهای نر (۲۴) انجام شده مطابقت دارد. این نتایج دلالت می کند که پپتیدهای اپیوئیدی با منشأ داخلی ممکن است به طور تونیک آزاد شدن GnRH و LH را در گونه های ذکر شده از جمله میش مهار کند. همانطور که از نتایج مشخص است، تفاوت معنی داری بین مقادیر مصرف شده نالوکسان مشاهده نشد و این امر احتمالاً به خاطر این است که سطوح به کار رفته نالوکسان آنقدر زیاد بوده است که توانسته مقادیر زیادی از رسپتورهای اپیوئیدی را اشغال کنند تا اثرات مشابهی را ایجاد نماید (۸).

در این آزمایش بسامد پالس های LH بعد از تزریق نالوکسان در هر دو سطح نسبت به دوره قبل از آن افزایش معنی داری را نشان داد ( $P < 0/05$ ). این نتایج با سایر آزمایشها که بر روی قوچ (۱۹) و میش (۱۳) انجام گرفته مطابقت دارد. مطالعات قبلی حاکی از آن است که تزریق نالوکسان باعث افزایش تراوش پالسی LH می شود (۱۳). این افزایش در بسامد پالس های LH احتمالاً منعکس کننده افزایش بسامد پالس های GnRH در سطح هیپوتالاموس می باشد که در مطالعاتی که بر روی قوچ (۱۹) و میش (۱۲) انجام گرفته، مشخص شده است. در مطالعه دیگری (۱۱) افزایش در بسامد پالس های GnRH باعث افزایش بسامد پالس های LH در میش نیز شده است.

در آزمایش حاضر دامنه پالس های LH در دوره پس از تزریق نالوکسان در هر دو سطح نسبت به دوره قبل از آن تفاوت معنی داری را نشان نداد. این نتایج با سایر نتایج حاصل از آزمایشهایی که بر روی میشهای سیکلیک (۱۳)، قوچها (۱۹) و بره های نر (۲۲) انجام شده و نشان می دهند که دامنه پالس های LH بعد از تزریق نالوکسان افزایش یافته، مطابقت ندارد. این تفاوت می تواند به خاطر تفاوت در شرایط فیزیولوژیکی اعم از فصول آمیزی متفاوت، نوع دام و سن دامها و همچنین شیوه متفاوت تزریق نالوکسان اعم از تزریق و یا انفوزیون (Infusion) ایجاد شده باشد. از طرفی در یک آزمایش دامنه پالس های LH بعد از تزریق نالوکسان در میشهای تخمدان برداری شده (۱۵) تفاوتی را در دوره بعد از تزریق نالوکسان نشان نداد که با نتایج حاصل از آزمایش ما مطابقت دارد. در آزمایش دیگری بر روی میشهای سیکلیک (۱۴) دامنه پالس های LH در مراحل ابتدایی و میانی گامه جسم زرد فولیکولی بعد از تزریق نالوکسان افزایش یافت ولی در اواخر گامه جسم زرد این تفاوت ایجاد نشد. مشخص شده است که دامنه پالس های LH تحت تأثیر بسامد پالس های GnRH می باشد، به طوری که افزایش بسامد پالسهای GnRH باعث کاهش دامنه پالس های LH می شود (۱۱). در این



## References

1. Ahmadzadeh, A., Brners, M. A. and Pearson, R. E. (1998): Effect of naloxone on serum luteinizing hormone concentration in anovulatory holstein cows during the early postpartum period. *Dom. Anim. Endocrinol.* 15, 3: 177-181.
2. Aurich, C., Burgmann, F. and Hoppe, H. (1996): Opioid regulation of luteinizing hormone and prolactin release in the horse-identical or independent endocrine pathway?. *Anim. Reprod. Sci.* 44:127-134.
3. Aurich, C., Daels, P. F., Ball, B. A. and Aurich, J.E. (1995). Effects of gonadal steroids on the opioid regulation of LH and prolactin release in ovariectomized pony mares. *J. Endocrinol.* 147: 195-202.
4. Aurich, C., Schlote, S., Hoppen, H-O., Klug, E., Hoppe, H. and Aurich, J. E. (1994): Effect of the opioid antagonist naloxone on release of luteinizing hormone in mares during the anovulatory season. *J. Endocrinol.* 142:139-144.
5. Barb, C. R., Kraeling, R. R. and Rampacek, G. B. (1992): Opioid modulation of FSH, growth hormone and prolactin secretion in the prepubertal gilt. *J. Endocrinol.* 133, 13-19.
6. Barb, C. R., Kraeling, R. R. and Rampacek, G. B. and Whisnant, C. S. (1986). Opioid inhibition of luteinizing hormone secretion in the postpartum lactating sow. *Biol. Reprod.* 35, 368-371.
7. Brooks, A. N., Lamming, G. E., Leas, P. D. and Haynes, P. B. (1986): Opioid modulation of LH secretion in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 76, 693-708.
8. Byerley, D. J., Kisser, T. E., Bertrand, J. K. and Kraeling, R. R. (1992): Release of luteinizing hormone after administration of naloxone in pre- and prapuberal heifers. *J. Anim. Sci.* 79, 2794-2800.
9. Casper, R. F. and Alapin-Rubillovitzs. (1985): Progestins increase endogenous opioid peptide activity in post menopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 60, 34-36.
10. Chandolia, R. K., Erans, A. C. O. and Rawlings, N. C. (1997): The involvement of dopaminergic and opioidergic neuronal system in the control of the early rise in LH secretion in bull, calves. *J. Neuroendocrinol.* 9:121-127.
11. Clarke, I. J. and Cummins, J. T. (1985). GnRH pulse

بر روی میشها، رسپتور مربوط به نالوکسان در هیپوتالاموس مکان یابی نشد که می تواند بیان کننده این موضوع باشد که ممکن است اپیوئیدها مستقیماً بر روی هیپوفیز اثر بگذارند (۱۸). از طرف دیگر بیان شده است که عدم پاسخ FSH به اپیوئیدها ممکن است به علت وجود فاکتور آزاد کننده مجزایی برای آزاد شدن FSH باشد (۱۳). همچنین مشخص شده است که ترشح FSH تحت کنترل بازخورد استروئیدها و اینهیپین نیز می باشد (۲۲). علاوه بر آن نشان داده شده است که شرایط متفاوت ترشح GnRH می تواند ترشح LH و FSH را تغییر دهد که شامل موارد ذیل می باشد: ۱) تغییر در بسامد پالس های GnRH که با بسامدهای پایینتر برای آزاد شدن FSH مطلوب می باشد: ۲) حساسیت متفاوت زیر جمعیت های گنادوتروف ها که LH و FSH را ترشح می کنند و تفاوت های آستانه ای در پاسخ به GnRH که ترشح آن با سطح پایینتر برای ترشح FSH مطلوب می باشد و ۳) زمانهای پاسخ متفاوت LH و FSH به GnRH که می توانند دلایلی برای الگوهای متفاوت ترشح LH و FSH باشند (۲۰).

## تشکر و قدردانی

از مسئولین محترم دانشگاه تربیت مدرس، به دلیل همکاری و تأمین هزینه های این تحقیق تشکر و قدردانی می شود. همچنین از مساعدهای جناب آقای دکتر حسن رکنی و جناب آقای مهندس محسن سفیری کمال تشکر را دارد.

frequency determines LH pulse amplitude by altering the amount of releasable LH in the pituitary gland of ewes. *J. Reprod. Fertil.* 73: 425-431.

12. Currie, W. D., Bauer, M. and Rawlings, N. C. (1993): The effect of naloxone on LHRH secretion from the median eminence of anestrous ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 31: 113-122.
13. Currie, W. D. and Rawlings, N. C. (1989): Fluctuation in responsiveness of LH and lack of responsiveness of FSH to prolonged infusion of morphine and naloxone in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 86: 359-366.
14. Currie, W. D. and Rawlings, N. C. (1987): Naloxone enhances LH but not FSH release during various phases of the estrous cycle in the ewe. *Life Sci.* 41: 1207-1214.
15. Evans, A. C. O., Currie, W. D., Cook, S. J. and Rawlings, N. C. (1994): The effects of intravenous infusion of naloxone and progesterone on luteinizing hormone secretion in ovariectomized ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 35: 73-79.



16. Gordon, I. (1997): The ewe's oestrous cycle and seasonal breeding activity. In : Control reproduction in sheep and goat. Edited by Gordon, I. 1<sup>st</sup> edition. Cambridge university press, Cambridge, UK, PP: 53-85.
17. Hafez, E.S.E. (2000). Reproductive cycles. In: Reproduction in Farm Animals. edited by Hafez, E.S.E. 7<sup>th</sup> ed. A wolters kluwer company. Philadelphia. USA. PP: 55-67.
18. Horton, R. J. E., Li, J. Y., Cummins, J. T., Smith, A. L. Shen, P. J. and Clarke, I. J. (1990): Morphine decrease LH secretion in ovariectomized ewes only after steroid priming and not by direct pituitary action. *Neuroendocrinol.* 52: 622-627.
19. Jackson, G. L. and Kuehl, D. E. (2000): Interaction of photoperiod, testosterone, and naloxone on GnRH and LH pulse parameters in the male sheep. *Dom. Anim. Endocrinol.* 18: 97-110.
20. Padmanabhan, V. (2001): Neuroendocrine regulation of follicle- stimulating hormone. Follicular growth, Ovulation and Fertilization: molecular and Clinical Basis. A Kumar and AK Mukhopadhyay. 1<sup>st</sup>. ed. Narosa publication House, new delhi, India, PP: 27-37.
21. Peck, D. D., Thompson, F. N., Stuedemann, J. A., Leshin, L. S. and Kiser, T. E. (1988): Evidence for endogenous opioid modulation of serum luteinizing hormone and prolactin in the steer. *J. Anim. Sci.* 66; 3197-3201.
22. Rawlings, N. C., Churchill, I. J., Currie, W. D. and Joseph, I. B. J. K. (1991): Maturational changes in opioidergic control of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in ram lambs. *J. Reprod. Fertil.* 93: 1-7.
23. Shoupe, D. Montz, F. J. and Lobo, R. A. (1985): The effects of estrogen and progestin on endogenous opioid activity in oophorectomized women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 60: 178-183.
24. Singh, B., Dixit, V. D., Singh, P., Georgie, G. C. and Dixit, V. P. (2000): Effect of naloxone on the plasma levels of LH, FSH, prolactin and testosterone in beetal bucks. *Small Rumin. Res.* 37: 51-55.
25. Trout, W. E and Malven , P. V. (1987): Effects of exogenous estradiol 17- $\beta$  and progesterone on naloxone-reversible inhibition of the release of luteinizing hormone in ewes. *J. Anim. Sci.* 65: 561-564.

