

بررسی تفاوت اثر ضد دردی مرفین و تحمل به مرفین بین موش کوچک نر و ماده

رضا کرمی^۱، فاطمه خداینده لو^۲، لیلا خاتمی^۳، محمود حسینی^۳، اسماعیل فرخی^۱

۱- دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده پزشکی.

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی.

۳- استادیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات فارماکولوژیک گیاهان دارویی. hosseinim@mums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۱۵ تاریخ پذیرش: ۸۹/۹/۱۰

چکیده

تغییرات وابسته به جنس در پاسخ‌های رفتاری حیوانات و انسان‌ها مورد توجه بسیار بوده است. گزارش‌های ضد و نقیضی در مورد نقش هورمون‌های جنسی در درد و پاسخ ضد دردی مرفین وجود دارد. در این پژوهش اثرات ضد دردی مرفین و تحمل به مرفین در موش سفید کوچک نر و ماده بررسی شده است. در این پژوهش ۲۰ سرموش سفید به ۲ گروه ۱۰ تایی نر و ماده تقسیم شدند. ابتدا از همه حیوانات، واکنش به محرک درد زا در تست صفحه داغ قبل از تزریق مرفین (زمان پایه) و ۵ نوبت بعد از تزریق مرفین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش) هر ۱۵ دقیقه تا ۵ نوبت ثبت و برای ایجاد تحمل، مرفین (۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش) روزانه ۳ نوبت طی ۳ روز تزریق گردید. ۱۲ ساعت بعد از آخرین تزریق مرفین زمان پایه ثبت و سپس مرفین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش) تزریق و زمان‌های بعد از تزریق مجدد ثبت شد. زمان واکنش به درد بعد از تزریق ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش مرفین نسبت به زمان پایه در هر ۲ گروه نر و ماده بالا بود اما بعد از ایجاد تحمل تفاوتی بین زمان پایه و زمان‌های بعد از تزریق وجود نداشت. زمان‌های واکنش به درد بعد از تزریق ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش مرفین در گروه نر از گروه ماده بالاتر بود اما تفاوتی بین این زمان‌ها بعد از تحمل به مرفین مشاهده نشد.

کلید واژه: موش کوچک، جنسیت، درد، تحمل، مرفین.

مقدمه

داروی ضد درد بسیار موثر در بسیاری از بیماری‌ها استفاده می‌شود. در حال حاضر توجه به این مطلب که ممکن است تفاوت‌های جنسی در ایجاد این تفاوت‌ها نقش داشته باشد، مورد بررسی قرار گرفته شده است (۳، ۲۳). در برخی از بررسی‌های روی حیوانات مشخص گردیده که اثرات ضد دردی اوپیوئیدها در جنس نر بیشتر از ماده‌ها می‌باشد (۸، ۲۲). در حالی که این بررسی‌ها در انسان اثر ضد دردی اوپیوئیدی قوی تری را در جنس ماده نشان می‌دهند (۲۵). بررسی‌های دیگر نشان داده که حداکثر

احتمال وجود تفاوت‌های وابسته به جنس در پاسخ به درد توسط نتایج بررسی‌های مختلف به خوبی نشان داده شده است. از جمله آن که ریسک وقوع دردهای کلینیکی نظیر سردردهای میگرنی، آرتريت روماتوئید و سندرم روده تحریک پذیر در زنان بیشتر از مردان است (۱۰، ۱۳). هم چنین محققین نشان داده‌اند که زنان آستانه درد بالاتری نسبت به مردان دارند و تحمل درد در آن‌ها در مرحله فولیکولار بیشتر از مرحله لوتئال از سیکل قاعدگی است (۲۹). مرفین از گذشته تا به امروز به عنوان

پزشکی مشهد، تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای محیطی 24 ± 1 درجه سانتی‌گراد و دسترسی به آب و غذا آزاد نگهداری و به صورت تصادفی به ۲ گروه ده تایی نر (Male) و ماده (Female) تقسیم شدند. در ابتدا از همه حیوانات، مدت زمان واکنش به محرک درد زا در تست صفحه داغ (Hot Plate) قبل از تزریق مرفین (زمان پایه) ثبت و مرفین با دوز ۱۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن موش به صورت زیر جلدی تزریق و زمان‌های تاخیر در واکنش به محرک حرارتی درد زا هر ۱۵ دقیقه ثبت شد. برای ایجاد تحمل به درد، حیوانات روزانه سه نوبت مرفین (۳۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم) طی ۳ روز دریافت نموده و دوازده ساعت بعد از تزریق آخرین دوز مرفین ابتدا واکنش حیوانات به درد به عنوان زمان پایه ثبت، سپس ۱۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن مرفین تزریق و واکنش به درد هر ۱۵ دقیقه تا ۵ نوبت ثبت گردید. در این مطالعه سنجش درد با استفاده از آزمون صفحه داغ (Hot plate) انجام شد. در آزمون صفحه داغ، دما ثابت 55 ± 0.2 درجه سانتی‌گراد و زمان ختم آزمایش ۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد. معیار پاسخ حیوان لیسیدن دست‌های جلو و یا تکان دادن پا بود.

تحلیل آماری

داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار (SEM) \pm Mean بیان شده است. برای مقایسه واکنش به درد در زمان‌های بعد از تزریق مرفین با زمان پایه در هر گروه از آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) و تست تعقیبی توکی استفاده شد. زمان پایه بین گروه‌ها نیز با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه مقایسه گردید. برای مقایسه پاسخ دهی به درد در زمان‌های مختلف بعد از تزریق مرفین بین گروه‌های مختلف از Repeated measure ANOVA در سطح استفاده گردید. در صورت ($p < 0.05$) تفاوت معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

در موش‌های نر قبل از ایجاد تحمل به مرفین زمان

اثر مرفین و به طور کلی طول اثر ضد دردی آن بعد از تجویز سیستمیک در جنس نر نسبت به جنس ماده در رت و موش سوری افزایش چشم‌گیری دارد (۲۰، ۱۷، ۲۰). با این وجود تاثیر جنسیت در اثر ضد دردی مرفین مبهم باقی مانده زیرا در طی بررسی‌های زیادی که در رابطه با مشاهدات دقیق بر روی تفاوت‌های جنسی انجام شده نتایج قطعی به دست نیامده است (۶). علاوه بر آن تفاوت‌های جنسی در زمانی که رت‌های ماده در طول فاز استروس از سیکل‌هایشان آزمایش شده‌اند، به طور چشم‌گیری قابل مشاهده بوده‌اند (۷). یکی از قابل توجه ترین مسائل در تجویز مکرر مرفین، ایجاد تحمل به اثر ضد دردی آن و به طور کم رنگ تر، کاهش قدرت اثر ضد دردی آن می‌باشد. ایجاد تحمل به مرفین در نتیجه هزاران هزار تغییرات بیوشیمیایی و مولکولی پیچیده ناشی می‌شود که هنوز به درستی شناخته نشده است (۳۳، ۳۰). نقش یک یا تعدادی از این تغییرات در ایجاد تحمل به مرفین ممکن است وابسته به تعدادی فاکتورهای متدولوژیکی مداخله گر تحت مطالعه از قبیل دوز مرفین، تعیین دوزاژ، روش تجویز مرفین و پاسخ ضد دردی آن باشد که منجر به ایجاد تفاوت‌هایی در حساس شدن به مرفین در رت و موش سوری در زمان ایجاد تحمل کافی به مرفین توسط تجویز ادامه دار مرفین می‌شود (۱۲، ۱۱). بنابراین با وجود تفاوت‌های جنسی متناقض در مورد اثر ضد دردی مرفین، این که آیا جوندگان نر یا ماده تغییرات مشابهی را در حساسیت به اثر ضد دردی مرفین در طول تجویز ادامه دار از خود نشان دهند یا خیر قابل پیش بینی نیست. در مطالعه حاضر تفاوت اثر ضد دردی مرفین و تحمل به مرفین بین موش‌های کوچک نر و ماده بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

حیوانات و گروه‌های مورد آزمایش

در این مطالعه از ۲۰ موش سوری با وزن ۴۵-۲۲ گرم تهیه شده از سرم‌سازی رازی، استفاده و در بخش نگهداری حیوانات دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم

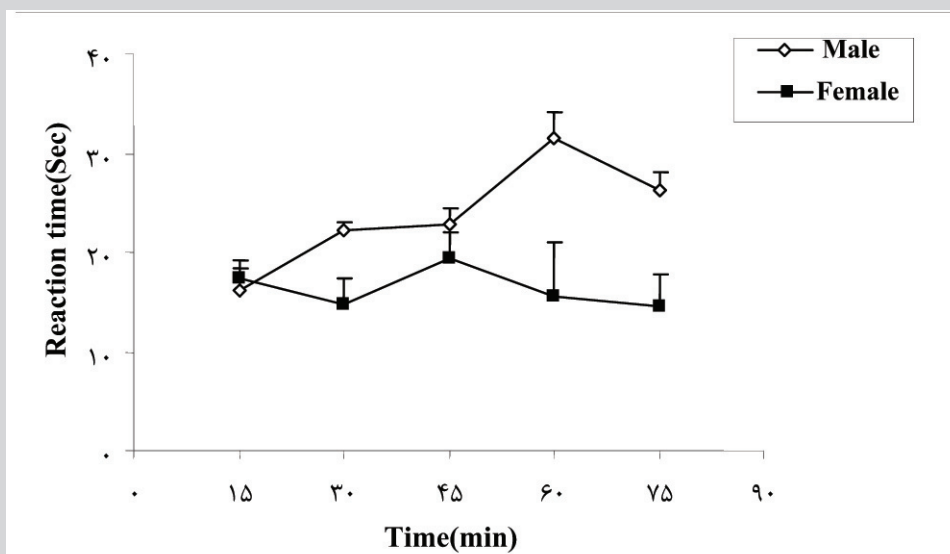
از زمان پایه بیشتر بود ($P < 0/001$ و $P < 0/05$) ولی بعد از ایجاد تحمل تفاوت معنی داری بین زمان پایه و هیچ یک از زمان‌های بعد از تزریق مرفین وجود نداشت، نیز مشخص گردید که زمان پایه در گروه نر از گروه ماده بیشتر بوده است ($P < 0/001$) (جدول ۱). قبل از ایجاد تحمل، زمان‌های واکنش به درد بعد از تزریق مرفین در گروه نر از گروه ماده بیشتر بوده ولی بعد از ایجاد تحمل

واکنش به درد در ۶۰ و ۷۵ دقیقه بعد از تزریق مرفین (۱۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن موش) اختلاف معنی داری ($P < 0/01$) با زمان پایه داشت در حالی که پس از ایجاد تحمل به مرفین تفاوت معنی داری بین زمان پایه و زمان‌های بعد از تزریق مرفین مشاهده نگردید. در موش‌های ماده زمان واکنش به محرک دردزا در هر ۵ نوبت بعد از تزریق مرفین (۱۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم)

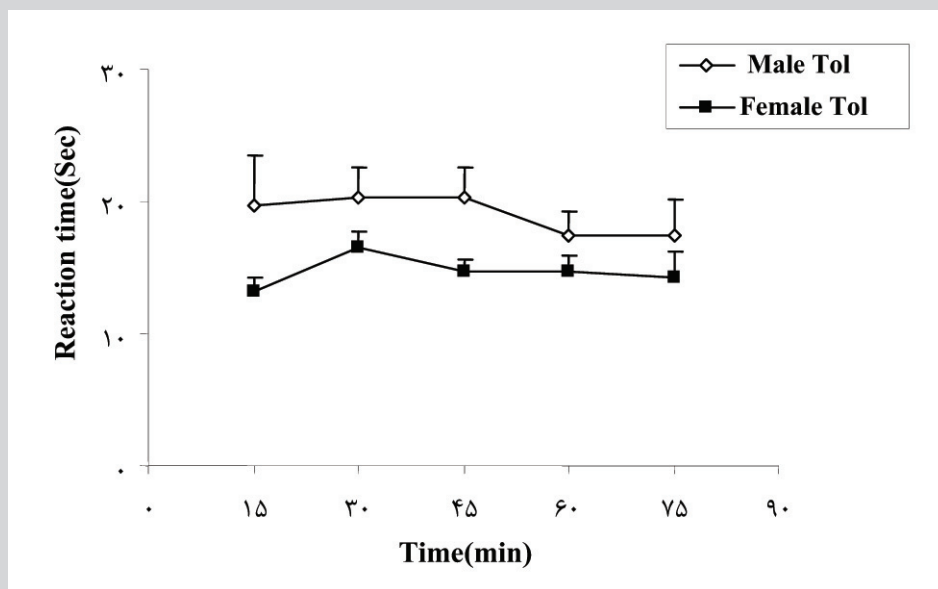
جدول ۱- مقایسه میانگین زمان‌های واکنش به درد بعد از تزریق ۱۰ mg/kg مرفین با زمان پایه در موش‌های کوچک نر و ماده

تعداد حیوان در هر گروه ۱۰ سر بوده است. نتایج به صورت میانگین \pm خطای معیار $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ نشان داده شده است. $p \leq 0/05$ *** $p \leq 0/01$ * و $p < 0/001$ *** در مقایسه با زمان پایه در همان گروه

گروه‌ها	زمان پایه	۱۵ دقیقه	۳۰ دقیقه	۴۵ دقیقه	۶۰ دقیقه	۷۵ دقیقه
نر	۱۳/۳۵ \pm ۱/۰۶	۱۶/۲۵ \pm ۱/۸۶	۲۲/۳ \pm ۲/۵۶	۲۲/۷۵ \pm ۲/۵۷	۳۱/۴۵ \pm ۵/۵***	۲۶/۲۳ \pm ۳/۳۷**
ماده	۸/۶۹ \pm ۱/۰۲	۱۹/۳۷ \pm ۳/۷۲***	۱۴/۸۳ \pm ۰/۷۲*	۱۹/۴۷ \pm ۱/۷۷***	۱۵/۵۲ \pm ۲/۷۵*	۱۷/۳۶ \pm ۲/۷۶
نر- تحمل	۱۶/۳۵ \pm ۱/۰۲	۱۹/۷۳ \pm ۳/۷۲	۲۰/۲۶ \pm ۲/۲۹	۲۰/۳۴ \pm ۲/۲۸	۱۷/۴۷ \pm ۱/۸۱	۱۷/۳۶ \pm ۲/۷۶
ماده- تحمل	۱۳/۵۵ \pm ۰/۷۴	۱۳/۱۲ \pm ۱/۱۶	۱۶/۵۵ \pm ۱/۱۵	۱۴/۷۷ \pm ۰/۸۲	۱۴/۶۵ \pm ۱/۲	۱۴/۳ \pm ۱/۹۳



نمودار ۱- مقایسه زمان‌های واکنش به درد بعد از تزریق ۱۰ mg/kg مرفین بین موش‌های کوچک نر و ماده قبل از ایجاد تحمل. تعداد حیوان در هر گروه ۱۰ سر بوده است. نتایج به صورت میانگین \pm خطای معیار $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ نشان داده شده است. زمان واکنش به درد در گروه نر از ماده بیشتر بوده است $p < 0/01$.



نمودار ۲- مقایسه زمان‌های واکنش به درد بعد از تزریق ۱۰ mg/kg مرفین بین موش‌های کوچک نر و ماده بعد از ایجاد تحمل. تعداد حیوان در هر گروه ۱۰ سر بوده است. نتایج به صورت میانگین \pm خطای معیار $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ نشان داده شده است. تفاوت معنی داری بین ۲ گروه مشاهده نشد.

می‌دهد که استروژن بر رسپتورهایی که در فرایند درد شرکت می‌کنند از قبیل رسپتور B۲ برادی کینین و هم چنین احتمالاً بر آوران‌های درد اثر می‌گذارد (۲۴). شاید بتوان ادعا کرد که استروژن از این طریق سبب افزایش حساسیت به درد در جنس ماده شده است. مرفین از زمان‌های بسیار دور به عنوان یک مسکن بسیار موثر مورد استفاده بوده است. اثر ضد دردی مرفین ناشی از باند شدن مرفین به گیرنده‌های اپیوئیدی در مناطقی از مغز از قبیل تالاموس، ساقه مغزی و نخاع که در مسیر درد قرار دارند می‌باشد، متصل شدن مرفین به این مناطق در مسیر درد منجر به اثرات ضد دردی می‌گردد. بسیاری از محققین معتقدند که مرفین از طریق مهار آنزیم آدنیلات اثر ضد دردی را ایجاد می‌کند (۱۵). در مطالعه حاضر نیز اثر ضد دردی مرفین در هر ۲ جنس نر و ماده نشان داده شد چرا که زمان واکنش به درد بعد از تزریق مرفین از زمان پایه بیشتر بود. اثر هورمون‌های جنسی نر و ماده بر پاسخ ضد دردی مرفین مورد مطالعه بسیاری از محققین قرار گرفته است. Craft و همکاران نشان دادند که حذف تخمدان‌ها اثرات

به مرفین تفاوت معنی داری در زمان واکنش به درد بعد از تزریق مرفین بین دو گروه مشاهده نشد (نمودار ۱ و ۲).

بحث و نتیجه گیری

از سالیان گذشته ارتباط بین استروژن و درد مورد توجه محققین قرار گرفته شده است. وجود گیرنده‌های استروژن و پروژسترون در مناطقی از مغز که در حساسیت درد و mRNA گیرنده‌های استروژن در لایه‌های ۱ و ۲ نخاع موید این مطلب است که هورمون‌های جنسی در انتقال درد دخیل هستند (۱). در مطالعه حاضر نشان داده شد که پاسخ به محرک درد زودتر در موش‌های ماده سریع‌تر از موش‌های نر رخ می‌دهد، چرا که زمان پایه در موش‌های ماده از موش‌های نر کمتر بود. بررسی‌های متعدد دیگر نیز بر تفاوت‌های وابسته به جنس در پاسخ به درد تاکید کرده‌اند (۳۵). نتایج تحقیقات دیگر نیز نشان داده است که موش‌های ماده آستانه‌ی درد پایین‌تری نسبت به جنس نر دارند (۲۶). در انسان نیز جنس ماده دارای آستانه درد پایین‌تری است (۲۷). اگر چه برخی تحقیقات بیان گر عدم تفاوت درد در هر دو جنس می‌باشد (۴). شواهد نشان

تایید شده است دخیل باشد. در مطالعه‌ای که Sumner و همکاران بر روی رت‌های اورکیدکومی شده انجام دادند مشخص گردید که درمان با تستوسترون اثر ضد دردی مرفین را افزایش داده است (۳۱). اثر ضد دردی بیشتر مرفین در جنس نر نیز شاید حداقل قسمتی مربوط به اثر تستوسترون باشد. علاوه بر این شواهدی حاکی از این است که تفاوت‌های جنسی در پاسخ به اثر ضد دردی مرفین ممکن است به واسطه تفاوت‌های ساختاری سیستم عصبی مرکزی باشد و ارتباطی با هورمون‌های جنسی نداشته باشد. Gioiosa و همکاران در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۸ انجام دادند به این نتیجه رسیدند که ژن‌های کروموزوم‌های جنسی می‌توانند در تفاوت وابسته به جنس در پاسخ ضد دردی مرفین دخیل باشند (۲۴). تزریق مکرر مرفین سبب ایجاد تولرانس به اثرات ضد دردی این دارو و حتی هیپرالژزی می‌شود (۱۸). تحمل، پس از مصرف مکرر دارو، باعث می‌شود که نیاز به میزان بیشتری از دارو برای رسیدن به همان تأثیرات اولیه احساس شود (۵). نتایج اغلب بررسی‌ها بیان‌گر این مطلب است که میزان تحمل به مرفین بین دو جنس متفاوت بوده که ممکن است به دلیل وجود سیستم‌های متعدد هیپرالژزیک باشد (۱۶، ۱۸). هالتمن و همکاران نشان داده‌اند که تحمل به مرفین در جنس مونث از جنس مذکر بیشتر است (۱۶). در صورتی که برخی بررسی‌های دیگر عکس این نتیجه را ارائه دادند به طوری که در آزمایش آن‌ها موش‌های صحرایی نر تولرانس بیشتری نشان دادند (۹). نتایج مطالعه حاضر تفاوت معنی داری را در تحمل به مرفین بین دو گروه نشان نداد. در مطالعه حاضر نشان داده شد که پاسخ به محرک درد زار در موش‌های ماده سریع‌تر از موش‌های نر رخ می‌دهد، چرا که زمان پایه در موش‌های ماده از موش‌های نر کمتر بود. علاوه بر این اثر ضد دردی مرفین نیز در هر ۲ جنس نر و ماده نشان داده شد. به این دلیل که زمان واکنش به درد بعد از تزریق مرفین از زمان پایه بیشتر بود. براساس نتایج، تکرار مصرف مرفین می‌تواند در هر

ضد دردی مرفین را کاهش می‌دهد (۱۰). برخی محققین نشان دادند که اثر استروژن بر پاسخ ضد دردی به مرفین به صورت وابسته به دوز بوده و در دوزهایی که قادر به تغییر رفتار جنسی می‌باشد دیده می‌شود (۲۸). بعضی از محققین نیز آن را بی اثر دانند (۷). Stoffel و همکاران نشان دادند که حذف بیضه‌های موش سوری نر هیچ اثری در زمان واکنش به محرک حرارتی در تست صفحه داغ ندارد (۳۴). تفاوت وابسته به جنس در پاسخ ضد دردی مرفین نیز در بعضی از بررسی‌های انسانی و حیوانی بررسی شده است و نتایج متعدد و در بعضی موارد متناقضی گزارش شده است. به عنوان مثال بررسی‌های انسانی که توسط Miaskowski و همکارانش انجام گرفت نشان داد که در جنس ماده اثر ضد دردی اوپیوئیدی قوی‌تر از جنس نر است (۲۵). برخی محققین نشان دادند که در تست پرش دم جنس نر اثر ضد دردی قوی‌تری نسبت به جنس ماده دارد. بعضی از محققین نیز اعتقاد دارند که جوندگان نر به طور کلی پاسخ بیشتری را نسبت به اثر ضد دردی مرفین در مقایسه با جنس ماده از خود نشان می‌دهند (۱۹). در مطالعه حاضر نیز نشان داده شده که اثر ضد دردی مرفین در گروه نر از ماده بیشتر است. با توجه به نتایج مطالعه حاضر نمی‌توان مکانیسم تفاوت اثر مرفین در دو جنس را توضیح داد اما شواهد نشان می‌دهد که استرادیول توانایی رسپتور اوپیوئیدی MU را در فعال کردن مسیر سیگنالینگ داخل سلولی کاهش می‌دهد (۲۱) و این امر می‌تواند در کاهش اثر ضد دردی مرفین که در مطالعه حاضر دیده شده است، دخیل باشد. البته نباید افزایش حساسیت به درد که در جنس ماده وجود دارد و در مطالعه حاضر نیز دیده شده از نظر دور بماند. شاید استروژن با افزایش دادن حساسیت موش‌های ماده به محرک درد زار توانسته باشد اثر ضد دردی مرفین را بپوشاند. علاوه بر این شواهد نشان می‌دهد که تستوسترون نیز می‌تواند در تفاوت وابسته به جنس اثر ضد دردی مرفین که در این مطالعه دیده شده و به وسیله بعضی از محققین

تشکر و قدرانی

نویسندگان این مقاله از جناب آقای دکتر علایی استاد نوروفیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که داری مرفین را برای انجام این تحقیق اهدا نمودند و از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد به دلیل تامین هزینه این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

1. Amandusson, A., Hermanson, O., Blomqvist, A. (1996). Colocalization of oestrogen receptor immunoreactivity and preproenkephalin mRNA expression to neurons in the superficial laminae of the spinal and medullary dorsal horn of rats. *Eur J Neurosci*, 8(11); 2440–2445.
2. Baamonde, A.I., Hidalgo, A., Andre's-Trelles, F. (1989). Sex-related differences in the effects of morphine and stress on visceral pain. *Neuropharmacology*, 28(9); 967–70.
3. Berkley, K.J. (1997). Sex differences in pain. *Behav Brain Sci*, 20(3); 371–80.
4. Berman, S., Munakata, J., Naliboff, B.D., Chang, L., Mandelkern, M., Silverman, D., and et al. (2000). Gender differences in regional brain response to visceral pressure in IBS patients. *Eur. J. Pain*, 4(2); 157–172.
5. Bourne, N. (2008). Managing acute pain in opioid tolerant patients. *J Perioper Pract*, 18(11); 498–503.
6. Candido, J., Lutfy, K., Billings, B., Sierra, V., Duttaroy, A., Inturrisi, C.E., Yoburn, B.C. (1992). Effect of adrenal and sex hormones on opioid analgesia and opioid receptor regulation. *Pharmacol Biochem Behav*, 42(4); 685–692.
7. Cicero, T.J., Nock, B., Meyer, E.R. (1996). Gender-related differences in the antinoci-

۲ جنس نر و ماده منجر به ایجاد تحمل شود. چرا که بعد از تکرار مصرف مرفین تفاوتی بین زمان پایه و زمان‌های واکنش به درد بعد از تزریق مرفین مشاهده نشد. اگر چه اثر ضد دردی مرفین در گروه نر از ماده بیشتر بود، اما تفاوتی در تحمل بین دو گروه مشاهده نشد.

ceptive properties of morphine. *J Pharmacol Exp Ther*, 279(2); 767–773.

8. Cook, C.D., Barrett, A.C., Roach, E.L., Bowman, J.R., Picker, M.J. (2000). Sex-related differences in the antinociceptive effects of opioids: importance of rat genotype, nociceptive stimulus intensity, and efficacy at the mu opioid receptor. *Psychopharmacology (Berl)*, 150(4); 430–42.

9. Craft, R.M., Stratmann, J.A., Bartok, R.E., Walpole, T.I., King, S.J. (1999). Sex differences in development of morphine tolerance and dependence in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*, 143(1); 1–7.

10. Craft, R.M. (2003). Sex differences in opioid analgesia: "from mouse to man". *Clin J Pain*, 19(3); 175–86.

11. Craft, R.M., Ulibarri, C., Leidl, M.D., Sumner, J.E. (2008). Dose- and time-dependent estradiol modulation of morphine antinociception in adult female rats. *Eur J Pain*, 12(4); 472–479.

12. Dighe, S.V., Madia, P.A., Sirohi, S., Yoburn, B.C. (2009). Continuous morphine produces more tolerance than intermittent or acute treatment. *Pharmacol Biochem Behav*, 92(3); 537–542.

13. Dumas, E.O., Pollack, G.M. (2008). Opioid tolerance development: pharmacoki-

netic/pharmacodynamic perspective. *AAPS J*, 10(4); 537-51.

14. Fillingim, R.B., Ness, T.J.(2000). Sex-related hormonal influences on pain and analgesic responses. *Neurosci Biobehav Rev*, 24(4); 485-501.

15. Gioiosa, L., Chen, X., Watkins, R., Elizabeth, A., Umeda, A., Arnold, P.(2008). *Sex chromosome complement affects Nociception and analgesia in Newborn mice*. *The Journal of Pain*, 10(9); 962-969.

16. Harrison, L.M., Kastin, A.J., Zadina, J.E.(1998). Opiate tolerance and dependence: Receptors, G-proteins, and antiopiates. *Peptides*, 19(9); 1603-1630.

17. Holtman, J.R. Jr., Sloan, J.W., Wala, E.P.(2004). Morphine tolerance in male and female rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 77(3); 517-523.

18. Islam, A.K., Cooper, M.L., Bodnar, R.J.(1993). Interactions among aging, gender and gonadectomy effects upon morphine antinociception in rats. *Physiol Behav*, 54(1); 45-54.

19. Juni, A., Klein, G., Kowalczyk, B., Ragnauth, A., Kest, B.(2008). Sex differences in hyperalgesia during morphine infusion: effect of gonadectomy and estrogen treatment. *Neuropharmacology*, 54(8); 1264-1270.

20. Karen, L., Kepler, M., Standifer, D. P., Kest, B., Gavril, W., Pasternak, R.J.(1991). Gender effects and central opioid analgesia. *Pain*, 1(45); 87-94.

21. Kavaliers, M., Innes, D.G.L.(1987). Sex and day-night differences in opiate-induced responses of insular wild deer mice. *Peromyscus maniculatus triangularis*. *Pharmacol Biochem Behav*, 27(3); 477-42.

22. Kelly, M.J., Lagrange, A.H., Wagner,

E.J., Ronnekleiv, O.K.(1999). Rapid effects of estrogen to modulate G protein-coupled receptors via activation of protein kinase A and protein kinase C pathways. *Steroids*, 64(1-2); 64-75.

23. Kepler, K.L., Kest, B., Kiefel, J.M., Cooper, M.L., Bodnar, R.J.(1989). Roles of gender, gonadectomy and estrous phase in the analgesic effects of intracerebroventricular morphine in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 34(1); 119-27.

24. Kest, B., Sarton, E., Mogil, J.S., Dahan, A.(1998). Opioid-induced analgesia and respiratory depression: Sex differences, in *Physiology and Pharmacology of Cardio-respiratory Control* (Dahan A, Teppema LJ and van Beek EJ eds), 93-100.

25. Madeddu, P., Emanuelli, C., Song, Q., Varoni, M.V., Demontis, M.P., Anania, V., Glorioso, N., Chao, J.(1997). Regulation of bradykinin b2-receptor expression by oestrogen. *Br J Pharmacol*, 121(8); 1763-1769.

26. Miaskowski, C., Levine, J.D.(1999). Does opioid analgesia show a gender preference for females? *Pain Forum*, 8(1); 34-44.

27. Mogil, J.S., Chesler, E.J., Wilson, S.G., Juraska, J.M., Sternberg, W.F. (2000). Sex differences in thermal nociception and morphine antinociception in rodents depend on genotype. *Neurosci Biobehav Rev*, 24(1); 375-389.

28. Nguyen, P., Lee, S.D., Castell, D.O.(1995). Evidence of gender differences in esophageal pain threshold. *Am. J. Gastroenterol*, 90(6); 901-905.

29. Ratka, A., Simpkins, J.W.(1991). Effects of estradiol and progesterone on the sensitivity to pain and on morphine-induced antinociception in female rats. *Horm Behav*,

25(2);217-228.

30.Riley, J.L., Robinson, M.E., Wise, E.A., Price, D.D.(1999). A meta-analytic review of pain perception across the menstrual cycle. *Pain*, 81(3); 225-35.

31.Stefano, G.B., Kream, R.M., Esch, T.(2009).Revisiting tolerance from the endogenous morphine perspective.*Med Sci Monit*, 15(9);RA189-198. Review.

32.Sumner, J.E., Ulibarri, C., Craft, R.M.(2006). Testosterone modulation of reproductive indices vs. morphine antinocicep-

tion in male rats.*Life Sci*, 79(22);2119-27.

33.Ueda, H., Ueda, M.(2009).Mechanisms underlying morphine analgesic tolerance and dependence.*Front Biosci*, 1(14); 5260-5272. Review.

34.Stoffel, E.C., Ulibarri, C.M., Craft, R.M.(2003). Gonadal steroid hormone modulation of nociception, morphine antinociception and reproductive indices in male and female rats. *Pain*, 103(3);285-302.

35.Wiesenfeld-, Z.(2005).Sex differences in pain perception.*Gend Med*, 2(3);137-145.

