

تأثیر گیرنده های اوپیوئیدی در اثر ضد تشنجی پروژسترون در موش سوری ماده اواریکتومی شده

لطف اله خواجه پور^{۱*}، حسین نجف زاده ورزی^۲، مهناز کسمتی^۳، فهیمه حسنونند^۴

۱- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم پایه، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

۳- دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

۴- کارشناس ارشد زیست شناسی، گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۶

چکیده

زمینه وهدف: پروژسترون هورمونی استروئیدی است که اثر ضد تشنجی قوی در انسان و حیوان دارد. هدف از این مطالعه بررسی دخالت گیرنده های اوپیوئیدی در اثر ضد تشنجی پروژسترون در موش سوری ماده اواریکتومی شده بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه آزمایشگاهی، همه حیوانات اواریکتومی شدند. بعداز دو هفته، آنها تزریق درون صفاقی داروها (پروژسترون و نالوکسان) یا سالین دریافت کردند. حیوانات هم چنین تزریق زیر پوستی استریکنین (۱ میلی گرم/کیلوگرم) را، برای ایجاد حملات تشنجی، ۳۰ دقیقه بعد از تزریق داروها یا سالین دریافت کردند. برای ارزیابی تشنج در حیوانات؛ زمان شروع تشنج، مدت زمان تشنج، تعداد حملات و زمان مرگ حیوانات ثبت گردیدند.

یافته ها: تزریق درون صفاقی پروژسترون (۲۵ و ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم) تشنج ناشی از استریکنین را کاهش داد. اثر ضد تشنجی ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم پروژسترون با تزریق درون صفاقی نالوکسان (۵ میلی گرم/کیلوگرم) از بین رفت. در حالی که همان مقدار نالوکسان به تنهایی اثری بر تشنج ناشی از استریکنین نداشت.

نتیجه گیری: براساس نتایج به دست آمده، پیشنهاد می گردد که گیرنده های اوپیوئیدی می توانند نقش مهمی در اثر ضد تشنجی پروژسترون ایفاء کنند.

واژه های کلیدی: پروژسترون، تشنج، گیرنده های اوپیوئیدی

* نویسنده مسئول: اهواز، دانشگاه شهید چمران، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

مقدمه

آزمایشگاهی القاء نمود. این مدل‌های حیوانی برای مطالعه اثر داروها و نقش هورمون‌ها و انتقال دهنده‌های عصبی در تشنج به کار می‌روند. عقیده بر این است که اثر ضد تشنجی پروژسترون توسط سیستم‌های مختلف نوروترانسمیتری، از قبیل گابا آرژیک و گلو تاما ترژیک و از طریق مسیرهای ژنومیک و غیر ژنومیک میانجی‌گری می‌گردد (۴). به نظر می‌رسد که اثرات سریع پروژسترون با واسطه گیرنده‌های غشایی اعمال شود (۸، ۱۱). مطالعات زیادی تداخل سیستم‌های کولینرژیک و اوپیوئیدرژیک را در اثرات پروژسترون در مغز نشان می‌دهند (۴، ۸). مکانیزم‌های اوپیوئیدی علائم تشنج ناشی از آنتاگونیست‌های گاما آمینوبوتیریک اسید (Gamma Aminobutyric Acid) (GABA) را در مدل حیوانی تعدیل می‌کنند (۴، ۲۰، ۲۱). از طرف دیگر نقش ضد تشنجی اوپیوئیدها در حملات صرعی ناشی از شوک الکتریکی (۵) و صرع لوب گیجگاهی (۲۲) نشان داده شده است. مقادیر کم مورفین، آگونیست اوپیوئیدی، حملات را در تشنج ناشی از پیکروتوکسین و پنتیلن تترازول کاهش می‌دهد (۲۳، ۲۴). علاوه بر این، تداخل عمل پروژسترون و سیستم اوپیوئیدرژیک در برخی جنبه‌های رفتاری و پاسخ‌های فیزیولوژیک در حیوانات گزارش شده است (۲۵-۲۷). بر اساس مطالعات ذکر شده مبنی بر تداخل عمل پروژسترون و سیستم اوپیوئیدی در پاسخ‌های رفتاری حیوانات، در این تحقیق دخالت احتمالی گیرنده‌های اوپیوئیدی در اثرات ضد تشنجی پروژسترون در موش سوری ماده اواریکتومی شده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی از موش‌های سوری ماده بالغ به وزن ۲۰-۳۵ گرم و سن ۶-۷ هفته استفاده گردید. دمای محل نگهداری در حدود 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و دوره روشنایی روزانه بین ساعت ۷ تا ۱۹ تنظیم شده بود و حیوانات آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. همه آزمایش‌ها بین ساعت ۱۱ تا ۱۴ و در آزمایشگاه

صرع یک بیماری ناشی از تحلیل عصبی و آسیب مغز به دلیل تروما، سکته و تومور می‌باشد. این عوامل منجر به بروز فرایندهای التهاب در مغز می‌شوند که عامل خطر ساز برای ایجاد و ابقای حملات محسوب می‌گردند (۱). از طرف دیگر تغییر در عملکرد سیستم‌های نوروترانسمیتری مختلف از قبیل سروتونرژیک، نورآدرنرژیک (۲)، گابا آرژیک (۳)، گلو تاما ترژیک (۴) و اوپیوئیدرژیک (۵) در بروز حملات صرعی نقش تعیین کننده دارد. مطالعات نشان می‌دهند که در زنان مبتلا به صرع حملات متأثر از دوره‌های تخمدانی است. الگوهای حملات با تغییرات سطوح استروژن و پروژسترون همراه است. درحقیقت این هورمون‌ها تحریک پذیری عصبی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۶). هورمون‌های جنسی توسط تخمدان‌ها، جفت، بیضه‌ها و غدد فوق کلیوی تولید می‌گردد (۷). این هورمون‌ها همچنین در مغز و نخاع به عنوان نورواستروئیدها (۸)، با اثر بر عمل نورون‌ها و سلول‌های گلایال شامل سنتر انتقال دهنده‌های عصبی، بیان گیرنده‌ها و انتقال سیناپسی، فعالیت‌های سیستم عصبی مرکزی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۹). امروزه علاوه بر نقش پروژسترون در تولید مثل، اثرات این هورمون به عنوان یک نورواستروئید به خوبی شناخته شده است (۱۰). پروژسترون در سیستم عصبی مرکزی با مکانیسم‌های اتوکراین و پاراکراین (۱۱) و از طریق گیرنده‌های درون سلولی و درون غشایی عمل می‌کند (۸، ۱۱، ۱۲). گزارش‌هایی زیادی مبنی بر اثرات آرام بخشی، ضد درد و ضد تشنجی پروژسترون در حیوانات آزمایشگاهی وجود دارد و درمان با این هورمون ممکن است فرکانس وقوع حملات را در زنان مبتلا به صرع کاهش دهد (۷، ۱۳). هیپوکامپ که یکی از نواحی مغزی تاثیرگذار در حملات صرعی است، یکی از اهداف مهم اثرات پروژسترون محسوب می‌شود (۱۴، ۱۵). حملات صرعی را می‌توان با استفاده از شوک الکتریکی (۱۶، ۱۷) و یا تزریق بعضی مواد شیمیایی و داروها از قبیل پیکروتوکسین (۳)، پنتیلن تترازول (۱۸) و استریکنین (۱۹) در حیوانات

تحقیقاتی فیزیولوژی گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران صورت پذیرفت. برای ازبین بردن اثر هورمون های جنسی در نتایج آزمایش ها، تمام موش ها با تزریق درون صفاقی کتامین (۷۰ میلی گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۷ میلی گرم/کیلوگرم) بیهوش شده و تخمدان های آنها باعمل جراحی اواریکتومی خارج گردید. به حیوانات ۱۴ روز قبل ازآزمایش ها برای بهبودی کامل ازجراحی استراحت داده شد.

برای انجام این تحقیق داروهای کتامین وزایلازین(شرکت آلفاسان هلند)، پروژسترون(شرکت ایران هورمون ایران)، روغن بادام(شرکت باریج اسانس ایران)، نالوکسان(شرکت تولید دارو ایران) و استریکنین (شرکت سیگما انگلستان)، به کار برده شد. پروژسترون در روغن بادام و بقیه داروها در سالیین حل شدند. تزریق داروها و حلال آنها باحجم ۵ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن حیوانات انجام شد. استریکنین به صورت زیر پوستی و سایر داروها به صورت درون صفاقی تزریق گردید.

در تحقیق حاضر همانند مطالعات دیگران(۲۳، ۲۸، ۲۹)، تشنج باتزریق زیر پوستی استریکنین (۱ میلی گرم/کیلوگرم) بعد از تزریق سالیین یا داروها در همه حیوانات القاء گردید. شاخص های تشنج شامل زمان شروع و مدت زمان دوام تشنج، تعداد حملات و زمان مرگ حیوانات برای مدت ۳۰ دقیقه بعد از تزریق استریکنین برای ارزیابی تشنج ثبت گردید. موش های اواریکتومی شده به گروه های آزمایشی زیر تقسیم شدند:

گروه اول یا شاهد(پروژسترون ۰ یا نالوکسان ۰): این گروه ۵ میلی لیتر/کیلوگرم سالیین را ۳۰ دقیقه قبل از استریکنین، به صورت درون صفاقی، دریافت کردند.

گروه دوم (پروژسترون ۲۵): این گروه پروژسترون (۲۵ میلی گرم/کیلوگرم) را ۳۰ دقیقه قبل از استریکنین، به صورت درون صفاقی، دریافت کردند.

گروه سوم (پروژسترون ۵۰): این گروه پروژسترون (۵۰ میلی گرم/کیلوگرم) را ۳۰ دقیقه قبل از استریکنین، به صورت درون صفاقی، دریافت کردند.

گروه چهارم (نالوکسان ۱): این گروه نالوکسان (۱ میلی گرم/کیلوگرم) را ۳۰ دقیقه قبل از استریکنین، به صورت درون صفاقی، دریافت کردند.

گروه پنجم (نالوکسان ۲): این گروه نالوکسان (۲ میلی گرم/کیلوگرم) را ۳۰ دقیقه قبل از استریکنین، به صورت درون صفاقی، دریافت کردند.

گروه ششم (نالوکسان ۵): این گروه نالوکسان (۵ میلی گرم/کیلوگرم) را ۳۰ دقیقه قبل از استریکنین، به صورت درون صفاقی، دریافت کردند.

گروه هفتم یا شاهد تداخلی (سالیین/ پروژسترون ۵۰): این گروه سالیین (۵ میلی لیتر/کیلوگرم) و پروژسترون (۵۰ میلی گرم/کیلوگرم) را به ترتیب ۴۵ و ۳۰ دقیقه قبل از استریکنین دریافت کردند.

گروه هشتم (نالوکسان ۱/ پروژسترون ۵۰): این گروه نالوکسان (۱ میلی گرم/کیلوگرم) و پروژسترون (۵۰ میلی گرم/ کیلوگرم) را به ترتیب ۴۵ و ۳۰ دقیقه قبل از استریکنین دریافت کردند.

گروه نهم (نالوکسان ۲/ پروژسترون ۵۰): این گروه نالوکسان (۲ میلی گرم/کیلوگرم) و پروژسترون (۵۰ میلی گرم/ کیلوگرم) را به ترتیب ۴۵ و ۳۰ دقیقه قبل از استریکنین دریافت کردند.

گروه دهم (نالوکسان ۵/ پروژسترون ۵۰): این گروه نالوکسان (۵ میلی گرم/کیلوگرم) و پروژسترون (۵۰ میلی گرم/ کیلوگرم) را به ترتیب ۴۵ و ۳۰ دقیقه قبل از استریکنین دریافت کردند.

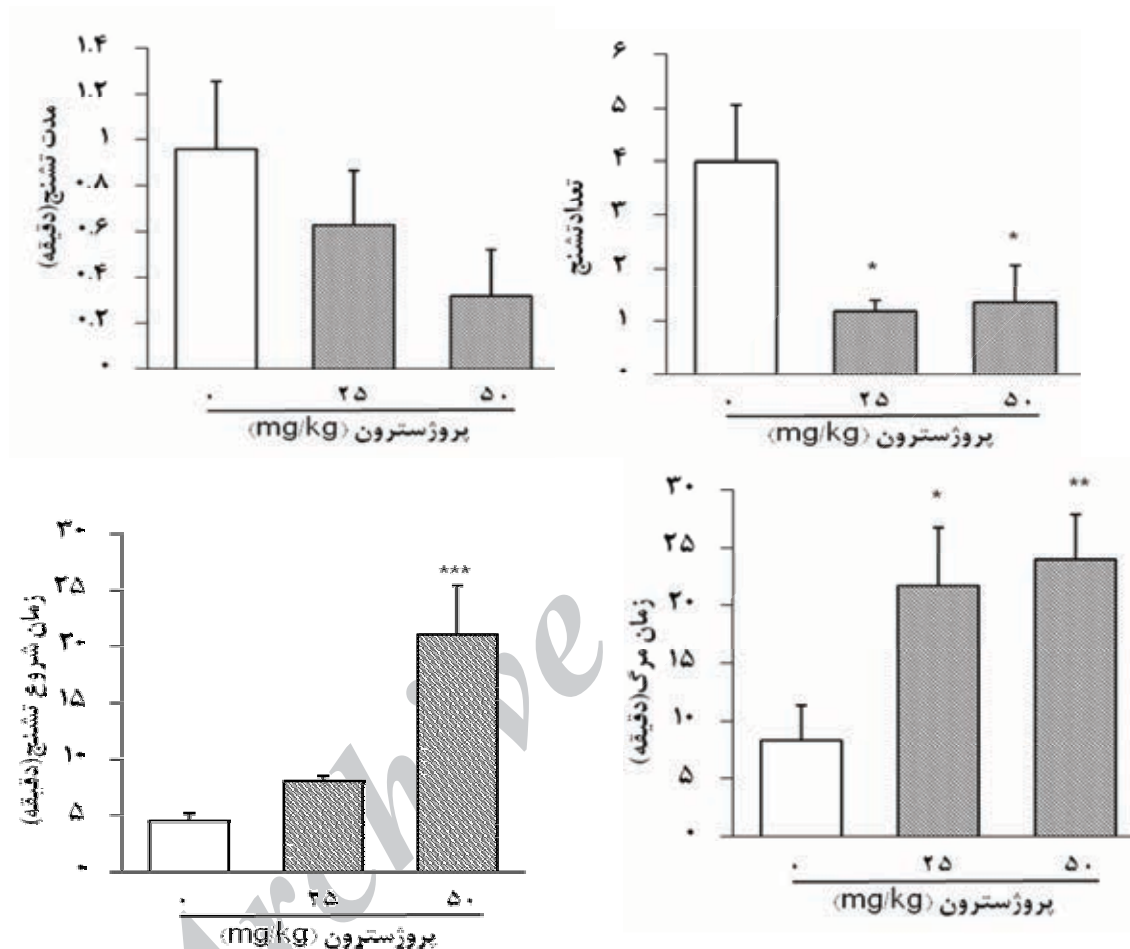
برای بررسی آماری داده ها از روش آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه و تست تکمیلی LSD استفاده شد. داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار (SEM) نشان داده شده اند و سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ تعیین گردید.

یافته ها

در شکل ۱ اثر مقادیر پروژسترون (۰، ۲۵، ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم) برزمان شروع تشنج، مدت تشنج، تعداد حملات و زمان مرگ حیوانات در تشنج ناشی از استریکنین

زمان مرگ ($p < 0/01$) و همچنین کاهش تعداد تشنج در حیوانات شده است. ($p < 0/05$)

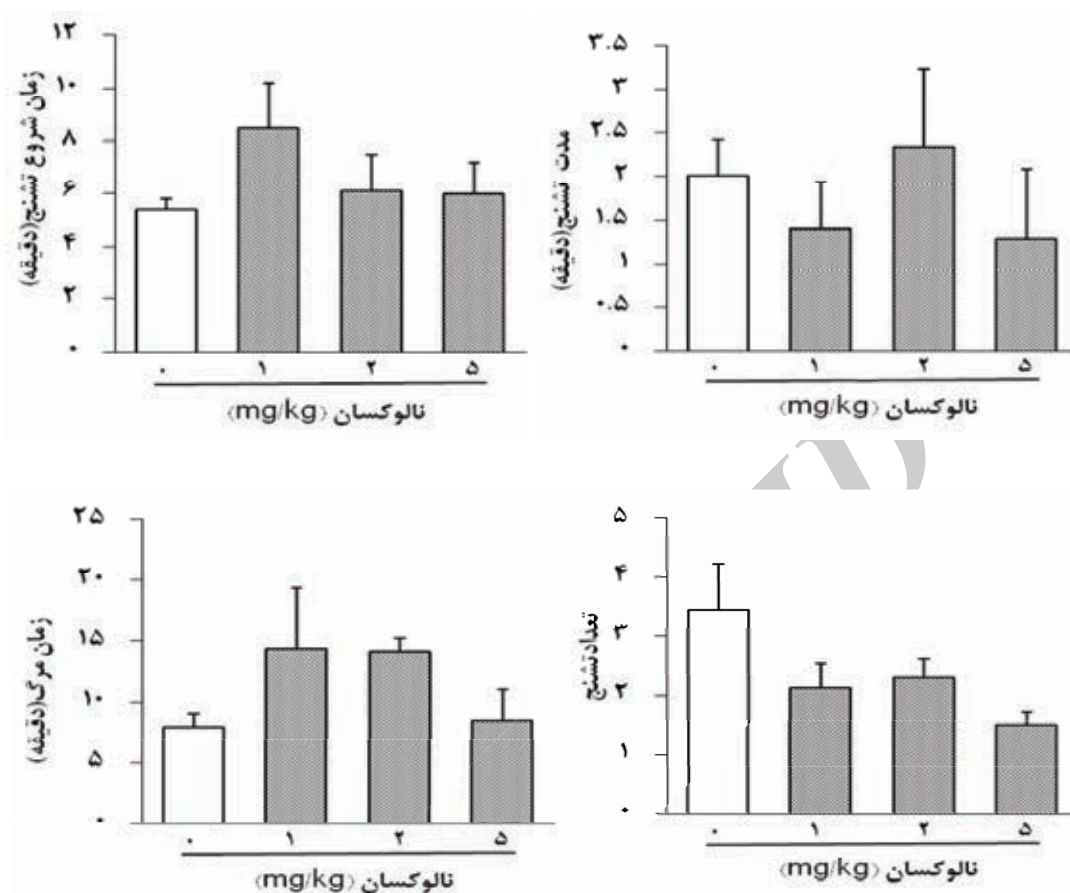
در موش سوری اواریکتومی شده، نشان داده شده است. آنالیز واریانس یک طرفه داده‌ها حاکی از آن است که پروژسترون موجب تاخیر در شروع تشنج ($p < 0/001$) و



شکل ۱. اثر تزریق پروژسترون بر تشنج ناشی از استریکنین. حیوانات استریکنین (1 mg/kg , s.c.) را ۳۰ دقیقه بعد از تزریق پروژسترون ($0, 25, 50 \text{ mg/kg}$, i.p.) دریافت کردند و بلافاصله علائم تشنجی آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. ستون‌ها میانگین \pm انحراف معیار را در هشت حیوان ($n=8$) نشان می‌دهند. $p < 0/05$, $p < 0/01$, $p < 0/001$ در مقایسه با گروه شاهد (پروژسترون ۰) است.

را نشان می‌دهد. براساس بررسی آماری آنالیز واریانس یک طرفه تفاوت معنی‌داری، برای تمام شاخص‌های تشنج، در بین گروه‌های دریافت کننده نالوکسان وجود ندارد.

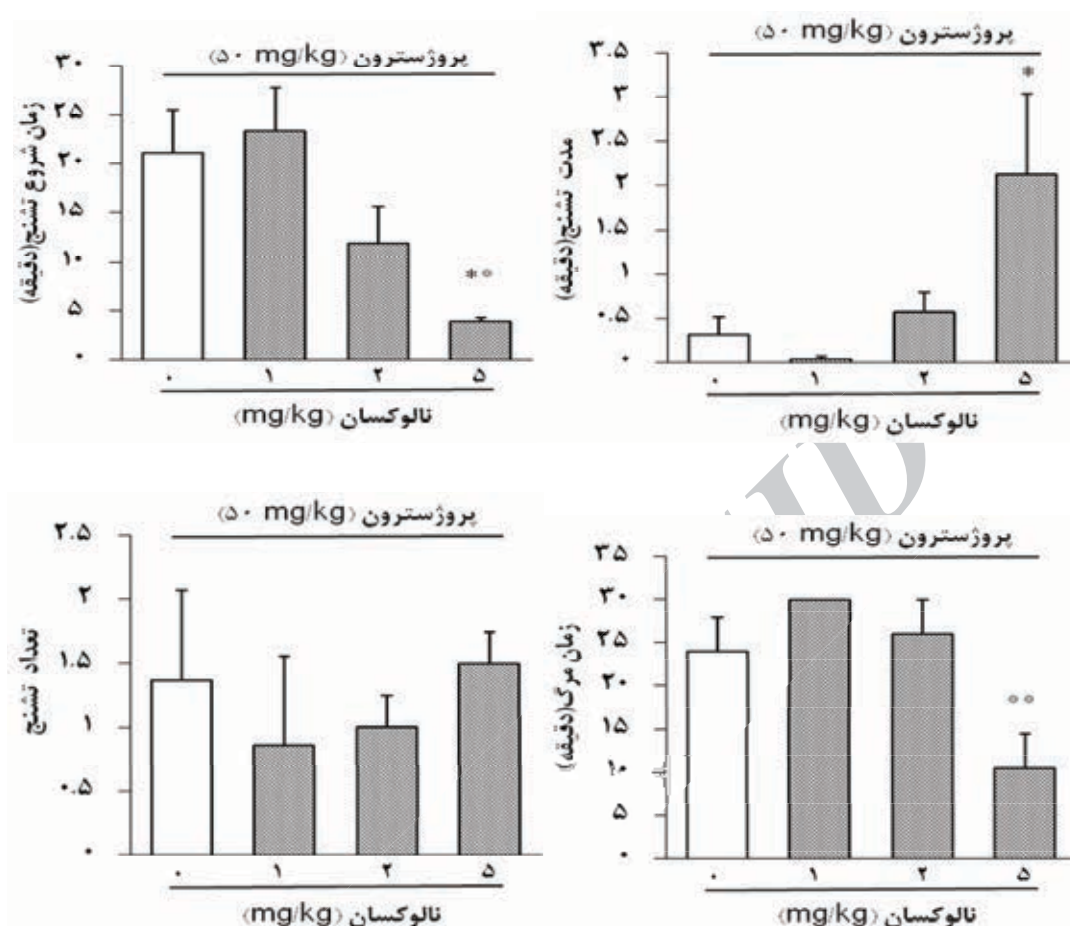
شکل ۲، اثر نالوکسان (۰، ۱، ۲، ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) بر زمان شروع تشنج، مدت زمان تشنج، تعداد تشنج و زمان مرگ در تشنج ناشی از استریکنین



شکل ۲. اثر تزریق نالوکسان بر تشنج ناشی از استریکنین. حیوانات استریکنین (۱ mg/kg s.c.) را ۳۰ دقیقه بعد از تزریق مقادیر مختلف نالوکسان (۰، ۱، ۵، ۲ mg/kg, i.p.) دریافت کردند و بلافاصله علائم تشنجی آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. ستون‌ها میانگین \pm انحراف معیار را، در هشت (n=۸) حیوان، نشان می‌دهند.

نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که نالوکسان (۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) موجب کاهش زمان شروع تشنج ($p < 0.01$)، زمان مرگ ($p < 0.01$) و مدت زمان تشنج ($p < 0.05$) در حیوانات شده است.

شکل ۳، اثر تزریق توأم مقادیر بی اثر نالوکسان (۰)، ۱، ۲، ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم و پروژسترون (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بر زمان شروع تشنج، مدت زمان تشنج، تعداد تشنج و زمان مرگ در تشنج ناشی از استریکنین را



شکل ۳. اثر تزریق توأم نالوکسان و پروژسترون بر تشنج ناشی از استریکنین. حیوانات نالوکسان (۰، ۱، ۵، ۲ mg/kg, i.p.) و پروژسترون (۵۰ mg/kg, i.p.) را به ترتیب ۴۵ و ۳۰ دقیقه قبل از تزریق استریکنین (۱ mg/kg s.c.) دریافت کردند و علائم تشنجی آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. ستون‌ها انحراف معیار \pm میانگین را، در هشت (n=۸) حیوان، نشان می‌دهند. $p < ۰/۰۵$ و $p < ۰/۰۱$ ** در مقایسه با گروه نالوکسان + پروژسترون ۵۰.

بحث

تزریق پروژسترون در موش سوری اثرات ضد تشنجی در تشنج ناشی از پنتیلن ترازول داشته است (۴). نشان داده شده است که پروژسترون و متابولیت‌های آن علائم کیندلینگ آمیگدالی را در موش صحرائی کاهش می‌دهند (۷). شدت تشنج ایجاد شده با کاینیک اسید و مرگ ناشی از آن در موش صحرائی با تزریق پروژسترون کاهش می‌یابد (۳۱). اثر سریع ضد تشنجی پروژسترون احتمالاً از مسیر پیام رسانی داخل سلولی وابسته به گیرنده‌های غشایی القاء می‌گردد (۷). به نظر می‌رسد که اعمال پروژسترون در مغز به صورت مستقیم و یا غیر مستقیم توسط مکانیسم‌های نوروترانسمیتری گوناگونی از قبیل گابا آرژیک، گلو تاما ترژیک، اویپوئیدرژیک میانجی‌گری گردد (۴). پروژسترون

در این مطالعه ابتدا اثر ضد تشنجی پروژسترون و سپس دخالت سیستم اویپوئیدی در این اثر پروژسترون در تشنج ناشی از استریکنین مورد بررسی قرار گرفته است. در آزمایش‌های ما منطبق با مطالعات دیگران (۱۹) تزریق استریکنین، در موش‌های اواریکتومی شده، موجب ایجاد تشنج در این حیوانات شده است. نتایج تحقیق حاضر هم‌چنین نشان داد که تزریق پروژسترون پیش از استعمال استریکنین علائم تشنج را کاهش می‌دهد. این نتایج با مطالعات دیگران سازگاری دارد، به عنوان مثال گزارش شده است که تزریق پروژسترون در موش صحرائی علائم تشنج را در مدل کیندلینگ کاهش داده است (۷، ۳۰). هم‌چنین

گیرنده های اویپوئیدی در اثرات ضد تشنجی پروژسترون با تداخل در عمل گیرنده های گابا آرژیک از جمله گیرنده های گابا-A باشد (۲۳، ۳۴). از طرف دیگر، نیتریک اکساید نقش مهمی هم در اثرات تعدیلی سیستم اویپوئیدی در اضطراب دارد (۳۹) و هم یکی از مکانیسم های احتمالی اثرات ضد تشنجی پروژسترون (۴) شناخته شده است، بنابراین ممکن است گیرنده های اویپوئیدی با واسطه سیستم نیتریک اکساید در اثرات ضد تشنجی پروژسترون دخالت داشته باشد.

با توجه به میانجی گری سیستم های مختلف نوروترانسمیتری مرکزی در اثرات فیزیولوژیک پروژسترون در سیستم عصبی (۴)، احتمالاً نالوکسان با کاهش عملکرد سیستم اویپوئیدی و از طریق تداخل در فعالیت این سیستم های نوروترانسمیتری اثر ضد تشنجی پروژسترون را کاهش دهد.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق و منطبق با یافته های دیگران، پروژسترون تشنج ایجاد شده توسط استریکنین را کاهش داده است. از طرف دیگر به نظر می رسد اثرات ضد تشنجی پروژسترون ممکن است از طریق فعال سازی سیستم اویپوئیدی ظاهر گردد. این تداخل اثر سیستم اویپوئیدی ممکن است ناشی از مداخله مستقیم هورمون پروژسترون و نورون های اویپوئیدرژیک اعمال گردد، یا به صورت غیر مستقیم و با تداخل در عمل سیستم های نوروترانسمیتری دیگر از قبیل گابا آرژیک، نیتریک اکساید، کولینرژیک و گلو تاما ترژیک میانجی گری شود.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر حاصل کار پژوهشی در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی می باشد و هزینه های آن از محل اعتبارات پژوهانه شماره ۹۰/۳/۰۲/۱۸۶۷۲ معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز تامین گردیده است.

گیرنده های گابا (۳۲) و گلو تامات را با واسطه متابولیت هایی از قبیل الوپرگنتولون تعدیل می کند و احتمالاً از این طریق اثرات ضد دردی و ضد اضطرابی خود را اعمال می کند (۴). اثر ضد تشنجی پروژسترون ممکن است از مهار پیش سیناپسی آزاد سازی گلو تامات در هیپوکامپ (۳۳)، یا تداخل در گیرنده های گابا-A باشد (۳۴). مطالعات نشان داده اند که گیرنده های اویپوئیدی نقش مهمی در تعدیل شاخص های تشنج دارند. این اثر اویپوئیدها با مهار مسیرهای تحریکی و افزایش فعالیت سیستم گابا آرژیک مرکزی میانجی گری می شود (۲۳). مورفین اثرات متفاوتی بر آستانه حملات تشنجی را بر اساس مقدار و مدل تشنج اعمال می کند (۲۴). نالوکسان، آنتاگونیست اویپوئیدی، به تنهایی و با مقادیر مورد استفاده در این تحقیق اثری بر علائم تشنج ناشی از استریکنین نداشته است، گزارش های متفاوتی از اثر نالوکسان بر تشنج در مدل های مختلف وجود دارد. برخی از این مطالعات بی اثر بودن، نالوکسان در مقادیر کم، را نشان داده اند (۳۵).

از طرف دیگر تزریق مرکزی نالوکسان به درون سپتوم میانی (۳۶) و آمیگدال (۳۷) موجب تشنج می شود، در حالی که این دارو با مقادیر کم علائم تشنج را در بعضی مدل ها کاهش می دهد (۳۸). این اثرات متفاوت نالوکسان ممکن است به مقدار دارو و مدل تشنجی در حیوانات آزمایشگاهی وابسته باشد. در این تحقیق مقادیری از نالوکسان، که اثری بر تشنج ناشی از استریکنین نداشت، اثر ضد تشنجی پروژسترون را کاهش داده است. بر این اساس به نظر می رسد که گیرنده های اویپوئیدی اثرات ضد تشنجی پروژسترون را میانجی گری کنند. تداخل اثرات پروژسترون و سیستم اویپوئیدی در برخی فرایندهای فیزیولوژیک از قبیل درد نیز گزارش شده است (۲۶، ۳۴). هم چنین این دو سیستم در تنظیم تحریک پذیری سیستم عصبی دخالت دارند (۴).

از طرف دیگر با توجه به این که حداقل بخشی از اثرات پروژسترون و گیرنده های اویپوئیدی از طریق سیستم گابا آرژیک میانجی گری می گردد، ممکن است که دخالت

منابع

- Schauwecker PE, Wood RI, Lorenzana A. Neuroprotection against excitotoxic brain injury in mice after ovarian steroid depletion. *Brain research*. 2009;1265:37-46.
- Borowicz K, Piskorska B, Stepniak B, Czuczwar S. Effects of fluoxetine on the anticonvulsant action of valproate and ethosuximide in mouse model of myoclonic convulsions. *Annals of agricultural and environmental medicine: AAEM*. 2012;19(3):487-90.
- Heidari M, Assadipour A, Rashid-Farokhi P, Assad H, Mandegary A. Effect of Rosmarinus officinalis L. Extract on the seizure induced by picrotoxin in mice. *Pakistan J Biol Sci*. 2005;8(12):1807-11.
- Gholipour T, Jabbarzadeh A, Riazi K, Rasouli A, Nezami BG, Sharifzadeh M, et al. Role of nitric oxide in the anticonvulsive effect of progesterone. *Epilepsy & Behavior*. 2008;13(4):579-84.
- Khavandgar S, Homayoun H, Dehpour AR. Mediation of nitric oxide in inhibitory effect of morphine against electroshock-induced convulsions in mice. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 2003;74(4):795-801.
- Verrotti A, D'Egidio C, Agostinelli S, Verrotti C, Pavone P. Diagnosis and management of catamenial seizures: a review. *International Journal of Women's Health*. 2012;4:535-41.
- Lonsdale D, Nylen K, McIntyre Burnham W. The anticonvulsant effects of progesterone and its metabolites on amygdala-kindled seizures in male rats. *Brain research*. 2006;1101(1):110-6.
- Baulieu E-E, Schumacher M. Progesterone as a neuroactive neurosteroid, with special reference to the effect of progesterone on myelination. *Steroids*. 2000;65(10):605-12.
- Veiga S, Melcangi RC, DonCarlos LL, Garcia-Segura LM, Azcoitia I. Sex hormones and brain aging. *Experimental gerontology*. 2004;39(11):1623-31.
- Stein DG. Progesterone exerts neuroprotective effects after brain injury. *Brain research reviews*. 2008;57(2):386-97.
- Pfaff D, Arnold A, Stegen A, Fahrbach S, Rubin R. *Hormones, Brain and Behavior*. 2nd ed. Academic press. 2009.
- Brinton RD, Thompson RF, Foy MR, Baudry M, Wang J, Finch CE, et al. Progesterone receptors: form and function in brain. *Frontiers in neuroendocrinology*. 2008;29(2):313-39.
- Rupprecht R. Neuroactive steroids: Mechanisms of action and neuropsychopharmacological properties. *Psychoneuroendocrinology*. 2003.
- Singh M. Progesterone-induced neuroprotection. *Endocrine*. 2006;29(2):271-4.
- Slamberová R, Rimanóczy Á, Riley MA, Schindler CJ, Vathy I. Mu-opioid receptors in seizure-controlling brain structures are altered by prenatal morphine exposure and by male and female gonadal steroids in adult rats. *Brain research bulletin*. 2002;58(4):391-400.
- Bum EN, Pelanken M, Njikam N, Talla E, Taiwe G, Nkantchoua G, et al. The decoction of leaves of Phyllanthus discoideus possesses anticonvulsant and sedative properties in mice. *IJP-International Journal of Pharmacology*. 2009;5(2):168-72.
- Luszczki J, Plech T, Wujec M. Influence of 5-(3-chlorophenyl)-4-(4-methylphenyl)-2, 4-dihydro-3H-1, 2, 4-triazole-3-thione on the anticonvulsant action of 4 classical antiepileptic drugs in the mouse maximal electroshock-induced seizure model. *Pharmacological reports: PR*. 2012;64(4):970-8.
- Ojewole JA, Amabeoku GJ. Anticonvulsant and Analgesic Effects of Harpephyllum caffrum Bernh. ex CF Krauss [Anacardiaceae] Stem-Bark Aqueous Extract in Mice. *International Journal of Pharmacology*. 2007;3:241-7.
- Umukoro S, Ashorobi R, Esseini E. Anticonvulsant and Anxiolytic Effects of Calcium Channel Blockers in Mice. *Journal of Medical Sciences*. 2006;6:1021-4.
- Homayoun H, Khavandgar S, Namiranian K, Gaskari SA, Dehpour AR. The role of nitric oxide in anticonvulsant and proconvulsant effects of morphine in mice. *Epilepsy research*. 2002;48(1):33-41.

21. Yahyavi-Firouz-Abadi N, Tahsili-Fahadan P, Riazi K, Ghahremani MH, Dehpour AR. Melatonin enhances the anticonvulsant and proconvulsant effects of morphine in mice: role for nitric oxide signaling pathway. *Epilepsy research*. 2007;75(2):138-44.
22. Bausch SB, Esteb TM, Terman GW, Chavkin C. Administered and Endogenously Released KappaOpioids Decrease Pilocarpine-Induced Seizures and Seizure-Induced Histopathology. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1998;284(3):1147-55.
23. Honar H, Riazi K, Homayoun H, Sadeghipour H, Rashidi N, Ebrahimkhani M, et al. Ultra-low dose naltrexone potentiates the anticonvulsant effect of low dose morphine on clonic seizures. *Neuroscience*. 2004;129(3):733-42.
24. Shafaroodi H, Asadi S, Sadeghipour H, Ghasemi M, Ebrahimi F, Tavakoli S, et al. Role of ATP-sensitive potassium channels in the biphasic effects of morphine on pentylenetetrazole-induced seizure threshold in mice. *Epilepsy research*. 2007;75(1):63-9.
25. Weiland NG, Wise PM. Estrogen and progesterone regulate opiate receptor densities in multiple brain regions. *Endocrinology*. 1990;126(2):804-8.
26. Dawson-Basoa ME, Gintzler AR. Estrogen and progesterone activate spinal kappa-opiate receptor analgesic mechanisms. *Pain*. 1996;64(1):169-77.
27. Sinchak K, Micevych PE. Progesterone blockade of estrogen activation of μ -opioid receptors regulates reproductive behavior. *The Journal of Neuroscience*. 2001;21(15):5723-9.
28. Löscher W, Hönack D, Fassbender CP, Nolting B. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. III. Pentylenetetrazole seizure models. *Epilepsy research*. 1991;8(3):171-89.
29. Yamaguchi S-i, Rogawski MA. Effects of anticonvulsant drugs on 4-aminopyridine-induced seizures in mice. *Epilepsy research*. 1992;11(1):9-16.
30. Holmes GL, Weber DA. The effect of progesterone on kindling: a developmental study. *Developmental Brain Research*. 1984;16(1):45-53.
31. Hoffman G, Moore N, Fiskum G, Murphy A. Ovarian steroid modulation of seizure severity and hippocampal cell death after kainic acid treatment. *Experimental neurology*. 2003;182(1):124-34.
32. Reddy DS, Castaneda DC, O'Malley BW, Rogawski MA. Anticonvulsant activity of progesterone and neurosteroids in progesterone receptor knockout mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2004;310(1):230-9.
33. Edwards H, Epps T, Carlen P, J MacLusky N. Progestin receptors mediate progesterone suppression of epileptiform activity in tetanized hippocampal slices in vitro. *Neuroscience*. 2000;101(4):895-906.
34. Gruber CJ, Huber JC. Differential effects of progestins on the brain. *Maturitas*. 2003;46:71-5.
35. de Lima TCM, Rae GA. Effects of cold-restraint and swim stress on convulsions induced by pentylenetetrazol and electroshock: influence of naloxone pretreatment. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1991;40(2):297-300.
36. Mizuno T, Kimura F. Medial septal injection of naloxone elevates acetylcholine release in the hippocampus and induces behavioral seizures in rats. *Brain research*. 1996;713(1):1-7.
37. Ikonomidou-Turski C, Cavalheiro E, Turski W, Bortolotto Z, Turski L. Convulsant action of morphine, [D-Ala2, D-Leu5]-enkephalin and naloxone in the rat amygdala: Electroencephalographic, morphological and behavioural sequelae. *Neuroscience*. 1987;20(2):671-86.
38. Wong R, Gray-Allan P. Effects of naloxone on seizure latencies of black (a/a) Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Behavior genetics*. 1991;21(5):487-93.
39. Anand R, Gulati K, Ray A. Pharmacological evidence for the role of nitric oxide in the modulation of stress induced anxiety by morphine in rats. *European journal of pharmacology*. 2011; 676:71-4.