

بررسی اثر تزریق داخل بطن مغزی گالانین و مورفین بر غلظت هورمون‌های تیروئیدی (T_۳ و T_۴) در موش صحرائی نر

- فرزانه حق‌نظری*: گروه جانور شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
- همایون خزعلی: گروه جانور شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
- سینا تقویمی: گروه جانور شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۳

چکیده

مطالعات گذشته نشان داده‌اند که گالانین پپتید ارکسیژنیک است و فعالیت محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - تیروئید را مهار می‌کند. گالانین موجب افزایش دریافت غذا از طریق مسیر نوروپپتیدی Y می‌شود. مورفین اپیات آکالوئیدی است که از طریق تاثیر بر Agouti Related Protein و افزایش فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک در median eminence بر غلظت هورمون‌های تیروئیدی موثر است. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر برهمکنش گالانین و مورفین بر غلظت هورمون‌های تیروئیدی است. ۲۱ عدد موش صحرائی نر از نژاد Wistar (۲۰۰-۲۵۰ گرم) به‌طور تصادفی به ۳ گروه تقسیم شدند. گروه‌ها ۲۰۰ نانوگرم گالانین، ۱ میکروگرم مورفین و یا ۲۰۰ نانوگرم گالانین به‌همراه ۱ میکروگرم مورفین را در حجم ۳ میکرولیتر از طریق بطن سوم مغز دریافت نمودند. نمونه‌های خونی یک روز قبل و تا ۲۴ ساعت بعد از تزریق جمع‌آوری شدند. پلاسمای خونی جهت تعیین میزان هورمون‌های T_۳ و T_۴ به روش Radio Immunoassay آنالیز گردید. جهت اطمینان از صحت کانول گذاری، برش‌گیری از مغز صورت گرفت. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که گالانین یا مورفین میزان هورمون‌های تیروئیدی را در مقایسه با قبل از تزریق به‌طور معنی‌داری کاهش دادند (P<۰/۰۵). تزریق هم‌زمان گالانین و مورفین منجر به تاثیر مهاری بیش‌تری بر فعالیت محور HPT می‌شود (P<۰/۰۵).

کلمات کلیدی: گالانین، مورفین، T_۳، T_۴، تزریق ICV



مقدمه

محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تیروئید از طریق هورمون‌های تیروئیدی نقش مهمی در تنظیم تعادل انرژی و متابولیسم پایه بدن بر عهده دارد. هورمون T_3 از نظر عملی از هورمون T_4 فعال‌تر است. مطالعات نشان داده است برهم‌کنش فاکتورهای عصبی، محیطی و هورمونی متعددی در ترشح هورمون‌های تیروئیدی و در نتیجه تعدیل وزن بدن دخالت دارند. میزان هورمون‌های تیروئیدی در طی گرسنگی در انسان و جوندگان کاهش می‌یابد. کاهش هورمون‌های تیروئیدی در حین گرسنگی یک فرایند سازشی بوده تا سوخت و ساز بدن در هنگام پایین بودن سطح انرژی تعدیل شود (Blake و همکاران، ۱۹۹۱).

گالانین پپتید ۲۹ اسیدآمینه‌ای است و اولین بار توسط Tatemoto و همکاران (۱۹۸۳) از روده خوک استخراج شد. در انسان ژن گالانین روی کروموزوم شماره ۱۱ جای دارد و شامل ۶ اگزون و ۵ اینترون می‌باشد. توالی گالانین انسانی با داشتن یک بنیان سرین اضافی و انتهای کربوکسیلی که آمیدی شده است با توالی‌های شناخته شده در سایر گونه‌ها تفاوت دارد این پپتید به دلیل وجود دو اسیدآمینه گلیسین و آلانین در دو انتهای آمین و کربوکسیل خود، گالانین نامیده شده است. بیش‌ترین مقدار آن در برجستگی میانی و هیپوتالاموس دیده شده است (Andrew و همکاران، ۲۰۰۱، Saleri و همکاران، ۱۹۹۹). گالانین در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی هم‌چون غذا خوردن، حفظ وزن بدن و رشد و تولیدمثل نقش دارد (Scheffen و همکاران، ۲۰۰۳). مطالعات نشان داده گالانین علاوه بر افزایش هورمون رشد در انسان، رت و گوسفند (Perumal و Vrontakis، ۲۰۰۳) باعث افزایش ترشح پرولاکتین (Mgnnistb و همکاران، ۱۹۸۴) و افزایش ترشح ACTH می‌شود (Tortorella و همکاران، ۲۰۰۷). تحقیقات نشان می‌دهد نورون‌های ترشح کننده گالانین در سطح PVN بر روی نورون‌های ترشح کننده TRH منشعب می‌شوند (Feketo و همکاران، ۲۰۰۴). تزریق گالانین در گاو و بز کاهش سطح هورمون‌های T_3 و T_4 را به دنبال کاهش سطح TSH نشان می‌دهد (Shamsollahi و همکاران، ۲۰۰۸). مورفین ترکیب آلکالوئیدی است که از گیاه خشخاش استخراج می‌شود و اثرات فیزیولوژیکی خود را از طریق اتصال به گیرنده میوی (μ) اپیوئیدها که در دستگاه اعصاب مرکزی و محیطی شناسایی شده‌اند اعمال می‌کند. مطالعاتی که تاکنون درباره اثرات اپیوئیدها بر هورمون‌های تیروئیدی انجام شده متناقض می‌باشد. بررسی‌ها نشان می‌دهد در شرایط استرس‌زا هم‌چون افزایش و کاهش دما و کمبود اکسیژن غلظت پلاسمایی

هورمون T_3 و T_4 کاهش می‌یابد که این اثر با دخالت اپیوئیدها انجام می‌شود (Tian, Ji-zeng, و Rampinini، ۲۰۰۲؛ همکاران، ۱۹۸۹). تحقیقات دیگر نشان می‌دهد مصرف حاد (Idanpaan و همکاران، ۱۹۹۶؛ Berglund و همکاران، ۱۹۹۰) و مزمن مورفین (Bhargava و همکاران، ۱۹۸۹) سبب کاهش TSH پلاسمایی می‌شود. درحالی‌که برخی گزارشات به عدم تغییر TSH در اثر مصرف مورفین (Bhargava و همکاران، ۱۹۸۹) اشاره دارند. در مطالعات دیگر اثر کوتاه مدت مورفین مورد بررسی قرار گرفته و مشاهده شده است که مورفین به شکل حاد سبب افزایش T_3 و T_4 می‌شود که پس از ۶۰ دقیقه تمایل به بازگشت به سطح اولیه را دارد (Tal و همکاران، ۱۹۸۴). درحالی‌که در مطالعات دیگر کاهش سطح TSH، T_3 و T_4 به دنبال مصرف کوتاه مدت مورفین گزارش شده است (Hochberg و همکاران، ۲۰۰۳).

از آن‌جا که علاوه بر تغییرات میزان اشتها، تغییرات هورمون‌های تیروئیدی نیز نقش مهمی در تنظیم متابولیسم و وزن بدن ایفا می‌کنند به طوری که کاهش هورمون‌های تیروئیدی منجر به افزایش وزن بدن و برعکس افزایش آن‌ها منجر به لاغری می‌شود. بنابراین هدف از تحقیق، بررسی اثر برهم‌کنش گالانین و مورفین بر میانگین غلظت هورمون‌های تیروئیدی T_3 و T_4 می‌باشد.

مواد و روش‌ها

۲۱ عدد موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم (خریداری شده از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه شهید بهشتی تهران) به‌طور انفرادی در قفس‌های جداگانه تحت شرایط کنترل دمایی (22 ± 2 درجه سانتی‌گراد) و نور (۱۲ ساعت روشنایی / ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند و آب و غذا آزادانه در اختیار آن‌ها قرار گرفت. حیوانات به ۳ گروه ۷ تایی تقسیم شدند: تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۲۰۰ نانوگرم گالانین، ۱ میکروگرم مورفین و ۲۰۰ نانوگرم گالانین و ۱ میکروگرم مورفین در حجم ۳ میکرولیتر به مدت یک روز به صورت Intracerebral Ventricle در بین ساعت ۸ تا ۱۰ صبح دریافت کردند. دوزهای انتخابی با مراجعه به مطالعات قبلی دوزها که موثر بودند انتخاب شدند (Ottlecz و همکاران، ۱۹۸۸؛ Mgnnistb و همکاران، ۱۹۸۴). به منظور شروع جراحی، بی‌هوشی توسط تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین و زایلین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کتامین + ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن زایلین) انجام شد. به کمک روش استرئوتاکسی و با استفاده از اطلس Paxinos و Watson (۱۹۹۶) مختصات بطن سوم مشخص گردید

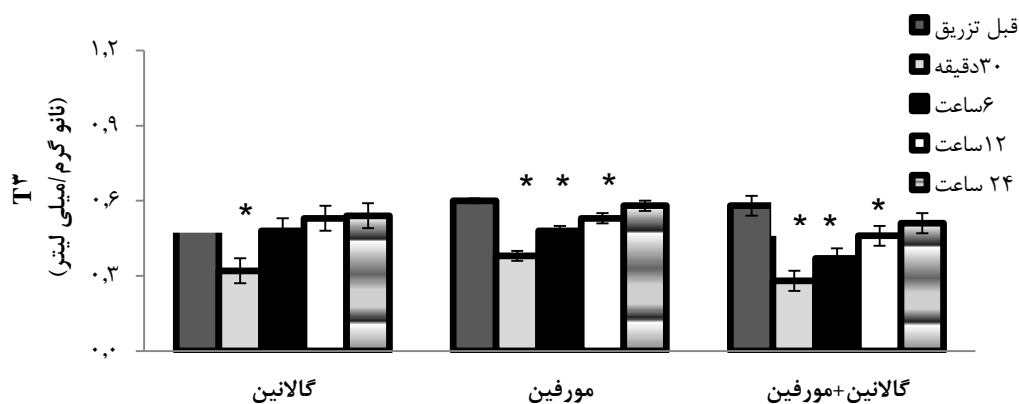


استفاده از نرم افزار SPSS ۱۱ و نرم افزار Excel ۲۰۰۷ انجام گرفت ($P < 0/05$).

نتایج

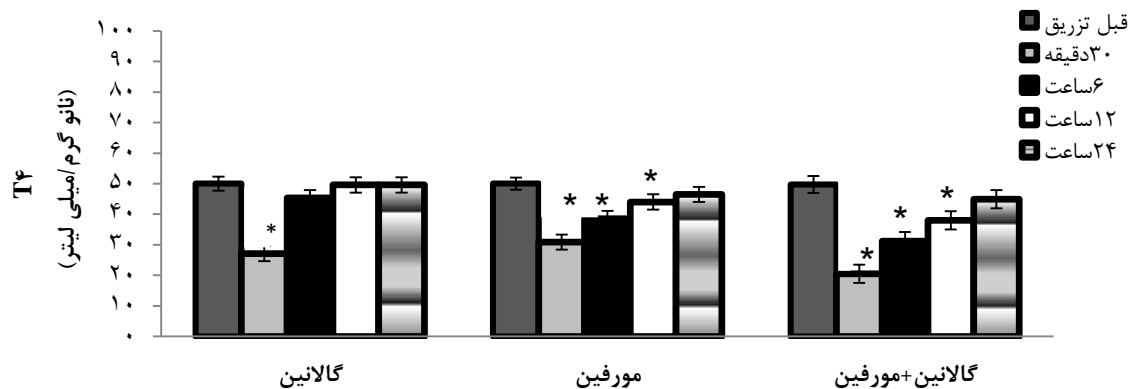
مقادیر به دست آمده از اثر تزریق درون بطنی گالانین یا مورفین نشان می دهد که تزریق گالانین یا مورفین میانگین غلظت پلاسمایی هورمون T_3 را نسبت به قبل از تزریق به طور معنی داری کاهش دادند که به ترتیب برای گالانین در زمان ۳۰ دقیقه، $42/85\%$ و برای مورفین در زمان های ۳۰ دقیقه، ۶ و ۱۲ ساعت به ترتیب $36/66\%$ ، 20% و $11/66\%$ بود ($P < 0/05$) (شکل ۱). همچنین مقادیر به دست آمده از اثر تزریق درون بطنی گالانین یا مورفین نشان می دهد که تزریق گالانین یا مورفین میانگین غلظت پلاسمایی هورمون T_4 را نسبت به قبل از تزریق به طور معنی داری کاهش دادند که به ترتیب برای گالانین در زمان ۳۰ دقیقه، $45/79\%$ و برای مورفین در زمان های ۳۰ دقیقه، ۶ و ۱۲ ساعت به ترتیب $38/26\%$ ، $22/94\%$ و $12/07\%$ بود ($P < 0/05$) (شکل ۲). تزریق درون بطنی گالانین به همراه مورفین نیز در زمان های ۳۰ دقیقه، ۶ و ۱۲ ساعت به ترتیب میانگین غلظت پلاسمایی هورمون T_3 را $51/72\%$ ، $36/20\%$ و $20/69\%$ و هورمون T_4 را $58/76\%$ و $37/34\%$ و $23/57\%$ به طور معنی داری کاهش داد ($P < 0/05$) (شکل های ۱ و ۲). به عنوان مقایسه گالانین میزان هورمون های T_3 و T_4 را نسبت به مورفین به میزان بیشتری کاهش داد و تزریق هم زمان گالانین و مورفین در مقایسه با مورفین و گالانین به تنهایی، میانگین غلظت هورمون های T_3 و T_4 را به میزان بیشتری کاهش داده است.

از سرسرنگ درجه ۲۲ انجام گرفت و کانول توسط سه پیچ عینک و سیمان دندان پزشکی تثبیت شد و پس از انتقال هر حیوان به قفس انفرادی به مدت یک هفته به حیوان اجازه بهبودی داده شد. برای تزریق از سرسرنگ شماره ۲۷ که به اندازه نیم میلی متر بزرگ تر از کانول ساخته شده و از طریق لوله رابط پلی اتیلنی به سرنگ هامیلتون ۵ میکرولیتری متصل و تزریقات به مدت ۳۰ ثانیه به آرامی از طریق کانول به بطن سوم حیوانات تزریق می گردید. برای خون گیری ابتدا با قرار دادن حیوان در قفس رستینر و خون گیری از ورید دم انجام شد. خون گیری به صورت یک روز قبل از تزریق و ۳۰ دقیقه، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت بعد از تزریق انجام شد. پلاسمای نمونه ها بلافاصله به کمک دستگاه سانتریفیوژ تهیه و تا هنگام تجزیه آزمایشگاهی در فریزر -20°C درجه سانتی گراد نگهداری شد. در پایان آزمایشات برای اطمینان از محل صحیح کانول گذاری عمل برش گیری با دستگاه Vibroslicer انجام شد و نمونه های برشی به قطر $150-200$ میکرومتر از بافت مغزی تهیه شد و محل تزریق مورد بررسی قرار گرفت تا برای تفسیر نتیجه آزمایشات تنها نمونه هایی که محل تزریق با مختصات مورد نظر تطابق داشت مورد استفاده قرار گیرند. میزان غلظت پلاسمایی هورمون های T_3 و T_4 با استفاده از روش RIA کیت های سنجش T_3 و T_4 اندازه گیری شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها به منظور بررسی اثر گالانین، مورفین و برهم کنش آن ها در دوره قبل و بعد تزریق از آزمون Multiple Measurement Repeated Analysis استفاده شد. انجام عملیات آماری و رسم نمودارها به ترتیب با



شکل ۱: اثر تزریق گالانین (۲۰۰ نانوگرم)، مورفین (۱ میکروگرم) و تزریق هم زمان گالانین و مورفین بر میانگین غلظت T_3 قبل و بعد از تزریق در بازه زمانی ۳۰ دقیقه، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تزریق ($P < 0/05$ معنی دار گزارش شده)





شکل ۲: اثر گالانین (۲۰۰ نانوگرم)، مورفین (۱ میکروگرم) و تزریق هم‌زمان گالانین و مورفین بر میانگین غلظت T_4 قبل و بعد از تزریق در بازه زمانی ۳۰ دقیقه ۱۲.۶ و ۲۴ ساعت پس از تزریق ($P < 0.05$ معنی‌دار گزارش شده)

شدن CRF فعال کرده (Bhargava و همکاران، ۱۹۸۹) و در نتیجه ترشح ACTH و کورتیزول را افزایش می‌دهد. ترشح TRH به وسیله ورودی‌های CRF تنظیم می‌شود و CRF آزاد شدن TRH را مهار می‌کند. افزایش فعالیت محور HPA سبب کاهش فعالیت محور HPT می‌شود (Swaab و همکاران، ۲۰۰۵).

مکانیسم احتمالی دیگر از طریق تاثیر گالانین بر ترشح هورمون رشد و سوماتوستاتین می‌باشد. سوماتوستاتین دارای اثر مهاري بر ترشح هورمون‌های تیروئیدی می‌باشد و با افزایش غلظت آن هورمون‌های تیروئیدی کاهش می‌یابد (Wilson و Foster، ۱۹۹۸). سوماتوستاتین به دنبال افزایش هورمون رشد افزایش می‌یابد. چون گالانین سبب افزایش هورمون رشد می‌شود بنابراین احتمال می‌رود گالانین با افزایش هورمون رشد و به دنبال آن افزایش سوماتوستاتین سبب کاهش هورمون‌های تیروئیدی شود (Perumal و Vrontakis، ۲۰۰۳). مکانیسم احتمالی آخر گالانین در کاهش هورمون‌های تیروئیدی از طریق کاهش غلظت لپتین قابل توجه می‌باشد. اتصال لپتین به گیرنده خود (ob-R) در سطح نوروهای NPY و AgRP و سبب هایپرپلاریزه شدن نوروترانسسمیتر GABA شده و نوروهای POMC را از حالت مهاری آزاد می‌کند (Ellacott و Cone، ۲۰۰۳). لپتین هم‌چنین به گیرنده‌های خود در سطح نوروهای POMC متصل شده و با دپلاریزه کردن این نوروها سبب افزایش فعالیت آن‌ها و افزایش هورمون‌های تیروئیدی می‌شود (Ellacott و Cone، ۲۰۰۳). تزریق گالانین باعث کاهش معنی‌دار غلظت پلاسمایی لپتین در موش صحرائی می‌شود (Li و همکاران، ۲۰۰۴). بنابراین گالانین ممکن است با

بحث

نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها نشان می‌دهد که گالانین در این تحقیق در زمان ۳۰ دقیقه سبب کاهش معنی‌دار میانگین غلظت هورمون‌های T_4 و T_3 در دوره بعد از تزریق نسبت به دوره قبل از تزریق می‌شود. میزان کاهش در هورمون T_4 نسبت به هورمون T_3 مشهودتر است. نتایج این آزمایش، با نتایج مطالعات Ottlecz و همکاران (۱۹۸۸) که بر روی رت انجام شده و نتایج Shamsollahi (۲۰۰۸) که بر روی بز صورت گرفته بود مطابقت دارد. یک مکانیسم احتمالی تاثیر کاهشی گالانین بر هورمون‌های تیروئیدی از طریق نوروپپتید Y قابل توجه است. مطالعات گذشته حضور NPY در هسته ARC و PVN هیپوتالاموس را گزارش دادند (Feketo و همکاران، ۲۰۰۴). در طی گرسنگی، تمایل NPY به هسته‌های PVN و ARC و هم‌چنین بیان ژن NPY در هسته ARC و PVN افزایش می‌یابد (Sahu، ۲۰۰۵). گالانین با سیستم NPY بر هم‌کنش داشته و منجر به تحریک ترشح NPY از نوروهای هیپوتالاموسی می‌شود (۴). گزارشات نشان داده است که NPY در هیپوتالاموس اثری مهاری روی سلول‌های TRH هسته PVN اعمال می‌کند و در طی گرسنگی با فعال شدن نوروهای NPY در هسته ARC تولید TRH و TSH را مهار می‌کند (Bhargava و همکاران، ۱۹۸۹). مکانیسم احتمالی دیگر در تاثیر کاهشی گالانین بر هورمون‌های تیروئیدی از طریق تاثیر گالانین بر محور هیپوتالاموسی هیپوفیزی آدرنال قابل توجه است. گالانین محور HPA را به وسیله تحریک آزاد



و مورفین بر میانگین غلظت هورمون‌های تیروئیدی می‌توان مکانیسم احتمالی زیر را در نظر گرفت که:

همان‌طور که گفته شد سلول‌های تولیدکننده TRH تحت تنظیم NPY است. NPY هیپوتالاموسی اثری مهاری را روی سلول‌های TRH هسته PVN اعمال می‌کند و در طی گرسنگی با فعال شدن نورون‌های NPY در هسته آرکتوت تولید TRH و TSH را مهار می‌کند (Fuxe و همکاران، ۱۹۸۹؛ Harfstrand و همکاران، ۱۹۸۷). علاوه بر ارتباط مستقیم نورون‌های NPY با نورون‌های TRH، این نوروپپتید قادر است میزان فعالیت نورون‌های ترشح کننده دوپامین را در ناحیه توبراینفاندیولار افزایش دهد (Fuxe و همکاران، ۱۹۸۹). به این ترتیب سطح بالای دوپامین علاوه بر این که منجر به کاهش رهاسازی TRH از ناحیه برجستگی میانی می‌گردد، آزادسازی TSH از هیپوفیز قدامی را نیز کاهش می‌دهد و در نهایت موجب کاهش فعالیت محور هیپوتالاموس، هیپوفیز، تیروئید می‌شود (Hedg و Judd، ۱۹۸۲). بنابراین دوپامین به‌عنوان یک عامل مشترک در راه‌اندازی اثر کاهشی گالانین و پپتیدهای اپیوئیدی بر کنترل ترشح هورمون‌های تیروئیدی می‌باشد. بدین ترتیب علاوه بر تاثیر مورفین در افزایش دوپامین و به‌دنبال آن کاهش هورمون‌های تیروئیدی، احتمالاً افزایش ترشح NPY ناشی از سطح بالای گالانین و به‌دنبال آن افزایش فعالیت نورون‌های ترشح‌کننده دوپامین منجر به کاهش بیش‌تر فعالیت محور HPT می‌گردد.

نتیجه‌گیری کلی از این تحقیق بیان‌گر آن است که گالانین یا مورفین باعث کاهش معنی‌دار میانگین غلظت هورمون‌های تیروئیدی می‌شود. برهم‌کنش گالانین و مورفین نیز منجر به تاثیر مهاری بیش‌تری بر محور HPT می‌شود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی انجام شد. بدین‌وسیله از مسئولین محترم تشکر و سپاسگزاری به‌عمل می‌آید.

منابع

1. Andersson, K. and Eneroth, P., ۱۹۸۷. Thyroidectomy and central catecholamine neurons of the male rat. Evidence for the existence of an inhibitory dopaminergic mechanism in the external layer of the median eminence and for a facilitatory noradrenergic mechanism in the paraventricular hypothalamic nucleus regulating TSH secretion. Neuroendocrinology. Vol. ۴۵, pp: ۱۴-۲۷.

کاهش غلظت لپتین سبب کاهش هورمون‌های تیروئیدی شود. تزریق درون بطنی دوز موثر مورفین در زمان‌های ۳۰ دقیقه، ۶ و ۱۲ ساعت موجب کاهش معنی‌دار سطح پلاسمایی هورمون‌های تیروئیدی T_3 و T_4 می‌گردد و میزان کاهش در هورمون T_4 نسبت به هورمون T_3 مشهودتر است. نتایج حاصل از این آزمایش با نتایج تحقیقات Hochberg و همکاران (۲۰۰۳) که کاهش هورمون‌های T_3 و T_4 را به‌دنبال مصرف کوتاه مدت مورفین گزارش کرد مطابقت دارد. مکانیسم احتمالی اول این است که مورفین اثری مستقیم بر فعالیت نورون‌های ناحیه PVN داشته و منجر به کاهش فعالیت نورون‌های این ناحیه می‌شود. افزایش در میزان پپتیدهای اپیوئیدی منجر به افزایش فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک می‌شود مقادیر بالای دوپامین در ناحیه برجستگی میانی بر رهاسازی TRH از نورون‌های سازنده آن اثر مهاری دارد و در نهایت منجر به کاهش آزادسازی TSH از سلول‌های تیروتروپ که در هیپوفیز قدامی قرار دارد می‌گردد (Andersson و Eneroth، ۱۹۸۷؛ Hedg و Judd، ۱۹۸۲). به‌عنوان مکانیسم احتمالی دوم تاثیر کاهشی مورفین بر هورمون‌های تیروئیدی می‌توان گفت که نورون‌های تولیدکننده α -MSH، نورون‌های TRH در هسته PVN را عصب‌دهی می‌کنند و تزریق مرکزی α -MSH از کاهش بیان ژن TRH که به‌وسیله سیری تحریک می‌شود و هم‌چنین از کاهش سطح هورمون‌های تیروئیدی جلوگیری می‌کند (Malendowicz و همکاران، ۲۰۰۱). محققان با تزریق α -MSH به‌صورت مرکزی مشاهده کردند که سطح TRH افزایش می‌یابد و هم‌چنین α -MSH قادر است در محیط *in vitro* با اثر بر قطعه‌های هیپوتالاموسی آزاد شدن TRH را تحریک کند (Kerdelhue و همکاران، ۱۹۸۵). مورفین با افزایش بیان نورون‌های AgRP و افزایش ترشح آن‌ها از هسته قوسی به‌عنوان مهارکننده درونی گیرنده‌های مربوط به α -MSH ($MCR3$ و $MCR4$) عمل کرده و سبب مهار α -MSH می‌شود (Ren و همکاران، ۲۰۱۳؛ Jöhren و همکاران، ۲۰۰۱). مورفین هم‌چنین منجر به افزایش بیان NPY شده (Ren و همکاران، ۲۰۱۳) و طبق مکانیسم‌های شرح داده شده درباره گالانین منجر به کاهش ترشح هورمون‌های تیروئیدی می‌شود.

نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها نشان می‌دهد که برهم‌کنش گالانین و مورفین در این تحقیق سبب کاهش معنی‌دار میانگین غلظت هورمون‌های T_3 و T_4 در زمان‌های ۳۰ دقیقه، ۶ و ۱۲ ساعت در دوره بعد تزریق نسبت به دوره قبل از تزریق می‌شود. با توجه به نتیجه به‌دست آمده و میزان کاهش بیش‌تر برهم‌کنش گالانین



۱۸. Malendowicz, L.K.; Nowak, K.W.; Neri, G.; Kaczmarek, P.; Ziolkowska, A.; Ginda, W.J. and Trejter, M., ۲۰۰۱. Effect of Prolonged Orexin A and B Administration on the Pituitary-Thyroid Axis in the Rat. *Biomed Res.* Vol. ۲۲, pp: ۲۲۹-۲۳۴.
۱۹. Mechencher, I., ۲۰۰۸. Galanin and the neuroendocrine axes. *Cell Mol Life Sci.* Vol. ۶۰, pp: ۱۸۲۶-۱۸۳۰.
۲۰. Mgnnistb, P.T.; Raubala, P.; Tuominen, R. and Mattila, J., ۱۹۸۴. Dual action of Morphine on Cold Stimulated Thyrotropin Secretion in Male Rats. *Life Sci.* Vol. ۳۰, pp: ۱۱۰۱-۱۱۰۷.
۲۱. Ottlecz, A.; Snyder, G.D. and Mccann, S.M., ۱۹۸۸. Regulatory role of galanin in control of hypothalamic-anterior pituitary function. *Physiological Sciences.* Vol. ۸۰, pp: ۹۸۶۱-۹۸۶۰.
۲۲. Paxinos, G. and Watson, C., ۱۹۸۶. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates.* ۲nd ed. Academic Press, San Diego.
۲۳. Perumal, P. and Vrontakis, M.E., ۲۰۰۳. Transgenic mice over-expressing galanin exhibit pituitary adenomas and increased secretion of galanin, prolactin and growth hormone. *J Endocrinol.* Vol. ۱۷۹, pp: ۱۴۰-۱۰۴.
۲۴. Rampinini, A.; Iannotta, F.; Rizzuto, G.; Colombo, F.; Giuliani, F. and Parabiaqi, R., ۱۹۸۹. Effect of naloxan on TRH-induced PRL and TSH response in normal man. *Minerva Endocrinol.* Vol. ۱۴, pp: ۱۲۰-۱۲۸.
۲۵. Ren, X.; Lutf, K.; Mangubat, M.; Ferrini, M.G.; Lee, M.L.; Liu, Y. and Friedman, T.C., ۲۰۱۳. Alterations in Phosphorylated CREB Expression in Different Brain Regions following Short and Term Morphine Exposure: Relationship to Food Intake. *J Obes.* Vol. ۲۰۱۳, pp: ۷۴۲-۷۶۴.
۲۶. Sahu, A., ۲۰۰۲. Interactions of neuropeptide Y hypocertin-I (orexin A) and melanin- concentrating hormone on feeding in rats. *Brain Res.* Vol. ۹۴۴, pp: ۲۳۲-۲۳۸.
۲۷. Saleri, R.; Baratta, M.; Renaville, R.; Portetelle, D.; Coy, D.H.; Giustina, A. and Tamanini, C., ۱۹۹۹. Effects of galanin infusion on GH secretion and GHRH-induced GH release in prepubertal male lambs. *Life sciences.* Vol. ۲۳, pp: ۲۳۱-۲۳۷.
۲۸. Scheffen, J.R.; Splett, C.L.; Desotelle, J.A. and Bauer Dantoine, A.C., ۲۰۰۳. Testosterone-Dependent Effects of Galanin on Pituitary Luteinizing Hormone Secretion in Male Rats. *Biol Reprod.* Vol. ۶۸, pp: ۳۶۳-۳۶۹.
۲۹. Shamsollahi, M.; Khazali, H.; Towhidi, A.; Zhandi, M.; Emami-Mibodi, M.A.; Mohammadi, Y. and Ahmadi, M., ۲۰۰۸. Effect of intravenous injection of galanin on plasma concentrations of growth hormone, thyroid hormones and milk production in the Saanen goat. *A J B.* Vol. ۷, pp: ۳۰۱۱-۳۰۱۴.
۳۰. Swaab, D.F.; Bao, A.M. and Lucassen, P.J., ۲۰۰۰. The stress in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing Res Rev.* Vol. ۴, pp: ۱۴۱-۱۹۴.
۳۱. Tal, E.; Koranyi, L.; Kovacs, Z. and Endroczi, E., ۱۹۸۴. Short-term effect of morphine on the thyroid gland in male rats. *Acta Endocrinol.* Vol. ۱۰۰, pp: ۰۱۱-۰۱۴.
۳۲. Tatemoto, K.; Rokaeus, A. and Hornvall, J., ۱۹۸۳. McDonald TJ, Mutt V. Galanin-a novel biologically active peptide from porcine intestine. *FEBS Lett.* Vol. ۱۶۴, pp: ۱۲۴-۱۲۸.
۳۳. Tian, H. and Ji-zeng, D., ۲۰۰۲. Beta-endorphin suppresses of thyrotropin-releasing hormone in rat hypothalamus during acut hypoxia exposure. *Acta Pharmacol.* Vol. ۲۲, pp: ۸۷۸-۸۸۱.
۳۴. Tortorella, C.; Neri, G. and Nussdorfer, G.G., ۲۰۰۷. Galanin in the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Int J Mol Med.* Vol. ۱۹, pp: ۶۳۹-۶۴۷.
۳۵. Wilson, J.D. and Foster, D.W., ۱۹۹۸. Editors. *Williams text book of Endocrinology.* ۴th ed. Philadelphia: Saunders Company.
۲. Andrew, L.G.; Tanya, C.D.B. and Jari, A.L., ۲۰۰۱. Distribution. Regulation and role of hypothalamic galanin systems: renewed interest in a pleiotropic peptide family. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* Vol. ۲۸, pp: ۱۰۰-۱۰۰.
۳. Berglund, L.A.; Millard, W.J.; Gabriel, S.M. and Simpkins, J.W., ۱۹۹۰. Opiate-thyroid hormone interactions in the regulation of thyrotropin secretion in the rat. *Neuroendocrinology.* Vol. ۰۲, pp: ۳۰۳-۳۰۸.
۴. Bergonzelli, G.E.; Pralong, F.P.; Glauser, M.; Cavadas, C.; Grouzmann, E. and Gaillard, R.C., ۲۰۰۱. Interplay between galanin and leptin in the hypothalamic control of feeding via corticotropin-releasing hormone and neuropeptide Y. *Diabetes.* Vol. ۰۰, pp: ۲۶۶۶-۲۶۷۲.
۵. Bhargava, H.N.; Sumantra, D.; Myalrao, B. and Rameshwar, P., ۱۹۸۹. The binding of ^۳H-(γ -MeHis^۳) thyrotropin releasing hormone to brain and pituitary membranes of morphine tolerant-dependent and abstinent rats. *Pharmacol Biochem Be.* Vol. ۳۴, pp: ۷-۱۲.
۶. Blake, N.G.; Eckland, D.J.; Foster, O.J. and Lightman, S.L., ۱۹۹۱. Inhibition of hypothalamic thyrotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid during food deprivation. *Endocrinology.* Vol. ۱۲۹, pp: ۲۷۱۴-۲۷۱۸.
۷. Ellacott, K.L. and Cone, R.D., ۲۰۰۳. The central melanocortin system and the integration of short- and long-term regulators of energy homeostasis. *Recent Prog Horm Res.* Vol. ۰۹, pp: ۳۹۰-۴۰۸.
۸. Fekete, C.; Kelly, J.; Miha'ly, E.; Sarkar, S.; Rand W.M.; Le'gar'di, G.; Emerson, C.H. and Lechan, R.M., ۲۰۰۱. Neuropeptide Y Has a Central Inhibitory Action on the Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis. *Endocrinology.* Vol. ۱۴۲, pp: ۲۶۰۶-۲۶۱۳.
۹. Feketo, C.; Marks, D.L.; Sarkar, S.; Emerson, C.H.; Rand, W.M.; Cone, R.D. and Lechan, R.M., ۲۰۰۴. Effect of Agouti- Related Protein in regulation of the hypothalamic- pituitary-thyroid axis in the melanocortin receptor knockout mouse. *Endocrinology.* Vol. ۱۴۰, pp: ۴۸۱۶-۴۸۲۱.
۱۰. Fuxe, K.; Agnati, L.F. and Harfstrand, A., ۱۹۸۹. Studies on the neurochemical mechanisms underlying the neuroendocrine actions of neuropeptide Y. In: Mutt M (Editor), *Neuropeptide Y.* Nobel Conference on NPY. Raven Press, New York.
۱۱. Harfstrand, A.; Eneroth, P.; Agnati, L. and Fuxe, K., ۱۹۸۷. Further studies on the effects of central administration of neuropeptide Y on neuroendocrine function in the male rat: relationship to hypothalamic catecholamines. *Regul Pept.* Vol. ۱۷, pp: ۱۶۷-۱۷۹.
۱۲. Hochberg, Z.; Pacak, K. and Chrousos, G.P., ۲۰۰۳. Endocrine withdrawal syndromes. *Endocr Rev.* Vol. ۲۴, pp: ۰۲۳-۰۳۸.
۱۳. Idanpaan, H.J.J.; Raubala, P.; Tuominen, R.K.; Tuomainen, P.; Zolotov, N. and Mannisto, P.T., ۱۹۹۶. Morphine withdrawal alters anterior pituitary hormone secretion, brain endopeptidase activity and brain monoamine metabolism in the rat. *Pharmacol Toxicol.* Vol. ۷۸, pp: ۱۲۹-۱۳۰.
۱۴. Jöhren, O.; Neidert, S.J.; Kummer, M.; Dendorfer, A. and Dominiak, P., ۲۰۰۱. Prepro-orexin and orexin receptor mRNAs are differentially expressed in peripheral tissues male and female rats. *Endocrinology.* ۱۴۲: ۳۳۲۴-۳۳۳۱.
۱۵. Judd, A.M. and Hedg, G.A. ۱۹۸۲. The role of opioide peptides in controlling thyroid stimulating hormone release. *Life Sci.* Vol. ۳۱, pp: ۲۰۲۹-۳۶.
۱۶. Kerdelhue, B.; Tartar, A.; Lenoir, V.; El Abed, A.; Hubblau, P. and Millar, R.P., ۱۹۸۰. Binding studies of substance P anterior pituitary binding sites: changes in substance P binding sites during the rat estrous cycle. *Regul pept.* Vol. ۱۰, pp: ۱۳۳-۱۴۳.
۱۷. Li, R.Y.; Song, H.D.; Shi, W.J.; Hu, S.M.; Yang, Y.S.; Tang, J.F.; Chen, M.D. and Chen, J.L., ۲۰۰۴. Galanin inhibits leptin expression and secretion in rat adipose tissue and ^۳T^۳-L^۱ adipocytes. *J Mol Endocrinol.* Vol. ۳۲, pp: ۱۱-۱۹.

