



Effect of intravenous injection of progesterone and its co-administration with growth hormone and morphine on ghrelin concentration in ewes with food restriction

Nastaran Azarbar^{1*}, Homayoon Khazali², Hasan Rokni³

1. Biology faculty of Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

2. The Institute of Applied Scientific Education of Jahad-e-Agriculture, Tehran, Iran

Received: 24 Oct 2011

Accepted: 20 Dec 2011

Abstract

Introduction: Ghrelin increases growth hormone secretion and food intake. Growth hormone (GH), steroid hormones and opioids are involved in the regulation of food intake. So, they may have a role in the regulation of ghrelin secretion. We determined the effect of intravenous injections of progesterone, GH and morphine or co-administration of these hormones on ghrelin concentration and body weight in sheep with food deprivation.

Methods: Ten sheep (weighing 30-35 kg) were randomly divided into 2 groups that received either 50% or 100% of their diet for 10 days. Both groups on days 7, 8, 9 and 10 received progesterone (1mg), simultaneous injection of progesterone (1mg) and GH (0.01mg), simultaneous injection of progesterone (1mg) and morphine (1mg) or co-administration of progesterone (1mg), GH (0.01mg) and morphine (1mg) via jugular vein, respectively. Blood samples were taken before injection and 2 h after injection via jugular vein. Body weight was measured on first, 7th and 10th days of experiment. Serum ghrelin concentration was measured by RIA.

Results: Results showed that food deprivation increased ghrelin concentration. Also, intravenous injection of progesterone reduced ghrelin concentration in sheep and this reduction was significant in ad libitum ($P < 0.05$). Simultaneous injection of progesterone and GH, simultaneous injection of progesterone and morphine or co-administration of progesterone, GH and morphine significantly increased ghrelin concentration in both groups ($P < 0.05$).

Conclusion: Progesterone-induced increase in appetite is not due to ghrelin. Injection of progesterone (1mg) decreased ghrelin concentration, but simultaneous injection of progesterone (1mg) and growth hormone (0.01mg) increased it.

Key words: Ghrelin, Progesterone, Growth hormone, Morphine, Sheep

* Corresponding author e-mail: Abnosi2002@yahoo.com
Available online at: www.phypha.ir/ppj

تأثیر تزریق درون وریدی پروژسترون، و تزریق همزمان پروژسترون با هورمون رشد و مورفین بر میانگین غلظت گرلین در گوسفندان ماده با محدودیت غذایی

نسترن آذربار^{۱*}، همایون خزعلی^۱، حسن رکنی^۲
۱. گروه فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
۲. مؤسسه عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی، تهران
دریافت: ۲ آبان ۹۰ پذیرش: ۲۹ آذر ۹۰

چکیده

مقدمه: گرلین، ترشح هورمون رشد (Growth Hormone) و دریافت غذا را افزایش داده و فعالیت محور تولید مثلی را مهار می کند. هورمون رشد، هورمون های استروئیدی و اوبیوئیدها در تنظیم دریافت غذا نقش دارند. بنابراین، ممکن است در تنظیم ترشح گرلین نیز نقش داشته باشند. هدف این مطالعه، تعیین اثر تزریق داخل وریدی پروژسترون، و تزریق همزمان پروژسترون و هورمون رشد و مورفین، بر غلظت گرلین در گوسفندان ماده تحت محدودیت غذایی بود.

روش ها: ده رأس گوسفند در دو گروه به مدت ده روز به ترتیب با رژیم غذایی ۵۰٪ یا ۱۰۰٪ تغذیه شدند. هر دو گروه در روزهای ۷، ۸، ۹ و ۱۰ به ترتیب پروژسترون (۱mg)، پروژسترون (۱mg) و هورمون رشد (۱mg)، پروژسترون (۱mg) و مورفین (۱mg) یا پروژسترون (۱mg) و هورمون رشد (۱mg) و مورفین (۱mg) را دریافت کردند. نمونه های خونی، قبل و دو ساعت بعد تزریق جمع آوری شدند. وزن بدن در روزهای اول، هفتم، و دهم اندازه گیری شد. غلظت گرلین سرم با روش RIA تعیین شد.

یافته ها: محدودیت غذایی غلظت گرلین را افزایش داد در حالی که پروژسترون گرلین را کاهش داد که این کاهش در گروه ۱۰۰٪ معنی دار است ($P < 0.05$). همچنین، تزریق همزمان پروژسترون و هورمون رشد، پروژسترون و مورفین، پروژسترون و هورمون رشد و مورفین، به طور معنی داری غلظت گرلین را در هر دو گروه افزایش داد.

نتیجه گیری: افزایش اشتها القا شده توسط پروژسترون ناشی از گرلین نیست. تزریق پروژسترون، غلظت گرلین را در گوسفند کاهش داد. در حالی که تزریق همزمان پروژسترون و هورمون رشد آن را افزایش داد.

واژه های کلیدی: گرلین، پروژسترون، هورمون رشد، مورفین، گوسفند

مقدمه

است. نوروترانسمیترهایی نظیر نوروپپتید Y (NPY)، اراکسین، پپتید وابسته به آگوتی (AgRP) و گرلین کانون توجه برای تنظیم اشتها و دریافت غذا هستند، که در هیپوتالاموس گونه های مختلف جانوران شناسایی شده اند [۲۴]. همچنین نشان داده شده است که ارتباط مهمی بین عملکرد گونادی و هومئوستاز انرژی وجود دارد [۳۰]. گرلین یک پپتید ۲۸ آمینواسیدی است که یک پیوند n-اکتانویله بر روی سرین ۳

کنترل نورو اندوکرینی دریافت غذا و بالانس انرژی یک فرایند پیچیده است که با همپوشانی مسیرهای مختلفی همراه

n.azarbar@yahoo.com
www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:
وبگاه مجله:

اثر تزریق داخل وریدی پروژسترون و همچنین اثرات تزریق همزمان پروژسترون با هورمون رشد و مورفین بر میانگین غلظت گرلین در گوسفندان ماده با رژیم های غذایی مختلف است.

مواد و روش ها

حیوانات: این مطالعه در مرکز تحقیقاتی خوجیر (تهران، ایران) انجام شد. تعداد ده رأس گوسفند ماده نژاد زندی با وزن حدود ۳۵-۳۰ کیلوگرم تحت شرایط دمایی 25 ± 5 درجه سانتی گراد و شرایط روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار داشتند.

طرح آزمایش: ده رأس گوسفند بطور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند. به مدت ده روز، حیوانات در گروه ۱ با ۵۰٪ از انرژی، و حیوانات در گروه ۲ با ۱۰۰٪ از انرژی تغذیه شدند. رژیم ۵۰٪ (با سطح انرژی ۱/۷۳ مگا کالری) شامل ۴۰۰ گرم جو، ۱۰۰ گرم تفاله چغندر قند، و ۱ کیلو گرم یونجه بود. رژیم ۱۰۰٪ (با سطح انرژی ۲/۴۰ مگا کالری) شامل ۲۰۰ گرم ملاس، ۲۰۰ گرم تفاله چغندر قند، ۷۰۰ گرم یونجه، ۱۰۰ گرم کنجاله سویا ۴۱٪، و ۷۰۰ گرم جو بود [۸]. هر دو گروه در روزهای ۷، ۸، ۹، و ۱۰ به ترتیب مورد تزریق پروژسترون (۱mg)، تزریق همزمان پروژسترون (۱mg) و هورمون رشد (۰/۱mg)، تزریق همزمان پروژسترون (۱mg) و مورفین (۱mg) و تزریق همزمان پروژسترون (۱mg)، مورفین (۱mg) و هورمون رشد (۰/۱mg) در حجم ۵ml از طریق تزریق داخل وریدی در ساعت ۹ الی ۹:۳۰ صبح قرار گرفتند. دوزهای مورد استفاده و زمان تزریق بر اساس تحقیقات پیشین انتخاب شدند [۶، ۱۳، ۱، ۲۷]. (هورمون رشد گوسفندی، Biocompare, USA)

خونگیری: نمونه های خونی روزانه قبل و ۲ ساعت بعد تزریق از طریق ورید وداج جمع آوری شدند. سرم نمونه های خونی با استفاده از سانتریفیوژ یخچال دار با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه جدا شدند و تا زمان تجزیه آزمایشگاهی در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. غلظت گرلین سرم ها به کمک کیت گرلین (Mediagnost, Germany)، تهیه شده توسط شرکت تابشیار نور) به روش

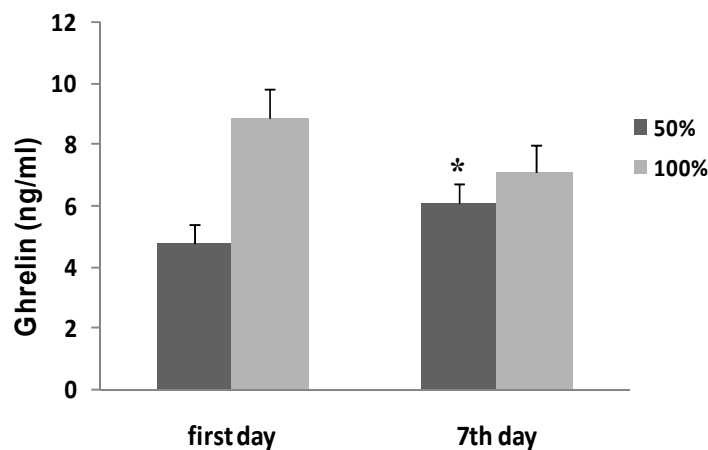
آن وجود دارد. در طول دوره گرسنگی گرلین بوسیله سلول های معده، هسته های هیپوتالاموسی به ویژه هسته آرکتوت (ARC)، که یک مکان مهم برای تنظیم اشتها است، سنتز می شود [۱۹]. مطالعات دیگری نشان دادند که گرلین در بافت های اندوکراین دیگری نظیر پانکراس، هیپوفیز و همچنین تخمدان و بیضه و جفت بیان می شود. گرلین ترشح هورمون رشد، دریافت غذا و وزن بدن را از طریق رسپتور ترشح کننده هورمون رشد (GHS-R1a) افزایش می دهد [۱۹، ۲۴، ۱۸، ۴، ۲۸، ۱۱]. ولی ثابت شده است که اثرات اشتها زایی گرلین مستقل از اثر گرلین در افزایش ترشح GH می باشد [۱۶]. گرلین همچنین در تنظیم عملکردهای تولید مثلی و سرکوب فعالیت محور هیپوتالاموسی-هیپوفیزی-گنادی نقش دارد [۱۹، ۱۰، ۹، ۷]. فاکتورهای مختلفی در تنظیم ترشح گرلین دخالت دارند که مهمترین آنها تغذیه و هورمون ها می باشند. غلظت پپتید گرلین در خون و mRNA گرلین در معده جوندگان در طول گرسنگی افزایش می یابد و در طول تغذیه و به ویژه مصرف کربوهیدراتها دوباره کاهش می یابد [۱۹، ۳، ۳۱، ۱۲]. آزمایشات ثابت کرده است که اثرات اشتهازایی گرلین از طریق افزایش بیان NPY و AgRP (محرک های قوی تحریک غذا) در هسته آرکتوت هیپوتالاموس صورت می گیرد [۳۲]. از آنجا که هورمون های استروئیدی و اویپوئیدها نقش مهمی در تنظیم دریافت غذا دارند، بنابراین ممکن است در تنظیم ترشح گرلین نیز درگیر باشند. بر اساس مطالعات انجام شده در جوندگان، اثرات اویپوئیدها بر دریافت غذا متناقض می باشد به طوری که بعضی از آنها اثرات تحریکی و تعدادی دیگر اثرات مهارری را گزارش کرده اند [۲۶، ۲۳]. با وجود این، تا کنون اثرات تداخلی اویپوئیدها و استروئیدها بر دریافت غذا و اشتها بررسی نشده است. تحقیقات همچنین نشان داده است که، استروئیدها هورمون های مهم در تنظیم اشتها هستند به طوری که استروژن اثر مهارری و پروژسترون اثر تحریکی بر دریافت غذا دارد و استروژن اثر تحریکی گرلین بر دریافت غذا را در جوندگان مهار می کند [۲۳]. با توجه به این که هر دوی گرلین و هورمون های استروئیدی از فاکتورهای مهم در تنظیم اشتها و هومئوستازی انرژی هستند، تاکنون گزارشی درباره اثرات پروژسترون بر میانگین غلظت گرلین در جوندگان و نشخوارکنندگان وجود ندارد. هدف از انجام این تحقیق بررسی

میانگین غلظت گرلین اعمال نکرد. به دلیل کمبود وقت و بازه زمانی ۱۰ روز برای انجام آزمایش، روز اول قبل از شروع آزمایش اندازه گیری هورمونی انجام شد و به دلیل نامشخص بودن رژیم غذایی گوسفندان در روز قبل از آزمایش، اختلاف در میزان گرلین پایه بین دو گروه ۵۰٪ و ۱۰۰٪ شاید بخاطر گرسنگی بوده که این گوسفندان در قبل از روز اول داشتند (شکل ۱). طبق این مطالعه نشان داده شد که وزن گوسفندان پس از یک هفته رژیم در هر دو گروه ۵۰٪ و ۱۰۰٪ بصورت معنی داری افزایش یافت (شکل ۲). همچنین، نتایج نشان داد که تزریق درون وریدی پروژسترون (۱ mg) باعث کاهش معنی دار میانگین غلظت گرلین سرم، دو ساعت پس از تزریق در گروه دارای رژیم غذایی ۱۰۰٪ شد ($P < 0.05$). در حالی که این کاهش در گروه ۵۰٪ از نظر آماری معنی دار نبود (شکل ۳)

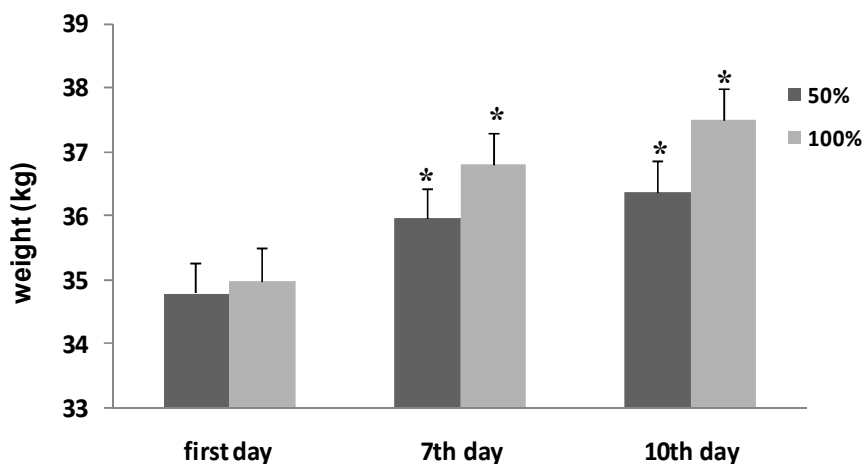
رادیو ایمنو اسی (RIA) اندازه گیری شد. آنالیزهای آماری: داده ها با استفاده از روش های آماری one way ANOVA و paired sample t-test و univariate ANOVA به کمک نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶) آنالیز شدند. مقایسه میانگین ها با آزمون پس تجربی LSD انجام شد و در تمام موارد معنی دار در نظر گرفته شد. نمودارها با نرم افزار Excel 2010 رسم شدند.

یافته ها

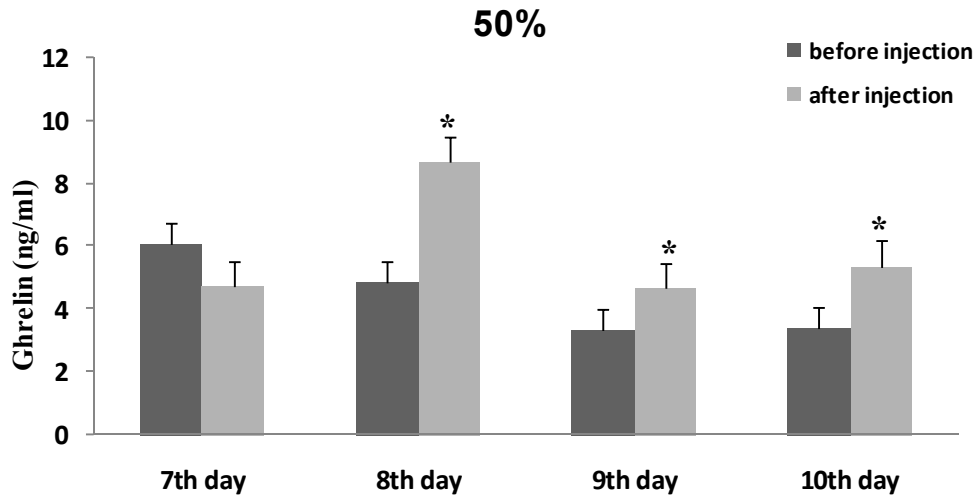
نشان داده شد که رژیم غذایی ۵۰٪ به مدت یک هفته باعث افزایش معنی دار میانگین غلظت گرلین سرم شد. ($P < 0.05$) در حالی که رژیم غذایی ۱۰۰٪ تاثیر معنی داری بر



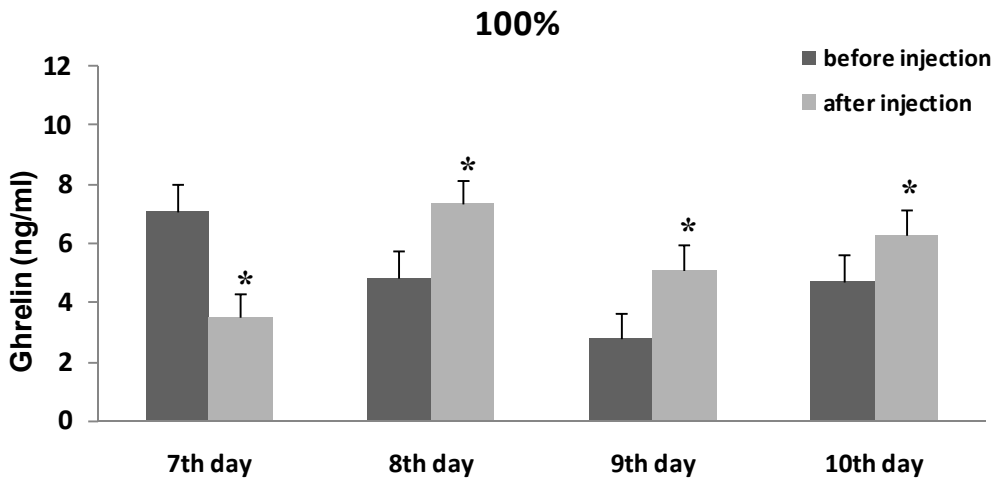
شکل ۱- تاثیر رژیم غذایی ۵۰٪ و ۱۰۰٪ بر میانگین غلظت گرلین در یک هفته ($P < 0.05$).



شکل ۲- تاثیر رژیم غذایی ۵۰٪ و ۱۰۰٪ بر میانگین وزن گوسفندان ($P < 0.05$).



شکل ۳- تأثیر تزریق درون وریدی پروژسترون (۱mg) در روز هفتم، تزریق همزمان آن با هورمون رشد (۰/۱mg) در روز هشتم، تزریق همزمان پروژسترون (۱mg) و مورفین (۱mg) در روز نهم، تزریق همزمان پروژسترون (۱mg) و هورمون رشد (۰/۱ mg) و مورفین (۱ mg) در روز دهم بر غلظت گرلین سرم در قبل و بعد از تزریق در رژیم غذایی ۵۰٪.



شکل ۴- تأثیر تزریق درون وریدی پروژسترون (۱mg) در روز هفتم، تزریق همزمان آن با هورمون رشد (۰/۱ mg) در روز هشتم، و تزریق همزمان پروژسترون (۱mg) و مورفین (۱mg) در روز نهم و تزریق همزمان پروژسترون (۱mg) و هورمون رشد (۰/۱ mg) و مورفین (۱mg) در روز دهم بر غلظت گرلین سرم در قبل و بعد از تزریق در رژیم غذایی ۱۰۰٪.

هورمون رشد (۰/۱mg) و مورفین (۱mg) باعث افزایش معنی دار غلظت گرلین در هر دو گروه می شود ($P < 0.05$). که این میزان افزایش در گروه ۵۰٪ و ۱۰۰٪ به ترتیب ۲ و ۱/۵۹ نانو گرم بر میلی لیتر است (شکل ۳ و ۴). مقایسه داده های بعد از تزریق نشان داد که میانگین غلظت گرلین در روز ۸ که تزریق همزمان پروژسترون و هورمون رشد را دریافت کردند در هر دو گروه ۱۰۰٪ و ۵۰٪ به طور معنی داری بیشتر از روز ۷ است که تنها پروژسترون را دریافت نمودند. در گروه ۵۰٪ غلظت گرلین در روز ۹ که تزریق همزمان پروژسترون و مورفین را دریافت کردند به طور معنی داری کمتر از غلظت مشاهده شده در روز

تزریق همزمان پروژسترون (۱mg) و هورمون رشد (۰/۱mg) باعث افزایش معنی دار غلظت گرلین در هر دو گروه شد. که این افزایش مشاهده شده در گروه ۵۰٪ و ۱۰۰٪ به ترتیب ۳/۸۱ و ۲/۸۴ نانو گرم بر میلی لیتر است (شکل ۳ و ۴). همچنین نتایج نشان داد که تزریق همزمان پروژسترون (۱mg) و مورفین (۱mg) باعث افزایش معنی دار غلظت گرلین در هر دو گروه شد ($P < 0.05$). که این میزان افزایش در گروه ۵۰٪ و ۱۰۰٪ به ترتیب ۱/۳۵ و ۲/۳۶ نانو گرم بر میلی لیتر است (شکل ۳ و ۴). در این تحقیق، تزریق همزمان پروژسترون (۱mg) و

باشد [۱۴،۲۱].

آزمایشات نشان داده است که ترشح هورمون رشد در طی گرسنگی افزایش می یابد، که باعث افزایش اسید های چرب آزاد شده و توده چربی کل بدن را کاهش می دهد. که این اثرات احتمالا پیش از افزایش میزان متابولیسم و مصرف انرژی رخ می دهد [۱۷،۲۹]. در این آزمایش تزریق همزمان پروژسترون و هورمون رشد در هر دو گروه، باعث افزایش معنی دار غلظت گرلین در روز هشتم شد، که این افزایش با روز هفتم یعنی تزریق پروژسترون به تنهایی اختلاف معنی داری دارد که این نشان می دهد که، هورمون رشد در گوسفند باعث افزایش میزان گرلین می شود. این نتایج با نتایجی که Britt و همکارانش در سال ۲۰۰۳ نشان دادند در تناقض است. آنها ثابت کردند که تزریق GH باعث کاهش میزان گرلین می شود که این کاهش در سطح گرلین را ناشی از تغییر در توده چربی و سطح IGF-I دانستند. آنها عنوان کردند که احتمالا افزایش در سطح انسولین بعد از تیمار GH، در کاهش گرلین نقش داشته است [۵]. مقایسه میانگین داده ها در زمان های بعد تزریق در هر دو گروه ۵۰٪ و ۱۰۰٪ نشان داد غلظت گرلین در روز ۸ بیشتر از روز ۷ بود که این امر حاکی از این است که احتمالا بین اثر تزریق پروژسترون با تزریق همزمان پروژسترون و هورمون رشد اختلاف معنی دار وجود دارد. از آنجایی که این اختلاف افزایشی است می توان استنباط کرد که اثر هورمون رشد بر گرلین یک اثر افزایشی است. این شاید بخاطر متابولیسم متفاوت گوسفند باشد که باید برای مشخص تر شدن آن آزمایشات بیشتری صورت بگیرد.

رسمپورهای اپیوئیدی توزیع گسترده ای در سیستم عصبی دارند و شامل نواحی دخیل در دریافت غذا نظیر هسته های پاراونتریکیولار هیپوتالاموس و هسته های مرکزی آمیگدال هستند [۲۲]. با این حال تأثیر مورفین بر غلظت گرلین کاملا مشخص نیست، و هر دو اثر افزایشی و کاهشی از آن دیده شده است. اما گفته شده است که مورفین به عنوان آگونیست رسپتور میو اپیوئیدی، باعث افزایش کوتاه مدتی در دریافت غذا می شود [۲۲]. نتایج این آزمایش اختلاف معنا دار غلظت گرلین را در بعد از تزریق روزهای ۸ و ۹ در گروه ۵۰٪ نشان می دهد که این اختلاف کاهشی است. این نتایج می رساند که اثر هورمون رشد در افزایش غلظت گرلین حتی از اثر مورفین هم

است. در حالی که اختلاف بین روز ۸ و ۹ در گروه ۱۰۰٪ از نظر آماری معنی دار نبود. میانگین غلظت گرلین در روز ۱۰ که تزریق همزمان پروژسترون، هورمون رشد و مورفین را دریافت کردند در گروه ۵۰٪ به طور معنی داری کمتر از روز ۸ است در حالی که در گروه ۱۰۰٪ اختلاف بین روز ۸ و ۱۰ از نظر آماری معنی دار نبود.

بحث

هورمون های استروئیدی بر روی متابولیسم و همئوستاز انرژی و شرایط بدن تأثیر دارند. آزمایشات ثابت کرده است که پروژسترون در طی گرسنگی افزایش می یابد [۳۳] و باعث افزایش اسید های چرب آزاد می شود. همانطور که Toth و همکارانش نشان دادند، تزریق پروژسترون به گوسفندان اووری اکتومی شده باعث افزایش اسیدهای چرب آزاد و کل توده بدن شده و توده چربی بدن را تغییر چندانی نمی دهد [۲۵]. همچنین گزارش شده است که افزایش ترشح استروژن و پروژسترون در زنان باعث تغییراتی در دریافت غذا می شود. بطوریکه با زیاد شدن استروژن دریافت غذا کم و با افزایش پروژسترون دریافت غذا زیاد می شود [۱۵، ۲۰]. در این مطالعه برای اولین بار تأثیر پروژسترون بر میزان گرلین سرم در حیوانات نشخوار کننده ای که تحت محدودیت غذایی قرار داشتند، بررسی شد. نتایج این آزمایش نشان داد که تزریق درون وریدی پروژسترون باعث کاهش میزان گرلین پلاسما می شود، این کاهش در گروه رژیم غذایی ۱۰۰٪ معنی دار است. کاهش معنی دار غلظت گرلین در گروه ۱۰۰٪ و عدم معنی دار بودن این کاهش در گروه ۵۰٪ احتمال دارد به این دلیل باشد که در گروه دارای رژیم ۵۰٪ چون میزان گرلین در اثر گرسنگی افزایش می یابد باعث شده است که این نتایج از نظر آماری معنی دار نشود، اما در گروه ۱۰۰٪ چون غلظت گرلین در سطح پایه است این تغییرات محسوس تر است. مطالعات پیشین نشان داده است که پروژسترون در هسته آرکتوت هیپوتالاموس (یکی از جایگاه های اصلی سنتز گرلین) با رسپتور $GABA_A$ واکنش می دهد از آنجایی که رسپتور $GABA$ یک رسپتور مهاری است این احتمال وجود دارد که اثر پروژسترون در کاهش گرلین ناشی از اثر مهاری این رسپتور

بررسی بیشتر دارد.

در نتایج حاصل، در تمام روز ها بین دو گروه ۵۰٪ و ۱۰۰٪ اختلاف معنی داری مشاهده نشد. که این موضوع شاید به دلیل تفاوت در شرایط آزمایش می باشد. با توجه به یافته های این تحقیق بطور کلی می توان نتیجه گرفت که مکانیسم اشتهازی پروژسترون ناشی از گرلین نیست بلکه پروژسترون در گوسفند باعث کاهش میزان گرلین می شود. از آنجایی که محور اشتها و محور تولید مثل درون هیپوتالاموس هر دو در یک جا تنظیم می شوند [۳۲]، می توان نتیجه گرفت که این اثر کاهشی احتمالا از طریق رسپتور گابا در هسته های هیپوتالاموسی مسئول تنظیم اشتها ایجاد می شود.

سپاسگزاری

از همکاری مرکز تحقیقات امور دام جهاد سازندگی واقع در منطقه خجیر (استان تهران) که در جهت تأمین حیوانات کمک کردند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References

- [1] Cannas, Antonello and Nudda, Anna and Pulina, Giuseppe. Nutritional strategies to improve lactation persistency in dairy ewes. *Annual Great Lakes dairy sheep symposium: proceedings, Ithaca (NY), USA. Madison, University of Wisconsin* (2002) 17-59.
- [2] Cassidy Vuong, Stan H.M., Van Uum, Laura E., O'Dell, Kabirullah Lutfy, and Theodore C. Friedman. The Effect of Opioids and Analogs on Animal and Human Endocrine Systems. *Endocrine Rev* 31:1 (2010) 98-132.
- [3] Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, and Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 50 (2001) 1714-1719.
- [4] Date Y, Murakami N, Kojima M, Kuroiwa T, Matsukura S, Kangawa K & Nakazato M. Central effects of a novel acylated peptide, ghrelin, on growth hormone release in rats. *Biochem Bioph Res Co* 275 (2000) 477-480.
- [5] Edén Engström B, Burman P, Holdstock C, Karlsson FA. Effects of growth hormone (GH) on ghrelin, leptin, and adiponectin in GH-deficient patients. *J Clin Endocrinol Metab* 88:11 (2003) 5193-8.
- [6] Eslami M, Niasari-Naslaji A, Bolourchi M, Nikjou D, Mahmoudzadeh H, Mousavi S.S. Effect of different doses of estradiol benzoate in association with constant dose of progesterone on ovarian Structure of Holstein heifers. *Iran J Vet Res* 7:1 (2011) 13-22.
- [7] Fabio Lanfranco, Lorenza Bonelli, Matteo Baldi, Elisa Me, Fabio Broglio, and Ezio Ghigo. Acylated Ghrelin Inhibits Spontaneous Luteinizing Hormone Pulsatility and Responsiveness to Naloxone But Not That to Gonadotropin-Releasing Hormone in Young Men: Evidence for Central Inhibitory Action of Ghrelin on the Gonadal Axis. *J Clin Endocrinol Metab* 93:9 (2008) 3633-3639.
- [8] Fateme Aboutalebi, Homayoun Khazali. Effect of Galanin on Plasma Levels of Gonadotropins in Female Goats Fed Different Levels of Their Energy Requirements. *Physiol Pharmacol* 13:2 (2009) 191-198.
- [9] Gaytan F, Barreiro ML, Chopin LK, et al. Immunolocalization of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue

- receptor, in the cyclic human ovary. *J Clin Endocrinol Metab* 88 (2003) 879-887.
- [10] Gnanapavan S, Kola B, Bustin S, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 87 (2002) 2988-2991.
- [11] Hayashida T, Murakami K, Mogi K, Nishihara M, Nakazato M, Mondal MS, Horii Y, Kojima M, Kangawa K & Murakami N. Ghrelin in domestic animals: distribution in stomach and its possible role. *Domest Anim Endocrin* 21 (2001) 17-24.
- [12] Hiroshi Hosoda, Masayasu Kojima, and Kenji Kangawa. Ghrelin and the Regulation of Food Intake and Energy Balance. *Mol Interv* 2:8 (2002) 494-503.
- [13] J. Bost3, L.E. Mccarthy, E.D. Colby, H.L. Borison. Rumination in sheep: Effects of morphine, deslanoside and ablation of area postrema. *Physiol Behav* 3:6 (1968) 877-878.
- [14] J. Dinny Graham and Christine L. Clarke. Physiological Action of Progesterone in Target Tissues. *Endocr Rev* 18 (1997) 502-519.
- [15] J.M.Forbes, Feeding in sheep modified by intraventricular estradiol and progesterone. *Physiol Behav* 12:5 (1974) 741-747.
- [16] Jun Kamegai, Hideki Tamura, Takako Shimizu, Shinya Ishii, Hitoshi Sugihara, and Ichiji Wakabayashi. Chronic Central Infusion of Ghrelin Increases Hypothalamic Neuropeptide Y and Agouti-Related Protein mRNA Levels and Body Weight in Rats. *Diabetes* 50 (2001) 2438-2443.
- [17] Kjell Malmlof, Nanni Din, Thue Johansen and Steen B Pedersen. Growth hormone affects both adiposity and voluntary foodintake in old and obese female rats. *Eur J Endocrinol* 146 (2002) 121-128.
- [18] Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H & Kangawa K. Ghrelin is a growth hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402 (1999) 656-660.
- [19] Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev* 85 (2005) 495-522.
- [20] Lori Asarian, Nori Geary. Modulation of appetite by gonadal steroid hormones. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361 (2006) 1251-63.
- [21] Maggi A, Perez J. Progesterone and estrogens in rat brain: modulation of GABA (gamma-aminobutyric acid) receptor activity. *Eur J Pharmacol* 103:1-2(1984) 165-8.
- [22] Mahmoud Hosseini, Hojjat Allah Alaei, Mohammad Javad Eslamizade, Fatemeh Saffarzade. Effect of Morphine Self-Administration on Water and Food Intake in Rat. *Iran J Basic Med Sci* 10:3(2007)169-175.
- [23] Maki Matsubara, Ichiro Sakata, Reiko Wada, Mami Yamazaki, Kinji Inoue, Takafumi Sakai. Estrogen modulates ghrelin expression in the female rat stomach. *Peptides* 25:2 (2004) 289-297.
- [24] Masayuki Yokoyama, Keiko Nakahara, Masayasu Kojima, Hiroshi Hosoda, Kenji Kangawa, and Noboru Murakami. Influencing the between-feeding and endocrine responses of plasma ghrelin in healthy dogs. *Eur J Endocrinol* 152 (2005) 155-160.
- [25] Michael J. Toth, Eric T. Poehلمان, Dwight E. Matthews, Andre Tchernof and Michael J. MacCoss. Effects of estradiol and progesterone on body composition, protein synthesis, and lipoprotein lipase in rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 280 (2001) 496-501.
- [26] Rezvanipour, M.1; Esmaceli-Mahani, S. Siahposht, A. and Rezvanipour, S. The effects of morphine and nicotine co-administration on body weight, food intake and appetite-regulating peptides in rats. *Iran J Vet Res* 12:1 (2011) 16-23.
- [27] Sandles LD, Sun YX, D'Cruz AG, McDowell GH, Gooden JM. Responses of lactating ewes to exogenous growth hormone: short- and long-term effects on productivity and tissue utilization of key metabolites. *Aust J Biol Sci* 41:3 (1988) 357-70.
- [28] Seoane LM, Tovar S, Baldelli R, Arvat E, Ghigo E, Casanueva FF & Dieguez C. Ghrelin elicits a marked stimulatory effect on GH secretion in freely moving rats. *J Endocrinology* 143 (2000) 7-9.
- [29] Snyder DK, Underwood LE & Clemmons DR. Persistent lipolytic effect of exogenous growth hormone during caloric restriction. *Am J Med* 98 (1995) 129-134.
- [30] Tena-Sempere M. Exploring the role of ghrelin as novel regulator of gonadal function. *Grow Horm IGF Res* 15 (2005) 83-88.
- [31] Tschoep M, Wawarta R, Riepl RL, Friedrich S, Bidlingmaier M, Landgraf R, and Folwaczny C. Postprandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest* 24 (2001) 19-21.
- [32] Z A Archer, P A Findlay, S R McMillen1, S M Rhind1

and C L Adam. Effects of nutritional status and gonadal steroids on expression of appetite-regulatory genes in the hypothalamic arcuate nucleus of sheep. *J Endocrinology* 182 (2004) 409-419.

[33] Z. Kiyama, B. M. Alexander, E. A. Van Kirk, W. J. Murdoch, D. M. Hallford and G. E. Moss. Effects of feed restriction on reproductive and metabolic hormones in ewes. *J ANIM SCI* 82 (2004) 2548-2557.